



HAL
open science

Potentiel thérapeutique des neuroblastes immatures de la zone sous-ventriculaire murine adulte

Corentin Bernou

► **To cite this version:**

Corentin Bernou. Potentiel thérapeutique des neuroblastes immatures de la zone sous-ventriculaire murine adulte. Neurosciences. Université Paris Cité, 2022. Français. NNT : 2022UNIP5187 . tel-04659652

HAL Id: tel-04659652

<https://theses.hal.science/tel-04659652>

Submitted on 23 Jul 2024

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.



**THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS CITE**

Ecole doctorale N°562
Bio Sorbonne Paris Cité

Spécialité : Neurobiologie

**Potentiel thérapeutique des neuroblastes immatures de
la zone sous-ventriculaire murine adulte**

Par

Mr. Corentin BERNOU

Thèse préparée au laboratoire Stabilité génétique,
Cellules Souches et Radiations (SGCSR) UMR-E 008
Au sein du Laboratoire de Radiopathologie (LRP)

Thèse présentée pour soutenance le **15 décembre 2022** :

Composition du Jury :

Dr. Valérie CORONAS , Professeure des Universités, U. de Poitiers	Rapporteuse
Dr. Elisabeth TRAIFFORT , Directrice de Recherche, U. de Paris-Saclay	Rapporteuse
Dr. Françoise LAZARINI-SERANDOUR , Directrice de Recherche, U. Paris Cité	Examinatrice
Dr. Emmanuel MOYSE , Professeur des Universités, U. de Tours	Examinateur
Dr. François BOUSSIN , Directeur de Recherche, U. Paris Cité	Directeur de thèse
Dr. Alexandra CHICHEPORTICHE , Chargée de Recherche, U. Paris Cité	Membre invitée

Remerciements

Je remercie en premier lieu les Dr. Valérie Coronas et Elisabeth Traiffort d'avoir consacré temps et attention à l'évaluation de ces travaux, en qualité de rapportrices. Je remercie également le Dr. Françoise Lazarini-Serandour et le Pr. Emmanuel Moyses pour leur participation au jury de thèse et à la discussion scientifique qui en découle.

Alexandra, merci mille fois pour tout. Pour m'avoir guidé à travers toute cette histoire, pour ton soutien, pour ton humanité et ton optimisme (ça a marché la première fois alors pourquoi pas la troisième ?), pour m'avoir supporté pendant presque 5 ans !! Tu as toujours été là quand j'en avais besoin, dans les manips qui marchent comme dans celles qui ne marchent pas, dans toutes nos R-ances, et j'ai énormément appris grâce à toi.

```
Si (Alex lit == T) {  
    Répéter( "Merci !!!", 1000)  
}
```

A François, un immense merci pour ton accueil au sein de ton équipe, désormais institut. Pour ta rigueur scientifique sans faille, pour ta disponibilité, pour tes encouragements, et pour ce monde refait maintes et maintes fois au cours de débats interminables. Tu es un super Humain.

Yo-yo-Jozo, c'est toujours un délice d'entendre ta nouvelle histoire improbable de bon matin, au doux parfum des algues et du romarin (et des cornichons ?!). Ce fut un plaisir de faire croquer nos liens comme tes belles plantes. Je te laisse avec Oriane, tu y gagneras certainement en rangement du bureau...

Jérémy, Oriane et Marie, je vous passe le flambeau ! Entre vos exceptionnelles qualités d'organoïdisation, et votre sympathie générale, le labo a de beaux jours devant lui !

Merci Nathalie pour toutes ces heures au sous-sol à trier des cellules (parfois), du vide (d'autres), mais toujours avec bonne humeur.

Merci à tout le LRP pour tant de beaux moments au fil de ces quelques années, du basket aux apéros, à Olivyeah pour ses critiques cinématographiques toujours justes, à Thierry pour ses conseils culinaires (sauf quand il s'agit de wraps), et à tous les autres avec qui je garderais tant de beaux souvenirs.

Dédicace à la SLF parce que SéLeFeu.

Merci au Western Block pour toutes ces petites ascensions, il y en aura eu de toutes les couleurs (enfin surtout du vert).

Merci aux amis du bâtiment, si je devais résumer ma thèse aujourd'hui avec vous je dirais que ce sont d'abord des rencontres, des gens qui m'ont tendu des coups de main ou d'éPaul inattendus peut-être, à un moment où je n'y arrivais pas, où je n'avais pas que Xha à faire. Et c'est assez curieux de se dire que les galères et les expériences ratées forment des amitiés. Parce que quand on a le goût de la pause, la pause bien Merickée, parfois on ne trouve pas le temps d'incubation en face qui vous aide à sortir en Cathymini. Et je dis merci à Charly, je chante Charly, je danse Charly !

Merci à mes amis, parce que vous êtes trop forts.

Merci à toute ma famille, un soutien inconditionnel et une source d'inspiration constante ! C'est grâce à vous que j'ai pu en arriver ici, et même si de nouveaux horizons se dessinent, de Monta à Rome en passant par Montpellier, on ne sera jamais vraiment bien loin.

Merci enfin à mes trois chatons, Noradrénaline la plus belle, Thymidyne la plus bête, et toi Margot, juste la meilleure. On a entamé ce périple en même temps, on s'est soutenus l'un sur l'autre en tous temps, je ne pourrais pas imaginer avoir fait ce voyage sans toi. Tu es mon soleil, et tu brilles si fort !

Sommaire

Chapitre I : la neurogenèse adulte	12
I.1. Perspective historique	12
I.2. Neurogenèse adulte	15
I.3. Les progéniteurs subventriculaires	23
I.4. Mécanismes moléculaires de la neurogenèse	32
Chapitre II: Régulations de la neurogenèse subventriculaire	41
II.1. Les signalisations locales : régulations paracrines	42
II.2. Les signaux endocrines	45
Chapitre III : microARNs et neurogenèse	51
Chapitre IV : Potentiel thérapeutique de la neurogenèse	57
IV.1. Potentiel oligodendrogénique des progéniteurs neuraux	57
IV.2. Progéniteurs subventriculaires et remyélinisation	59
IV.3. Neurogenèse dans le cerveau âgé	63
Objectifs	67
Article	69
Résultats complémentaires	112
Partie I : Réorientation des neuroblastes immatures en culture	112
Partie 2 : Rôle du miR-342-3p dans la régulation de la neurogenèse	133
Discussion	142
Conclusion et perspectives	157
Bibliographie	162
Résumé	207

Table des illustrations

Fig. 1 : Localisation des zones de neurogenèse adulte dans le cerveau murin	16
Fig. 2 : Culture et caractérisation des cellules souches neurales	18
Fig. 3 : Schéma de la neurogenèse embryonnaire.....	19
Fig. 4 : Schéma de la neurogenèse hippocampique	20
Fig. 5 : Schéma des étapes de la neurogenèse	23
Fig. 6 : Architecture de la niche neurogénique de la ZSV	26
Fig. 7 : Migration des neuroblastes subventriculaires au bulbe olfactif	28
Fig. 10.: Modèle moléculaire de la neurogenèse	35
Fig. 11: Signalisations paracrines et sanguines de la ZSV	42
Fig. 12: Signalisations ventriculaires et synaptiques	46
Fig. 14 : Principaux miRs régulant la neurogenèse adulte	53
Fig. 15 : Etapes et marqueurs de la différenciation oligodendrocytaire	58
Fig. 16 : Altérations de la neurogenèse au cours du vieillissement	64
Fig. C1. Les NBi ne contiennent pas de progéniteurs oligodendrocytaires.....	114
Fig. C2. Les NBi ne sont pas engagées dans la différenciation.....	115
Fig. C3. Pluripotence des progéniteurs neuraux cultivés en hypoxie physiologique .	116
Fig. C4. La culture en normoxie ou en hypoxie physiologique change le destin des NBi	118
Tableau C1. Localisation des NBi-4% et NBi-20% eGFP+ transplantés	119
Fig. C5. Les populations cultivées convergent vers un phénotype moléculaire proche	120
Fig. C6. Les NBi cultivés perdent l'expression de marqueurs de l'orientation neuronale	121
Fig. C7. Les NBi cultivés en hypoxie se réorientent vers le lignage oligodendrocytaire	123
Fig. C8. Les NBi cultivés forment des oligodendrocytes myélinisants dans le corps calleux.....	126
Fig. C9 : Les NBi Dcx+ conservent leur multipotence en culture en hypoxie	127
Fig. C10: Les NBi Dcx+ cultivés produisent des oligodendrocytes dans le CC mais n'ont pas de tropisme pour la ZSV	129
Fig. C11. Le miR-342 régule l'orientation des progéniteurs neuraux	135
Fig. C12. Le miR-342-3p régule l'orientation des progéniteurs neuraux	137
Fig. C13. Le miR-342 inhibe la prolifération des progéniteurs neuraux	138
Fig. C14. L'inhibition du miR-342-3p favorise la différenciation oligodendrocytaire ..	140

Liste des abréviations

Populations cellulaires :

CSN : Cellule Souche Neurale (Neural Stem Cell, NSC)

CSNa : CSN activée (aNSC)

CSNq : CSN quiescente (qNSC)

CPO : Cellules Progénitrices Oligodendrocytaires (OPC)

PI : Progéniteur intermédiaire (Transient-Amplifying Progenitor, TAP)

PN : Progéniteurs neuraux

NB : Neuroblaste (NB)

NBi : Neuroblaste immature (iNB)

NBm : Neuroblaste mature (mNB)

OLM : Oligodendrocyte Myélinisant (OL)

Structures cérébrales:

BO : Bulbe Olfactif (Olfactory Bulb, OB)

CC : Corps Calleux

FMR : Flux migratoire rostral (Rostral Migratory Stream, RMS)

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

ZSV : Zone sous-ventriculaire (SubVentricular Zone, SVZ)

Modèles d'injection :

SVZ-3 : Modèle d'injection dans la ZSV en 3 points

STR-1 : Modèle d'injection en un point striatal

Divers :

SEP : Sclérose en plaques

PLA : protéine de liaison à l'ARN

REA : régulateur de l'épissage ARN

TMX : Tamoxifène

Chapitre I

La neurogenèse adulte

La neurogenèse désigne l'ensemble des processus cellulaires permettant la création de nouveaux neurones au sein d'un système nerveux. Chez les vertébrés, elle se produit très majoritairement durant le développement, mais il subsiste dans de nombreux taxons une neurogenèse adulte complexe et finement régulée. Si cette neurogenèse adulte assure une meilleure capacité d'adaptation de certains circuits neuronaux en conditions physiologiques, elle participe également à une certaine régénération du système nerveux central en conditions pathologiques.

I.1. Perspective historique

Seul contre tous – La héros-genèse

I.1.a. Premières démonstrations

Chez les mammifères, le caractère figé et définitif des circuits neuronaux fut établi dès le début du XXe siècle. Le chirurgien Ramon y Cajal, qui eût un rôle central dans l'émergence des neurosciences modernes, articula ainsi ce dogme : « Dans les centres adultes, les chemins nerveux sont quelque chose de fixe, fini, et immuable. Tout peut mourir, rien ne saurait être régénéré. Il revient à la science du futur de changer, si possible, ce décret sévère. » (Ramon y Cajal, 1928). Sur près d'un siècle écoulé depuis lors, il fallut à la science plus de 30 ans pour s'atteler à la tâche, et entamer une bataille qui s'étendit sur trois décennies supplémentaires pour faire accepter l'existence de la neurogenèse adulte, et engendrer par la suite un champ d'étude encore particulièrement actif aujourd'hui (Owji and Shoja, 2020).

La première remise en question fut soulevée par Joseph Altmann, qui mit en évidence dans les années 1960 des neurones et cellules gliales ayant incorporé de la thymidine tritiée administrée à l'âge adulte, dans le cortex lésé du rat (Altmann, 1962) et du chat (Altmann, 1963). Ces découvertes furent largement ignorées, mais il complémenta avec des marquages histologiques. Il montra la production de cellules *de novo* dans le gyrus denté (GD) de l'hippocampe du rat (Altmann and Das, 1965), puis identifia en 1969 l'origine des neurones néoformés du bulbe olfactif (BO), issues de divisions cellulaires prenant place dans paroi des

ventricules latéraux, à la surface de l'épendyme : la zone sous-ventriculaire (ZSV) (Altman, 1969). Il identifia également le flux migratoire rostral (FMR), un long chemin rostro-caudal à travers lequel les futurs neurones granulaires migraient de leur niche d'origine pour former des neurones granulaires (Altman, 1969).

Peu à peu, d'autres membres de la communauté neuroscientifique s'attelèrent à confirmer ces découvertes et à les placer dans un contexte plus large. Ainsi, Michael Kaplan, en développant la microscopie électronique sur tissu, put démontrer l'identité neuronale de cellules néoformées dans le cerveau non lésé de rat (Kaplan and Hinds, 1977), puis de primate (Kaplan and Bell, 1983). Parallèlement, Shirley Bayer montra une augmentation linéaire du nombre de neurones dans le GD de rat avec l'âge (Bayer, 1982). Elle montra également que, parmi les neurones du gyrus denté, la proportion de neurones issus d'une neurogenèse adulte augmentait au cours du vieillissement (Bayer et al., 1982).

L'une des confirmations les plus étonnantes de l'hypothèse d'une neurogenèse adulte provint cependant d'un ornithologue, Fernando Nottebohm, qui s'intéressait au chant des canaris (Alvarez-Buylla et al., 1990). Intrigué par ses mécanismes de modulation, il mit en évidence une production massive et régulière de neurones dans le cerveau des canaris adultes, en particulier dans le centre vocal supérieur.

I.1.b Une difficile reconnaissance

Death of a dogma and a research career (Kaplan, 2001)

Ce faisceau de démonstrations ne suffit cependant pas à convaincre les plus réticents, et l'un des principaux détracteurs de la théorie, Pasko Rakic, s'attacha à résoudre la question de la neurogenèse chez le primate. Dans 2 études majeures publiées en 1985 et 1988, il ne trouva aucun neurone néoformé ni dans le BO et le néocortex, ni dans le GD du macaque rhesus adulte (Rakic, 1985; Eckenhoff and Rakic, 1988). Ces résultats, associés à l'autorité de Rakic dans le milieu neuroscientifique et la virulence de ses prises de position (Nottebohm, 2011), achevèrent d'amener de nombreux scientifiques à se désintéresser de la théorie de la neurogenèse adulte. Kaplan y attribue ainsi l'arrêt de sa carrière de recherche, et Altmann un tarissement subit de ses sources de financement public (Kaplan, 2001; Altman, 2011).

Cependant à la fin des années 90, deux avancées majeures relancèrent la théorie. La première fut l'isolement et la culture de cellules souches neurales contenues dans la zone sous-épendymale du mur latéral de la zone sous-ventriculaire, par l'équipe de Samuel Weiss (Reynolds and Weiss, 1992). La seconde, en 1994, décrivit le remplacement de ces cellules *in vivo* après déplétion par un agent anti-mitotique et le non-remplacement après déplétion des cellules non-prolifératives (Morshead et al., 1994). Ces résultats montraient la présence d'une population de cellules souches quiescentes à l'origine de la neurogenèse, répartie dans la ZSV le long du mur latéral, mais aussi au sein des murs médial et dorsal.

Par la suite, l'utilisation de la Bromodeoxyuridine (BrdU), un analogue de la thymidine détectable par immunomarquage (Miller and Nowakowski, 1988), permit d'apporter une preuve sans équivoque de la formation de neurones dans le cerveau adulte. Chez le rongeur, une population de progéniteurs mitotiques dans la zone sous-granulaire (ZSG) de l'hippocampe fut ainsi identifiée comme l'origine des nouveaux neurones du GD (Gage et al., 1998). Barbara Gould et Pasko Rakic mirent simultanément cette technique en œuvre chez le macaque rhésus et montrèrent une formation importante et continue de neurones dans le GD, et dans une moindre mesure dans plusieurs zones du neocortex (Gould et al., 1999a, 1999b; Rakic, 1988). Plus frappant encore, l'équipe de Peter Eriksson montra la présence de ces neurones néoformés dans le DG humain sur des coupes de cerveaux de patients ayant reçu du BrdU pour suivre la progression de leur cancer cérébral (Eriksson et al., 1998).

L'ensemble de ces travaux historiques permit ainsi d'établir, pour tous les mammifères, l'existence de populations de cellules souches neurales persistant dans le cerveau adulte, produisant un flux continu de neurones, et potentiellement capables de réagir aux lésions cérébrales par une production des trois types cellulaires neuraux, astrocytes, oligodendrocytes et neurones. Ils achevèrent ainsi de convaincre les plus sceptiques des neuroscientifiques, de la pertinence de la théorie de la neurogenèse adulte. Elles ouvrirent la voie à une recherche intensive dont les paradigmes sont encore régulièrement remis en question (Kirsten Obernier and Alvarez-Buylla, 2019; Baur et al., 2022).

I.2. Neurogenèse adulte

De la souche au bulbe

I.2.a. Les foyers de neurogenèse

Si les premières observations de neurogenèse dans le cerveau adulte se sont concentrées sur ses deux foyers les plus importants, la ZSV et la ZSG, plusieurs zones supplémentaires ont été identifiées comme possédant une activité neurogénique, à la fois chez la souris (Fig. 1) et l'homme ou le primate non-humain (Migaud et al., 2010; Hourai and Miyata, 2013; Jurkowski et al., 2020) :

- le striatum (Dayer et al., 2005; Ernst et al., 2014) , le néocortex (Bernier et al., 2002) et l'hypothalamus (Kokoeva et al., 2005; Batailler et al., 2014) formant des neurones GABAergiques,
- la *substantia nigra* (Zhao et al., 2003; Moreno-Jiménez et al., 2019) produisant des neurones dopaminergiques
- l'aire baso-létarale de l'amygdale (Hung et al., 2015) à l'origine de la formation de de neurones glutamatergiques ou GABAergiques
- le complexe vagal-dorsal (Bauer et al., 2005)

Cependant, la plupart de ces observations ont été réalisées dans le cadre de modèles susceptibles de stimuler une neurogenèse physiologiquement inactive, et leur existence en conditions physiologiques demeure par conséquent incertain (Jurkowski et al., 2020). Malgré cela, ces travaux mettent en évidence la persistance dans ces tissus de précurseurs neuraux, capables de proliférer et de se différencier.

I.2.c. Définition des cellules souches

La capacité de renouvellement des tissus à l'âge adulte est inégale. Si certains, comme le système nerveux ou le myocarde, présentent des capacités de régénération limitées, d'autres comme la peau ou la moelle osseuse se renouvellent à un rythme soutenu tout au long de la vie. La régénération tissulaire est due à des cellules souche, qui forment une réserve de cellules indifférenciées. On les distingue des cellules somatiques par deux critères majeurs :

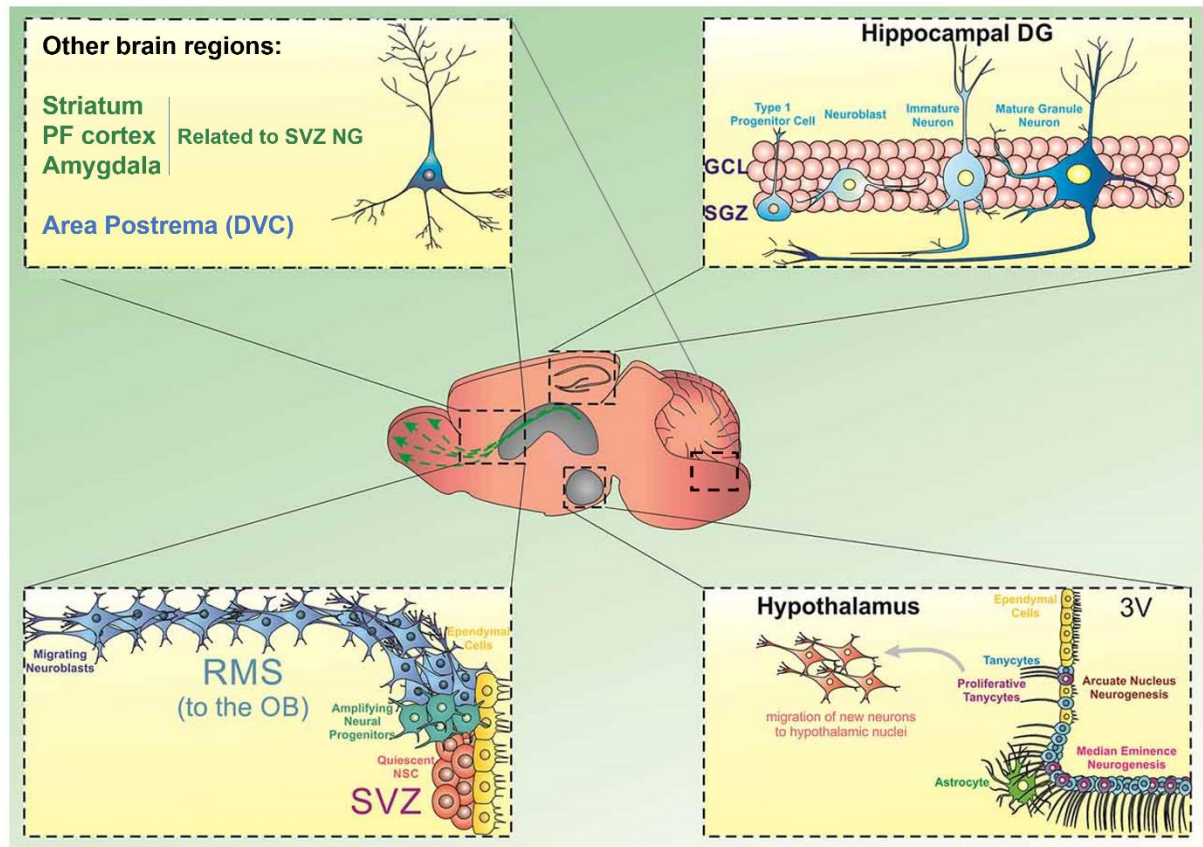


Figure 1 : Localisation des zones de neurogenèse adulte dans le cerveau murin. 4 régions de neurogenèse principales ont été identifiées. La zone sous-ventriculaire (SVZ) bordant les ventricules latéraux contient des cellules souches neurales (CSN) et produit des neuroblastes migrant à travers le flux migratoire rostral (RMS) vers le bulbe olfactif. La zone sous-granulaire de l'hippocampe (SGZ) contient également des CSN, qui produisent des neurones s'intégrant aux circuits neuronaux du gyrus denté (GD). L'éminence médiane et le noyau arqué de l'hypothalamus contiennent des tanyocytes bordant le 3^e ventricule, qui produisent des nouveaux neurones migrant vers le noyau hypothalamique. Enfin, l'area postrema comprend des CSN bordant le 4^e ventricule et produisant des neurones dans le complexe vagal-dorsal. Adapté de (Jurkowski et al., 2020).

- Elles sont capables de se différencier en plusieurs types cellulaires, on parle alors de multipotence.
- Elles ont la propriété de s'auto-renouveler, c'est-à-dire de générer par mitoses des cellules filles conservant les mêmes propriétés.

Contrairement aux cellules souches embryonnaires qui sont totipotentes, c'est-à-dire qu'elles peuvent produire tous les types cellulaires de l'organisme, les cellules souches adultes sont restreintes à un lignage donné ; par exemple, les cellules souches hématopoïétiques peuvent se différencier en chacun des types cellulaires du lignage hématopoïétique, mais pas en cardiomyocytes.

Depuis l'identification des cellules souches neurales (CSN) dans la ZSV et la ZSG du rongeur (Reynolds and Weiss, 1992; Morshead et al., 1994; Gage et al., 1998), des CSN ont été isolées dans le cerveau adulte de nombreuses espèces du règne animal, des reptiles aux primates (Font et al., 2001; Gould et al., 1999a). Chez l'humain, des CSN ont été isolées et cultivées à partir de la ZSV et de l'hippocampe (Westerlund et al., 2003; Sanai et al., 2004).

Les CSN mises en culture en suspension en présence d'*Epidermal Growth Factor* (EGF) et de *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF2) prolifèrent et forment des amas de cellules nommés *neurosphères* (Fig. 2; Reynolds and Weiss, 1992). Les CSN et les cellules issues de ces neurosphères sont à la fois capable de proliférer et de se différencier. Elles sont restreintes au lignage neural, qui comporte 3 types cellulaires : les neurones, cellules spécialisées dans l'intégration et la conduction d'information, les astrocytes, cellules nourricières supportant le tissu neural, et les oligodendrocytes, qui recouvrent les axones neuronaux d'une couche de myéline permettant d'accélérer la transmission du signal électrique. Ces CSN sont donc multipotentes. Elles sont, de plus, capables de proliférer, et leurs cellules-filles peuvent conserver ces propriétés multipotentes : elles remplissent donc le critère d'auto-renouvellement, et conviennent ainsi à la qualification de cellules souches. On désignera comme neurogéniques l'ensemble des progéniteurs neurales (PN) de la ZSV, c'est-à-dire à la fois les cellules indifférenciées et les cellules engagées dans la différenciation.

Pour bien comprendre l'identité des CSN, il convient de remonter jusqu'à leur origine, les cellules souches embryonnaires.

I.2.d. Origines embryonnaires des CSN

Chez tous les mammifères, les milliards de neurones du cortex cérébral trouvent leur origine dans le neuroectoderme, un feuillet primitif pseudo-stratifié, dont les cellules neuroépithéliales forment une plaque neurale qui s'invagine pour former un tube neural localisé autour de la cavité neurale (Rakic, 1988). Ces cellules neuroépithéliales ont des propriétés de cellules souches, qui se polarisent pour former un épithélium germinal nommé zone ventriculaire (Martynoga et al., 2012). De multiples divisions asymétriques de ces cellules épaississent la couche cellulaire, formant des strates spécialisées qui constitueront les différentes couches du cortex cérébral (Molyneaux et al., 2007). A partir du 10^e jour du développement embryonnaire (E10), ces cellules neuroépithéliales forment par divisions asymétriques des cellules polarisées nommées glie radiaire (Martynoga et al., 2012).

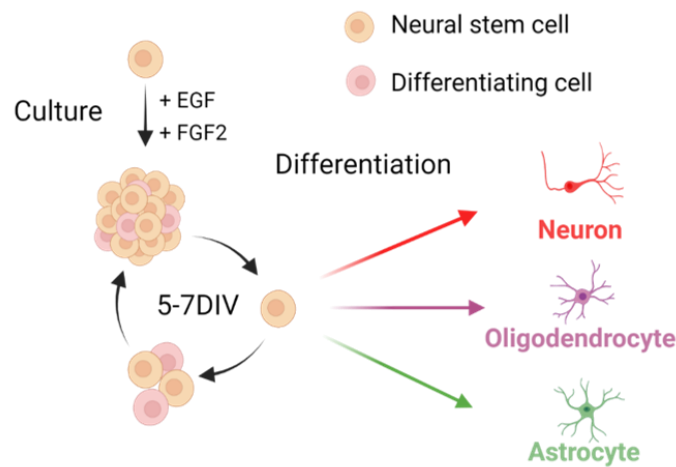


Figure 2 : Culture et caractérisation des cellules souches neurales. Les progéniteurs neuraux possédant des propriétés souches sont placés en culture en suspension, en présence d'EGF et de bFGF. Après 5-7 jours, des neurosphères sont formées contenant des cellules souches ainsi que des progéniteurs ayant perdu ces propriétés. Après dissociation et réensemencement des cellules composant ces neurosphères, les cellules à propriétés souches vont former à nouveau des neurosphères, et ces cultures peuvent ainsi être maintenues sur le long-terme. Les cultures de progéniteurs neuraux sont multipotentes, et en présence de milieux appropriés, leur différenciation en astrocytes, oligodendrocytes ou neurones peut être induite. DIV : Jours *in vitro*.

La glie radiaire embryonnaire constitue un type cellulaire gliale donnant naissance à la fois à des neurones et à des cellules gliales (Fig. 3; Noctor et al., 2001; Anthony et al., 2004). Elles sont situées aux bords des ventricules cérébraux, où elles étendent un cil primaire apical, et étendent un long prolongement basal contactant la surface piale (Gadisseux et al., 1989). Entre les stades E10 et E16, elles se diviseront pour former soit directement des neurones, soit des précurseurs intermédiaires qui proliféreront localement avant de produire des neurones (Martynoga et al., 2012). Les neurones ainsi produits migrent alors en prenant appui sur les prolongements basaux de la glie radiaire, en premier lieu vers les couches profondes, puis vers les couches corticales superficielles (Rakic, 1988). Des précurseurs neuronaux utilisent également cet échafaudage glial pour migrer et former la seconde niche neurogénique principale du cerveau adulte, le gyrus dentelé (Urbán and Guillemot, 2014).

La seconde vague de différenciation des cellules de la glie radiaire est entamée à E16, et produira des astrocytes jusqu'au développement postnatal (Martynoga et al., 2012). Enfin, le troisième type cellulaire du lignage neural, les oligodendrocytes, provient exclusivement de différenciations post-natales (Sauvageot and Stiles, 2002).

Cependant, l'étude du destin des cellules neuroépithéliales a mis en évidence un autre type cellulaire issu des cellules neuroépithéliales : les équipes de Gord Fishell et d'Arturo Alvarez-Buylla, en électroporant respectivement des vecteurs rétroviraux dans cellules neuroépithéliales et dans la glie radiaire post-natale, ont pu tracer le destin de ces cellules à l'aide d'un vecteur rétroviral (Gaiano and Fishell, 2002; Merkle et al., 2004). Ils ont ainsi pu montrer la filiation entre ces types cellulaires développementaux et une population d'astrocytes polarisés localisés le long de la ZSV : les CSN adultes.

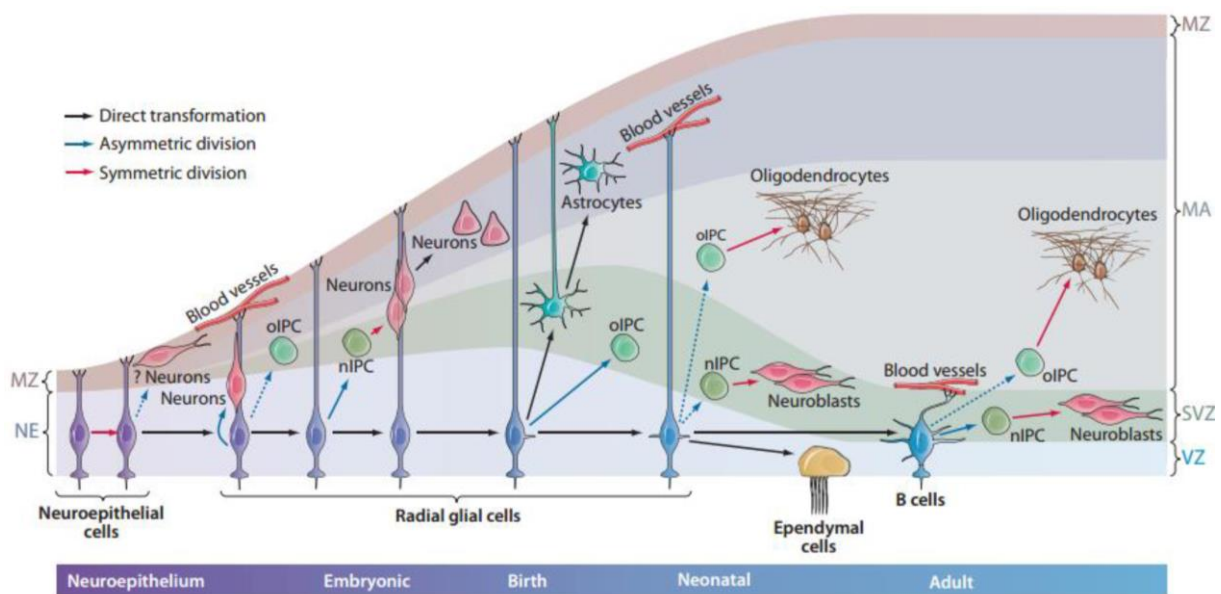


Figure 3 : Schéma de la neurogenèse embryonnaire. Les cellules neuroépithéliales du neuroectoderme (NE) sont des cellules souches possédant un prolongement apical en contact avec le lumen du tube neural ainsi qu'un prolongement basal qui s'étend dans la zone médullaire (MZ). Durant le développement embryonnaire, ces cellules se différencient en glie radiaire proliférative conservant cette morphologie apico-basale. Celle-ci va alors, par divisions asymétriques, s'auto-renouveler d'une part, et produire des neurones et des progéniteurs intermédiaires d'autre part. Les neurones ainsi produits migrent le long des prolongements de la glie radiaire vers la zone médullaire en extension. Après la production de neurones, la glie radiaire continue de proliférer par divisions asymétriques et produit des astrocytes ainsi que des progéniteurs neuraux qui produiront des neuroblastes migrants. A la naissance, une partie de la glie radiaire se différencie en cellules épendymaires, une seconde partie produit des progéniteurs oligodendrocytaires qui viendront coloniser le cortex et se différencier en oligodendrocytes, tandis qu'une sous-population conserve un phénotype indifférencié pour générer les cellules souches de la zone sous-ventriculaire adulte (B cells). Tiré de (Kriegstein and Alvarez-Buylla, 2009).

I.2.e. La neurogenèse hippocampique

La ZSG est située dans des zones profondes du cerveau, à l'interface entre le hilus et la couche granulaire du gyrus denté, et ne contacte pas le système ventriculaire (Fig. 4). Malgré cela, la neurogenèse hippocampique est initiée par des CSN appelées cellules de type 1, qui ne possèdent donc pas de processus apical (Toda and Gage, 2018). Cependant, elles expriment des marqueurs astrocytaires et présentent une morphologie de glie radiaire, étendant leurs processus radiaux pour contacter à la fois les cellules de la niche, le plexus vasculaire et enfin les neurones et cellules gliales des couches granulaires (CG) et moléculaires (CM) du GD (Bonaguidi et al., 2011; Moss et al., 2016). Ces CSN sont multipotentes et capables d'auto-renouvellement (Bottes et al., 2021). Elles donnent lieu à des divisions asymétriques, donnant naissance à une CSN et une cellule amplificatrice de type 2, au sein desquelles on distingue les cellules de type 2a et les cellules de type 2b, par l'expression dans les types 2b de gènes de différenciation neuronale (Ceanga et al., 2021).

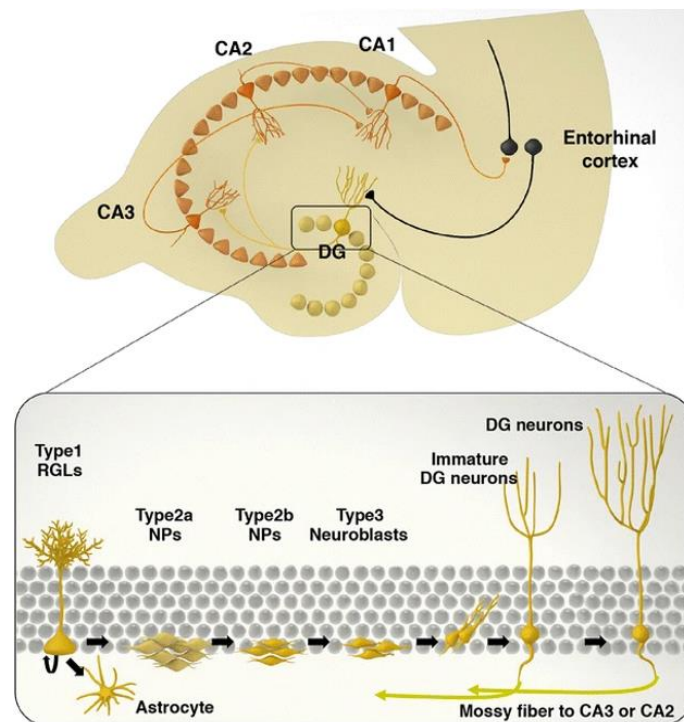


Figure 4 : Schéma de la neurogenèse hippocampique. La zone sous-granulaire héberge des CSN (Type1, Radial Glia-Like), qui s'activent sporadiquement pour produire des progéniteurs neuraux précoces (Type2a). Ceux-ci prolifèrent pour générer à leur tour des progéniteurs neuraux tardifs (Type2b), qui à leur tour produiront des neuroblastes post-mitotiques (Type3). Ces neuroblastes migrent vers le gyrus denté (DG) pour y intégrer les circuits neuronaux en interneurons inhibiteurs immatures, étendant d'une part des axones appelées fibres moussues vers le CA2 et CA3, et d'autre part un réseau dendritique recevant des afférences du cortex entorhinal. Une fraction des neurones immatures produits survivra et achèvera sa maturation. Tiré de Toda and Gage, 2018.

Elles se divisent majoritairement de manière symétrique mais parfois asymétriquement pour générer des cellules de type 3, engagées vers un destin neuronal (Pilz et al., 2018). Avant la maturation, une sélection importante des cellules de type 3 est alors effectuée en deux vagues : une première vague d'apoptose est induite 24-48h post-mitose, suivie d'une seconde vague de mort cellulaire à l'intégration des cellules immatures (Pilz et al., 2018; Tashiro et al., 2006). La survie des neurones implique l'intégration définitive des neurones aux circuits de la CG (Kempermann et al., 2003), qui intègrent ainsi les circuits neuronaux du gyrus denté.

I.2.f. Implications fonctionnelles de la neurogenèse

L'hippocampe constitue un centre d'intégration combinant des signaux neuromodulateurs, des systèmes inhibitoires complexes, et des connexions efférentes vers de nombreuses structures cérébrales (Kesner, 2013). Le GD possède ainsi de nombreuses fonctions mémorielles, liant l'intégration simultanée d'inputs sensoriels environnementaux multiples, la séparation de patterns nécessaire à l'analyse de ces informations environnementales, en particulier spatiales, et enfin l'intégration temporelle et la mémoire de ces informations contextuelles (Kesner, 2013). Deux hypothèses majeures non contradictoires pourraient expliquer les fonctions de la neurogenèse hippocampique adulte :

- D'une part, les neurones néoformés du GD pourraient jouer un rôle au niveau de la mémoire, encodant des informations contextuelles sur le long-terme (Toda and Gage, 2018).
- D'autre part, les nouveaux neurones du GD possèdent un rôle inhibiteur sur l'activité des neurones matures du GD, et seraient ainsi nécessaires au délabrement des informations contextuelles encodées (Temprana et al., 2015).

Malgré une diversité des approches d'ablation de la neurogenèse adulte (chimiques, par irradiation, génétiques ou temporellement contrôlées) et des tests comportementaux utilisés, qui fournissent parfois des résultats différents, un corpus grandissant d'études pointent vers un rôle central dans la séparation de patterns, l'apprentissage, le contrôle émotionnel, et le délabrement des mémoires contextuelles (Toda and Gage, 2018).

Ainsi, dans un contexte d'enrichissement environnemental, cette ablation supprime les effets bénéfiques du contexte enrichi sur la mémoire à long-terme sur la reconnaissance de nouveaux objets, et augmente le temps d'apprentissage (Bruehl-Jungerman et al., 2005; Imayoshi et al., 2008; Garthe et al., 2009). Cependant, la neurogenèse hippocampique semble également nécessaire à l'oubli, à la fois infantile et adulte (Akers et al., 2014; Epp et al., 2016).

La neurogenèse hippocampique semble également nécessaire au processus de séparation des patterns. Ainsi, l'augmentation de la survie des neurones immatures améliore les

capacités de discrimination de patterns spatiaux (Creer et al., 2010; Sahay et al., 2011), et ces capacités sont à l'inverse diminuées par une ablation de la neurogenèse (Niibori et al., 2012; Nakashiba et al., 2012).

Enfin, la formation de nouveaux neurones semble réguler certaines réponses émotionnelles, en atténuant la réponse de stress (Bessa et al., 2009; Snyder et al., 2011), et leur déplétion augmente l'anxiété et les comportements dépressifs en réponse au stress, sans toutefois modifier les niveaux basaux d'anxiété chez les animaux (David et al., 2009; Kitamura et al., 2009).

La neurogenèse dans le BO présente également des fonctions comportementales majeures. Les circuits neuronaux du BO reçoivent, intègrent et filtrent les informations sensorielles issues de neurones senseurs exprimant des récepteurs olfactifs (Wilson, 2008), et ont ainsi un rôle prépondérant dans la discrimination, l'apprentissage et la mémoire des odeurs (Lazarini and Lledo, 2011). Une des formes de la plasticité de ces circuits est l'intégration de nouveaux neurones issus de la neurogenèse de la ZSV (Malvaut and Saghatelian, 2015).

Celle-ci pourrait d'abord participer au renouvellement des circuits : malgré des estimations variables selon les approches (15-60%), un turnover substantiel est assuré par la génération de nouveaux neurones à l'âge adulte (Lagace et al., 2007; Imayoshi et al., 2008; Valley et al., 2009).

Fonctionnellement, la neurogenèse bulbaire est nécessaire à la mémoire olfactive à court-terme et la discrimination d'odeurs similaires, réduites par l'ablation chimique de la neurogenèse (Breton-Provencher et al., 2009; Moreno et al., 2009). L'activation des nouveaux neurones a également été directement impliquée dans la discrimination d'odeurs similaires (Alonso et al., 2012).

La neurogenèse bulbaire a également un rôle prépondérant dans l'apprentissage associatif d'odeurs : l'ablation de celle-ci diminue la capacité à associer activement les odeurs à un stimulus (Lazarini et al., 2009; Sultan et al., 2010; Mandairon et al., 2011).

Par-delà des fonctions d'adaptation à l'environnement, ces processus de discriminations, d'apprentissage et de mémoire des odeurs pourraient revêtir une fonction sociale majeure, puisque l'altération de la neurogenèse adulte perturbe la reconnaissance sexuelle chez les souris femelles, sans toutefois affecter le comportement maternel (Feierstein et al., 2010).

En dernier lieu, la neurogenèse semble présenter des fonctions régénératrices limitées dans le système nerveux central. En effet, les CSN sont multipotentes, et peuvent produire les trois types cellulaires du lignage neural dans des contextes pathologiques vairs, tels qu'après lésion, ou suite à des dommages neurodégénératifs.

I.3. Les progéniteurs subventriculaires

I.3.a. Etapes de la neurogenèse sous-ventriculaire

Les CSN de la ZSV adulte sont majoritairement maintenues dans un état de quiescence (cellules souches neurales quiescentes, CSNq), mais entrent sporadiquement en cycle cellulaire (cellules souches neurales activées, CSNa) (Fig.5; Obernier and Alvarez-Buylla, 2019). Chez la souris, ces CSN représentent environ 7000 cellules par ZSV réparties sur le mur latéral, et la partie antérieure du mur médial, et présentent un phénotype astrocytaire hérité de la glie radiaire ; elles sont communément identifiées par des marqueurs astrocytaires (Fig. Doetsch et al., 1999; Mirzadeh et al., 2008). La division des CSNa présente deux fonctions : d'une part, elle assure l'auto-renouvellement en produisant de nouvelles CSN capables de retrouver un état quiescent, et d'autre part elle initie la neurogenèse en produisant des progéniteurs intermédiaires (PI), des cellules mitotiques couramment suivies par l'expression du marqueur ASCL1. Les PI accomplissent au total 3 à 4 divisions successives débouchant sur la formation de neuroblastes (NB) (Fig. 5; Ponti et al., 2013). Ces NB sont engagés dans le lignage neuronal et perdent leur multipotence, mais conservent un potentiel mitotique restreint accomplissant au maximum 2 divisions cellulaires avant leur maturation (Ponti et al., 2013). Les NB ainsi produits, communément suivis par l'expression du gène de différenciation neuronale *Doublecortin* (Dcx) (Zhang et al., 2010) entament alors un long processus de migration jusqu'à leur destination finale, le BO.

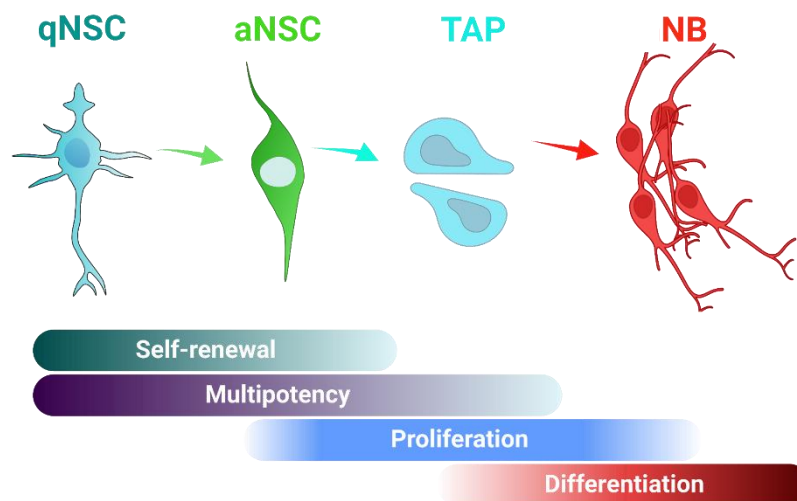


Figure 5 : Schéma des étapes de la neurogenèse. Les CSNq (qNSC) s'activent sporadiquement pour devenir des CSNa (aNSC), qui prolifèrent et produisent des PI (TAP). Ces PI effectuent à leur tour des divisions successives et génèrent des neuroblastes (NB) qui rejoindront le FMR pour migrer vers le BO.

La filiation entre ces types cellulaires a été établie formellement en 1999 grâce à l'étude de Fiona Doetsch et collaborateurs de la structure de la ZSV après déplétion des cellules mitotiques de la ZSV après l'injection de cytosine D-β-arabinofuroside (AraC), un agent antimitotique. Après cette déplétion des astrocytes, marqués par l'expression de la *Glial Fibrillary Acid Protein* (GFAP), étaient à l'origine d'un repeuplement de la ZSV et d'une reprise progressive de la neurogenèse, marquée par la réapparition séquentielle des PI puis des NB.

Parallèlement, d'autres modèles d'identification des astrocytes subventriculaires ont été utilisés pour étudier les CSN à l'origine de la neurogenèse, comme par exemple le modèle GLAST::Cre^{ERT2} (Pastrana et al., 2009). Ce modèle, qui nous fournit un bon exemple des diverses stratégies génétiques de traçage de la progénie utilisées dans l'étude de la neurogenèse, permet la recombinaison spécifique des cellules exprimant le *Glutamate ASpartate Transporter* (GLAST), un autre marqueur astrocytaire, après traitement avec un modulateur des récepteurs à l'oestrogène, le tamoxifène (TMX).

De nombreuses étapes séparent donc les CSN et leur progénie de l'état de cellule différenciée : après une étape proliférative vient celle de la différenciation, suivie ou non d'une migration, puis vient une étape de maturation. Clarifions ici la nomenclature utilisée dans ce manuscrit : le lignage neural comprend l'ensemble des populations souches, progénitrices et différenciées, tandis que les termes de lignages neuronal, oligodendrocytaire et astrocytaire désignent les cellules engagées de manière théoriquement irréversible vers leur destins cellulaires respectifs, qu'elles soient en différenciation, en maturation ou bien matures. La désignation progéniteurs neuronaux (PN) correspond aux CSN, PI et NB, tandis que celle de progéniteurs oligodendrocytaires (PO) comprend les CSN, PI et CPO.

I.3.b. Organisation de la ZSV

La ZSV constitue une zone très organisée située à l'interface avec le ventricule latéral. On y distingue 4 types cellulaires principaux : aux populations neurogéniques de CSN, de PI et de NB viennent s'ajouter les cellules épendymaires (CE) (Fig. 6; Lim and Alvarez-Buylla, 2016). Ces types cellulaires sont localisés au sein de trois domaines distincts : un domaine apical épendymaire (I), un domaine intermédiaire contenant les progéniteurs neuraux (II), et un domaine basal contenant des capillaires sanguins (III).

Dans le domaine apical se situent des CE post-mitotiques qui possèdent une morphologie épithéliale polarisée, avec à leur surface des cils motiles qui permettent de distinguer deux types de CE : une population de type 1 (CE1) présentant des clusters d'environ 50 cils motiles, et une population de type 2 (CE2) présentant seulement 2 cils (Kriegstein and Alvarez-Buylla, 2009). Ces cils s'étendent dans le lumen du ventricule qui contient du liquide céphalo-rachidien (LCR) porteur de nombreuses molécules de signalisation. A l'inverse, le mouvement des cils des cellules CE1 peut générer un flux dans le LCR.

Si les CE semblent former une interface compacte et continue entre le lumen du ventricule et le parenchyme cérébral, la microscopie électronique a révélé deux structures hautement organisées permettant la communication entre le lumen et le domaine intermédiaire. D'une part, des clivages interstitiels entre les CE, nommés fractones permettent un passage contrôlé de certaines molécules signalisatrices du LCR (Brightman, 2002; Mercier et al., 2002). D'autre part, certaines CE2 présentent une organisation en rosace entourant les extensions apicales de cellules du domaine intermédiaire : il s'agit des prolongements de CSN, qui présentent sur ces prolongements un cil primaire non-motile en contact avec le LCR (Mirzadeh et al., 2008).

Les CSN présentent donc un prolongement apical, mais leur corps cellulaire est localisé dans le domaine intermédiaire. Elles étendent également d'autres prolongements : d'une part des prolongements radiaux, par lesquelles elles contactent à la fois d'autres CSN, PI et NB mais aussi les fractones des CE, et d'autre part, un prolongement basal qui s'étend vers le domaine basal et forme une interface avec les cellules endothéliales tapissant les capillaires sanguins.

Les PI présentent une morphologie compacte et sphérique, étendant peu de prolongements. Leurs divisions successives rapides et leur absence de migration induit leur groupement sous forme de clusters localisés tout au long du ventricule latéral (Doetsch et al., 1999).

Les NB, enfin, migrent par cluster le long du mur latéral pour rejoindre le FMR de la ZSV, où ils forment des chaînes de migration caractéristiques, s'appuyant les uns sur les autres (Wichterle et al., 1997). Leur morphologie, typique de cellules migratoires, présente un corps cellulaire allongé, présentant aux extrémités de courts prolongements.

Le maintien de cette architecture très organisée semble essentielle à la fonction neurogénique des progéniteurs neuraux; en effet, elle est diminuée suite à une déstabilisation des jonctions apicales des CE (Paez-Gonzalez et al., 2011).

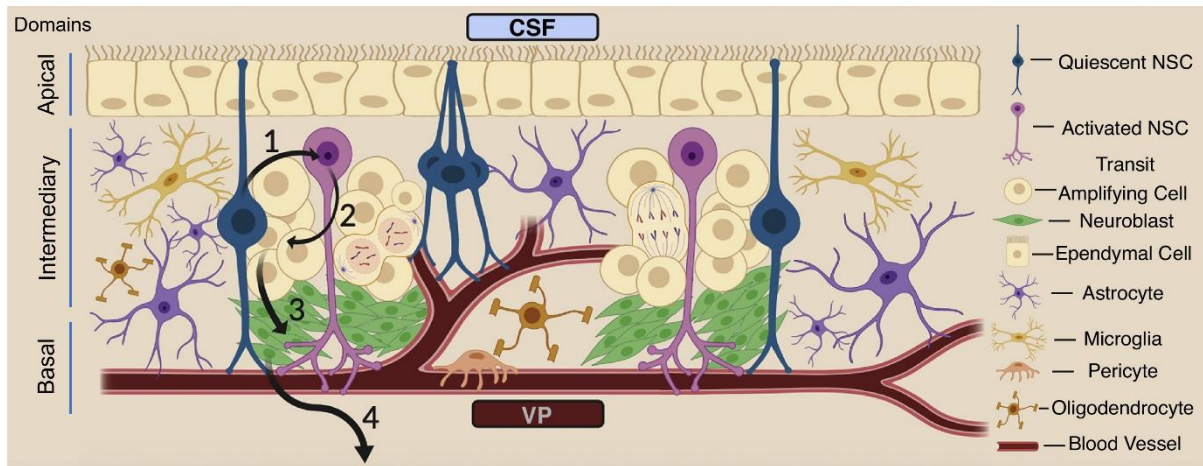


Figure 6 : Architecture de la niche neurogénique de la ZSV. Représentation schématique de l'organisation des types cellulaires présents dans la ZSV. Les CSN (bordeaux et bleu foncé) présentent des caractéristiques astrogliales. Les CSNq contactent d'une part le ventricule latéral (haut) et le LCR (CSF) par un prolongement apical situé entre des rosaces de cellules épendymaires (jaune, apical) et d'autre part les vaisseaux sanguins (BV, rose) grâce à un prolongement basal. Elles produisent des CSNa, qui conservent ces caractéristiques astrogliales et cette attache au réseau vasculaire. Ces CSN produisent des PI (jaune, intermédiaire), hautement mitotiques et qui produisent à leur tour des neuroblastes (vert) engagés dans la différenciation neuronale. Adapté de Cutler and Kokovay, 2020.

I.3.c. La grande migration

Un voyage de mille micromètres commence toujours par un premier pas.

Adapté d'un proverbe attribué à Lao-Tseu

Les NB néoformés se groupent en chaînes de migration le long des vaisseaux sanguins de la paroi ventriculaire pour rejoindre de multiples faisceaux de migration. Ces derniers sont situés à l'extrémité dorso-latérale de la ZSV sous le corps calleux (CC), et s'étendent tout au long du ventricule selon l'axe antéro-postérieur, tandis qu'un autre est formé à l'extrémité ventrale, trouvé seulement sur la section la plus antérieure de la ZSV (Zhao et al., 2008). Les neuroblastes migrent à travers ces faisceaux qui se rejoignent à l'extrémité antérieure du ventricule pour former le flux migratoire rostral (FMR), une gaine astrocytaire entourant des vaisseaux sanguins au long de laquelle les neuroblastes migrent en chaîne (Fig. 7), surplombant d'abord le noyau caudé du striatum dorsal puis traversant le noyau olfactif antérieur (Martončíková et al., 2021).

Ce chemin apparaît guidé par des vaisseaux sanguins qui suivent précisément le FMR sur toute sa longueur. Le long de ces vaisseaux, les chaînes de neuroblastes alternent entre des phases stationnaires et des phases saltatoires de migration rapide (jusqu'à 300µm/s) (Wichterle et al., 1997). Les neuroblastes s'appuient alors les uns sur les autres, étendant d'abord un lamellipode exploratoire pour former un contact cellule-cellule servant d'accroche pour une translocation du corps cellulaire (Wichterle et al., 1997). Cette longue migration s'étendant sur près d'1,5 mm depuis la section postérieure du ventricule puis 3 mm au sein du FMR (Zhao et al., 2008), s'achève dans le bulbe olfactif où les neuroblastes passent d'un mode de migration tangentiel à un mode radial indépendant du réseau vasculaire, pour rejoindre les différentes couches du BO (Fig. 7). Ils s'intégreront principalement dans la couche granulaire (95%) et marginalement dans la couche périglomérolaire, où ils entameront une différenciation terminale sur 2 à 4 semaines pour devenir un interneurone fonctionnel (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Lazarini et al., 2009).

L'ensemble de ce processus est marqué par une sélection drastique : chez la jeune souris adulte, si chaque jour environ 10000 neuroblastes sont produits par la ZSV et empruntent le FRM, seuls quelques milliers par jour rejoignent les différentes couches de l'OB, et parmi ceux-ci, on estime que 50% seulement survivront après 45 jours pour s'intégrer durablement (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002). Ce processus de sélection semble dicté par l'activité des jeunes neurones, qui promeut leur survie (Yamaguchi and Mori, 2005). A l'inverse, l'inactivité induit soit l'apoptose, soit la phagocytose par des cellules microgliales, des jeunes interneurones.

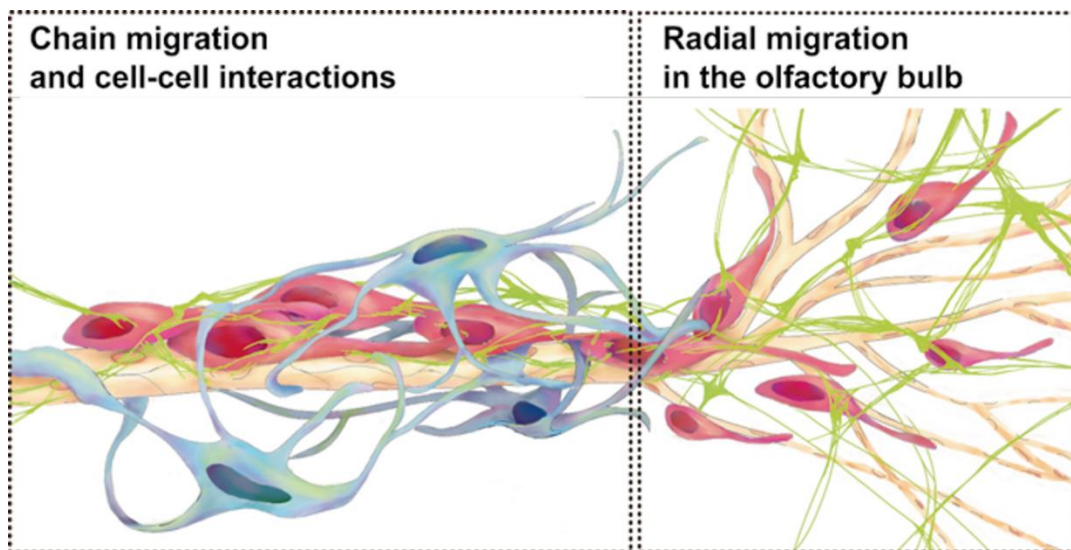


Figure 7 : Migration des neuroblastes subventriculaires au bulbe olfactif. Le FMR comprend des vaisseaux sanguins (jaune) suivant le FMR sur sa longueur, entourés par une gaine d'astrocytes (bleus). Le long de ces vaisseaux, des neuroblastes (rouges) s'aggrègent en chaînes migratoires, autour desquelles s'accumulent des protéines de matrice extracellulaire (vert). Les neuroblastes s'appuient sur les contacts cellules-cellules avec les astrocytes et les vaisseaux sanguins pour migrer. A l'arrivée des neuroblastes au BO, les neuroblastes adoptent individuellement un mode de migration radiale, indépendant des chaînes de migration, pour rejoindre les différentes couches du BO. Adapté de Huang et al., 2009.

I.3.d. Hétérogénéité spatiale et microdomaines

Nous avons jusqu'ici considéré la neurogenèse subventriculaire dans sa globalité, comme un processus homogène. Pourtant, elle produit *in fine* plusieurs types d'interneurones différents, à la fois par leur phénotype et par leur localisation (Chaker et al., 2016). Ces différents destins peuvent être directement reliés à une hétérogénéité spatiale des CSN, dont la localisation le long des axes antéro-postérieur et dorso-ventral est déterminante pour le type d'interneurones générés (Fig. 8, A; Kohwi et al., 2005; Merkle et al., 2007, 2014). Ces localisations sont déterminées par l'origine embryonnaire des microdomaines, où la glie radiaire issue de régions péri-ventriculaires distinctes donne naissance à des populations de CSN localisées dans des domaines spécifiques de la ZSV adulte (Fuentealba et al., 2015). Cette identité positionnelle est conservée après la transplantation de CSN ventrales en région dorsale, ou l'inverse : elle semble donc portée par des facteurs intrinsèques aux CSN (Merkle et al., 2007). Cependant, la signalisation joue également un rôle majeur sur le destin des cellules, indiquant que cette régionalisation est également le résultat de signaux extrinsèques (Ihrie et al., 2011).

On dénombre actuellement 10 sous-types d'interneurones inhibiteurs produits par la ZSV, associés à des microdomaines de la ZSV où résident les CSN qui les produisent (Fig. 8, B). Ces dernières sont identifiées par l'expression de marqueurs déterminant leur identité, sur lesquels nous reviendrons en détail dans le prochain chapitre.

- Les CSN *Emx1+* de la région dorsale postérieure produisent des neurones périglomérulaires tyrosine-hydroxylase+ ainsi que des cellules granulaires superficielles (López-Juárez et al., 2013).
- Les CSN ventrales postérieures *Gli1+* donnent naissance à des neurones périglomérulaires calbindin+ (Ihrie et al., 2011; Merkle et al., 2014).
- les CSN latérales et ventrales *Nkx2.1+* observées tout au long de l'axe antéro-postérieur forment des neurones granulaires profonds (Merkle et al., 2014; Delgado and Lim, 2015).
- Des CSN *Sp8+* produisant des neurones calretinin+ périglomérulaires ou granulaires au niveau du mur médial antérieur de la ZSV (López-Juárez et al., 2013).
- Une sous-population de CSN antérieures *Nkx6.2+* produisent 4 types d'interneurones supplémentaires (Merkle et al., 2014).

L'ensemble de ces progéniteurs produisent donc les différents types d'interneurones du BO issus de la neurogenèse subventriculaire. Cependant, ces marqueurs du destin neuronal ont récemment été complétés par l'ajout de deux marqueurs supplémentaires à une échelle plus large. En effet, une étude de del Águila et collaborateurs a très récemment décrit une expression mutuellement exclusive des facteurs de transcription *Gsx2*, exprimés par des CSN des domaines dorsolatéral et latéral, et *Olig2*, exprimé dans des CSN des domaines latéral, ventral et septal (del Águila et al., 2022). Cette étude a également apporté une nuance importante, en confirmant par des approches de fate-mapping que les différents types d'interneurones distincts ne proviennent pas exclusivement des CSN de régions distinctes, malgré la présence de tendances spatialement définies. Ainsi, les CSN *Gsx2+* semblent produire exclusivement des neurones calbindin+, mais les neurones calbindin+ ne sont pas produits par les seules CSN *Gsx2+*. A l'inverse, la neurogenèse issue des CSN *Olig2+* produit exclusivement des neurones calrétinines+ et tyrosine-hydroxylase+.

En somme, les CSN de la ZSV forment une population hétérogène organisée au sein de microdomaines distincts, dont l'identité définit le destin neurogénique (Fig.8). Cette identité semble reposer sur l'expression de facteurs de transcription spécifiques, qui peuvent d'une part être influés par les signaux de la niche environnante, mais d'autre part être impliqués dans des boucles de régulation permettant une stabilité de leur expression indépendamment de leur localisation.

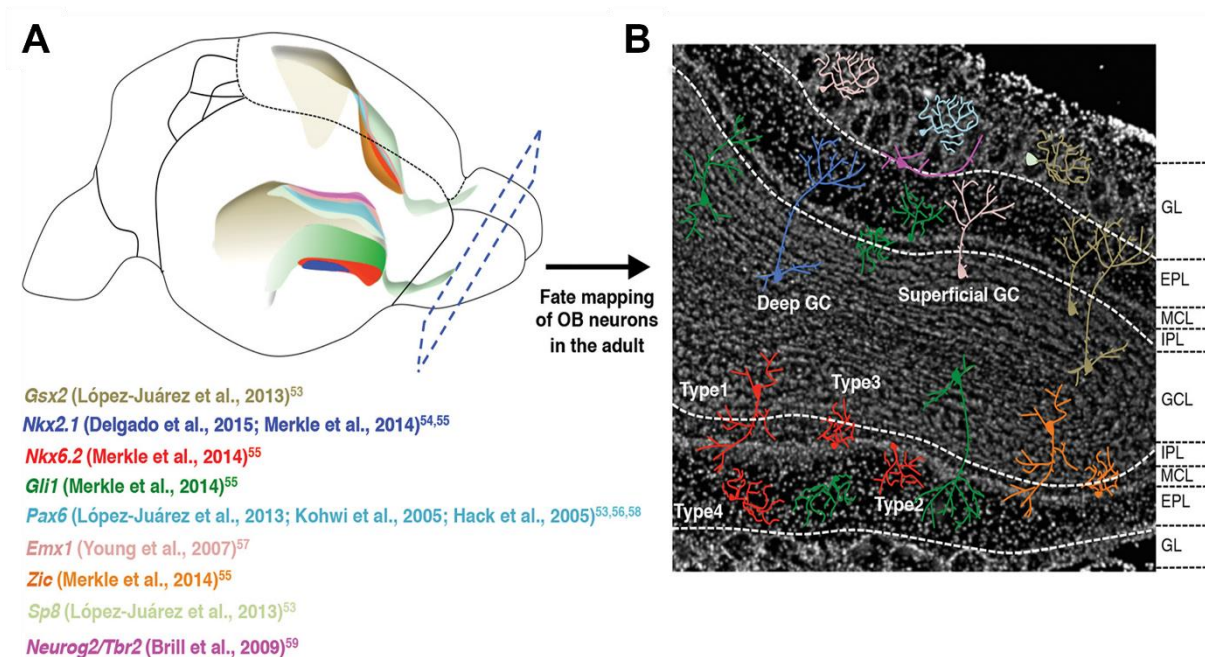


Figure 8 : Microdomaines et destins neuronaux des progéniteurs neuraux. Les CSN présentent une hétérogénéité spatiale et moléculaire **(A)**, déterminant le type d'interneurones qu'elles produisent **(B)**. Les couleurs utilisées pour représenter les différents types d'interneurones sur une coloration DAPI comprenant les différentes couches du BO **(B)**. OB ; bulbe olfactif ; EPL : couche extérieure plexiforme ; GC : cellules granulaires ; GL : couche glomérulaire ; GCL : couche de cellules granulaires ; IPL : couche plexiforme interne ; MCL : couche de cellules mitrales. Tiré de Chaker et al., 2016.

I.3.e. L'oligodendrogenèse subventriculaire

Les CSN Olig2+ ne sont cependant pas que neurogéniques. En effet, elles donnent également naissance à l'autre lignage produit constitutivement par la ZSV : le lignage oligodendrocytaire, qui aboutit à la production d'oligodendrocytes matures.

Le lignage oligodendrocytaire est le dernier à faire son apparition durant le développement embryonnaire, après les vagues de différenciation neuronales et astrocytaires (Tekki-Kessaris et al., 2001). Trois vagues de production de cellules progénitrices oligodendrocytaires (CPO) se succèdent dans le développement cortical, à E12.5, E15.5 et après la naissance. Ces CPO se dissémineront ensuite dans le cerveau et donneront naissance à la majorité des oligodendrocytes myélinisants (OLM) du système nerveux central (Kessaris et al., 2006).

Cependant, la ZSV produit également constitutivement une faible quantité d'oligodendrocytes migrant vers le CC voisin, qui semblent issus de sous-population de progéniteurs neuraux exprimant l'Olig2, un facteur de transcription essentiel dans la différenciation oligodendrocytaire (Menn et al., 2006). Une étude récente de l'équipe de Fiona Doetsch, décrivant les populations des murs médial et latéral par un transcriptome de cellule unique, a montré une forte hétérogénéité spatiale des progéniteurs orientés vers le lignage glial (Mizrak et al., 2019). Ceux-ci semblent principalement présents le long du mur médial, dans lequel les progéniteurs neuraux sont restreints à la zone la plus antérieure.

Cependant, comme discuté dans la section précédente, les cellules Olig2+ ne produisent pas exclusivement des cellules oligodendrocytaires, mais génèrent également divers types d'interneurones. Une élégante étude de fate-mapping a montré qu'*in vivo*, les CSN activées n'engendraient des progéniteurs que d'un seul lignage, suggérant une exclusion mutuelle des deux orientations, oligodendrocytaires et neuronales, qui surviendrait à un stade précoce de la neurogenèse (Ortega et al., 2013).

I.4. Mécanismes moléculaires de la neurogenèse

Après cette présentation des grandes propriétés des populations impliquées dans la neurogenèse, écartons-nous désormais de cette échelle cellulaire pour explorer en détail les propriétés moléculaires des différents acteurs. Nous commencerons donc par passer en revue les différents marqueurs protéiques utilisés pour définir les populations, avant d'explorer quelques mécanismes moléculaires majeurs à l'œuvre dans la neurogenèse.

I.4.a. Les marqueurs des populations

De nombreux marqueurs des CSN ont été proposés chacun présentant des limites importantes (Fig. 9). La GFAP utilisée communément est ainsi exprimée par de nombreux astrocytes parenchymaux. La Prominin-1 (CD133) est exprimée de manière variable par les CSN, et est également fortement exprimée par les cellules épendymaires voisines (Beckervordersandforth et al., 2010). La Nestine est exprimée par les CSNa mais pas les CSNq, ainsi que par certains PI, et l'EGFR et Tailless (Tlx) sont exprimés par les populations cyclantes (Pastrana et al., 2009; Shi et al., 2004). Le Glutamate Aspartate Transporter-1 (GLAST) est présenté à la fois par des CSN et certains PI (Nam and Benezra, 2009). Le marqueur de surface Lewis X/SSEA-1 (CD15) est fortement exprimé par les CSNq, et plus faiblement par les CSNa (Shen et al., 2008; Morizur et al., 2018). VCAM-1 est exprimé au cil apical des CSNqs, et a été utilisé récemment pour enrichir la fraction souche dans des expériences de single-cell RNA-seq (Kokovay et al., 2012; Cebrian-Silla et al., 2021). Enfin, le marqueur de surface Tnfrsf19 (Troy) a récemment été identifié comme exprimé sur les CSNqs (Basak et al., 2018).

Cette quête des marqueurs de CSN n'est cependant pas achevée, puisque récemment, a été remise en lumière une sous-population de cellules dites B2, qui correspondent à des CSN sans processus apical (Doetsch et al., 1999; Obernier et al., 2018; Baur et al., 2022). Au cours du vieillissement, elles semblent acquérir un rôle important dans l'initiation de la neurogenèse, cependant leur expression des marqueurs usuels des CSN est encore mal documentée (Baur et al., 2022). Ces cellules seraient responsables d'un maintien relatif de la neurogenèse au cours du vieillissement, qui contraste avec le déclin massif des populations des astrocytes B1 apicaux (Obernier et al., 2018). Ces travaux révélés par l'étude du vieillissement pourraient expliquer certaines difficultés de caractérisation des CSN à un âge plus avancé : la majorité des travaux sur la neurogenèse adulte utilise des souris jeunes (2 à 3 mois), où la neurogenèse découle principalement de cellules apicales.

Les PI forment une population intermédiaire multipotente qui est usuellement caractérisée par l'expression de marqueurs tels que l'EGFR, ou les facteur de transcription DLX2 et ASCL1, qui sont nécessaires à la neurogenèse (Fig. 9, Parras et al., 2004; Brill et al., 2008; Lim and Alvarez-Buylla, 2016). Pour distinguer les NB, les marqueurs les plus courants sont la Doublecortine X (DCX) et la β -III TUBULIN (*Tubb3*), des protéines associées aux microtubules (Fig. 9, Lim and Alvarez-Buylla, 2016). On trouve également la forme polysyalinée de la Neural cell Adhesion Molecule, PSA-NCAM (issu du gène *Ncam1*), qui marque les neuroblastes en migration (Doetsch et al., 1997). L'expression des *Glutamate decarboxylase* GAD1 et GAD2, impliqués dans la production du neurotransmetteur GABA a également été utilisée pour tracer ces cellules. Enfin, le CD24, une sialoglycoprotéine de surface, sert à l'adhésion cellulaire et présente un niveau d'expression intermédiaire dans les NB, et très élevé dans les cellules épendymales (Doetsch et al., 1999).

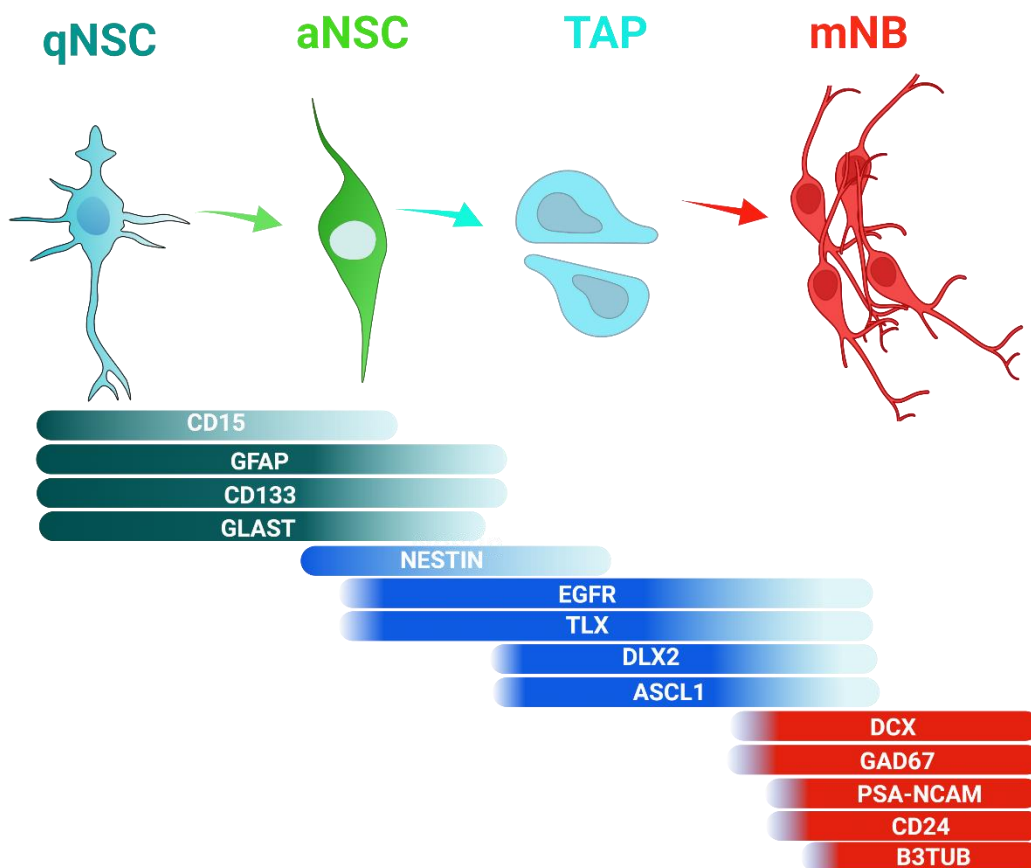


Figure 9 : Principaux marqueurs des populations neurogéniques.

La description de l'expression de ces différents marqueurs dans les populations neurogéniques a permis l'émergence de différentes stratégies mettant à profit l'expression d'antigènes de surface pour isoler les cellules vivantes par tri cellulaire, basé sur la cytométrie en flux. Notre laboratoire a ainsi mis au point une stratégie de tri cellulaire basée sur l'expression de trois marqueurs, le CD15 (LEX), l'EGFR et le CD24. Cette stratégie permet d'isoler les CSNq LEX^{bright}EGFR⁻CD24⁻, les CSNa Lex⁺EGFR⁺CD24⁻, les PI LEX⁻EGFR⁺CD24⁻, et les NB LEX⁻EGFR⁻CD24⁻ (Daynac et al., 2013; Pastrana et al., 2009). Cette stratégie a révélé l'existence d'une fraction de cellules exprimant à la fois l'EGFR et le CD24, qui semblait donc intermédiaire entre les PI et les NB. Une première caractérisation de cette population a montré qu'il s'agissait de cellules plus prolifératives que les PI et que les NB, plus nombreuse que les CSNa et les PI réunis, et qui après déplétion des populations cyclantes par irradiation, réapparaissait après les PI mais avant les neuroblastes. De plus, au niveau ARN, cette population exprimait à la fois un marqueur de PI, l'Ascl1, et un marqueur de NB, les neuroblastes, montrant un état intermédiaire entre les PI indifférenciés et les NB différenciés. Pour ces raisons, cette nouvelle population a été baptisée *neuroblastes immatures* (NBi), par opposition aux cellules EGFR⁻CD24⁺, que nous appellerons neuroblastes matures (NBm) (Daynac et al., 2013).

I.4.b. Des populations hétérogènes à l'échelle transcriptomique

Si les différentes stratégies d'identification des populations basées sur des marqueurs cellulaires ont permis des avancées essentielles dans la compréhension des mécanismes régulateurs de la neurogenèse, la combinaison d'un nombre réduit de marqueurs cellulaires ne semble pas une approche suffisante pour la caractérisation précise des diverses sous-populations neurogéniques. En effet, le récent avènement des techniques de séquençage de l'ARN de cellule unique a permis à des études de plus en plus nombreuses d'examiner l'hétérogénéité des populations neurogéniques (Llorens-Bobadilla et al., 2015; Mizrak et al., 2019; Dulken et al., 2019; Cebrian-Silla et al., 2021; del Águila et al., 2022).

La description moléculaire de la neurogenèse offerte par ces approches revêt des différences fondamentales avec le modèle cellulaire de la neurogenèse que nous avons considéré jusqu'ici (Fig. 10). En effet, les analyses bioinformatiques de ces jeux de données très riches cherchent à rassembler les cellulaires transcriptomiquement proches au sein de clusters. L'expression de marqueurs préalablement caractérisés permet alors d'attribuer ces clusters aux différentes populations connues (Fig. 10, A). Les populations aisément identifiables par ce processus sont les astrocytes, qui contiennent parfois les CSNq, les CSNa, PI et NB, les populations de CPO et d'OL, et les différents types cellulaires de la ZSV ne faisant pas partie

du processus neurogénique (cellules épithéliales, épendymaires, microglie, neurones). En revanche, ces populations identifiées ne contiennent que les cellules qui ne sont pas activement prolifératives (Fig. 10, A-B) : en effet, toutes les cellules prolifératives, incluant les PI, les CSN et NB en cours de cycle cellulaire, sont d'abord rassemblées dans des clusters définis par le statut prolifératif. Pour cause, les changements transcriptomiques majeurs prenant place au cours du cycle masquent les différences d'expression des marqueurs usuels des étapes de la neurogenèse, et empêchent d'identifier l'appartenance des cellules cyclantes aux populations du modèle de neurogenèse classique (Fig. 10, C). En conséquence, peu d'études ont réussi à établir des distinctions parmi les cellules cyclantes de la ZSV (Llorens-Bobadilla et al., 2015; Dulken et al., 2019; Cebrian-Silla et al., 2021).

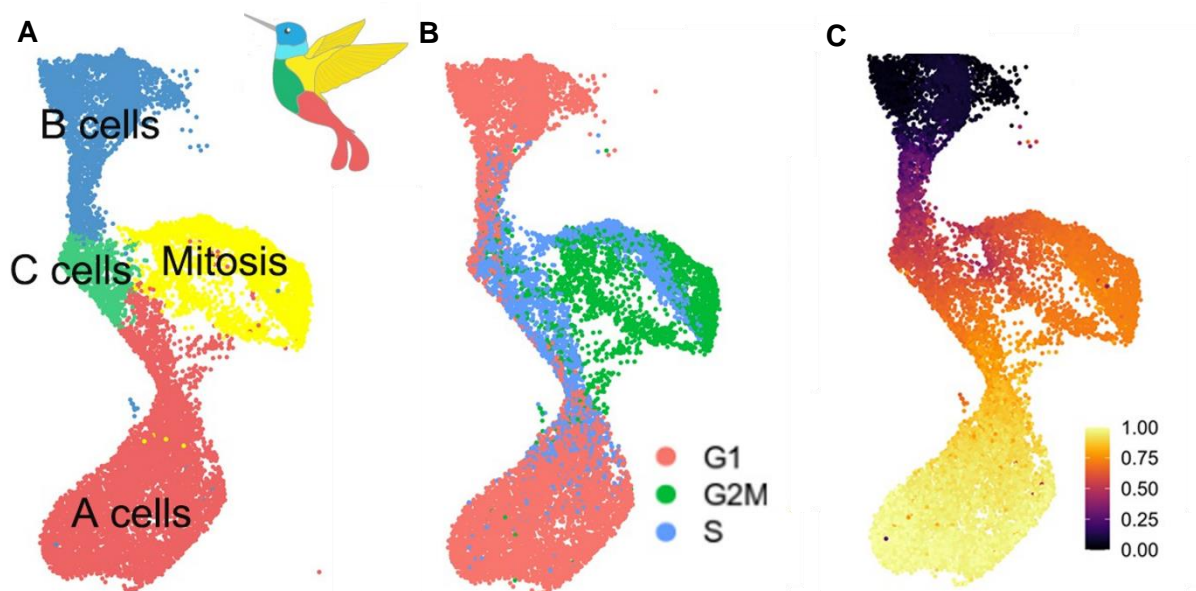


Figure 10.: Modèle moléculaire de la neurogenèse. Le modèle d'oiseau neurogénique observé par Cebrian-Silla et collaborateurs illustre le problème de la caractérisation moléculaire des cellules mitotiques. Alors que la prolifération des différentes populations (A) a été montrée à de nombreuses reprises à l'échelle cellulaire, les cellules mitotiques (B) sont rassemblées indistinctement à l'écart des populations connues. (C) Les algorithmes de pseudo-temporalité ne parviennent pas à distinguer les différentes populations à travers les cycles cellulaires. Les CSNa, PI, et NB cyclants ne sont donc pas identifiés. Tiré de Cebrian-Silla et al., 2021.

Une seconde différence majeure ressortant de ces études est la difficulté, voire l'impossibilité, d'utiliser des marqueurs protéiques uniques pour définir les différentes populations avec exactitude. Il en résulte que dans la majeure partie de ces études, plutôt que d'identifier un ou quelques marqueurs permettant de distinguer avec exactitude deux sous-populations parmi une population globale, des listes de gènes enrichis dans l'une ou l'autre des sous-populations sont établies. Ces signatures géniques peuvent alors être utilisées dans d'autres jeux de données pour discriminer entre les deux populations, en observant l'expression normalisée des gènes listés au sein des populations.

Par exemple, plusieurs études pu dresser des listes de gènes enrichis dans les astrocytes par rapport aux CSNq, ou distinguant les différentes populations astrocytaires identifiées, sans pouvoir relier ces populations à une sous-population observée *ex vivo* (Mizrak et al., 2019; Cebrian-Silla et al., 2021; del Águila et al., 2022). En combinant ces techniques avec des informations spatiales, quelques études ont également produit des signatures enrichies dans les CSN de domaines donnés de la ZSV, comme des signatures des cellules ventrales ou dorsales (Cebrian-Silla et al., 2021), ou des signatures du mur latéral ou septal (Mizrak et al., 2019).

L'analyse des transcriptomes de cellules uniques apporte donc un éclairage nouveau sur l'identité moléculaire des populations neurogéniques, avec une résolution inégalée. Néanmoins, de nombreuses études supplémentaires seront nécessaires pour réconcilier le modèle classique de la neurogenèse avec cette description moléculaire, et identifier avec précision les sous-populations de progéniteurs neuraux. Ces analyses apportent cependant des informations précieuses sur les mécanismes de régulation à l'œuvre au cours de la neurogenèse. Nous allons désormais nous attacher à décrire certains des plus importants de ces mécanismes.

I.4.c. Les principaux facteurs de transcription

Plusieurs facteurs de transcriptions essentiels au maintien en quiescence ont été identifiés. Par exemple, *Emx2* est exprimé par les CSNq mais non par les CSNa, et sa suractivation ou son inhibition *in vitro* empêche ou favorise respectivement la prolifération (Galli et al., 2002). La famille des *Inhibitor of DNA Binding* (ID), des antagonistes de facteurs de transcription, sont exprimées dans les CSN et down-régulés dans les PI, et sont nécessaires au maintien des liaisons intégrines des CSN au réseau vasculaire (Nam and Benezra, 2009; Niola et al., 2012).

Les facteurs de transcription de la famille Sox jouent des rôles centraux à plusieurs étapes de la neurogenèse (Kirsten Obernier and Alvarez-Buylla, 2019). Le mieux connu d'entre eux,

Sox2, est essentiel à la neurogenèse (Ferri et al., 2004). Son activité *enhancer* sur les séquences génomiques qu'il cible peut être modulée par sa dimérisation avec d'autres membre de la famille Sox et peut subir de nombreuses modifications post-traductionnelles modulant son activité (Sarkar and Hochedlinger, 2013). Son expression est élevée dans les CSN et les PI, et décroît à l'engagement dans le lignage neuronal (Ellis et al., 2004). Il possède un rôle fondamental dans la balance entre quiescence et prolifération, et est nécessaire au maintien de la pluripotence (Rehfeld et al., 2015). Son expression et son activité sont modulées par de nombreuses voies de signalisation, qui font de Sox2 un élément clé du contrôle des phases précoces de la neurogenèse (Sarkar and Hochedlinger, 2013; Rehfeld et al., 2015).

Par exemple, Sox2 est impliqué dans boucle de régulation complexe avec le répresseur transcriptionnel Tlx : Sox2 promeut l'expression de Tlx, qui est capable de réprimer sa propre expression (Shimozaki et al., 2012). La balance Sox2/Tlx semble nécessaire à la régulation de l'activité proliférative, suggérant que l'expression de Sox2 empêche la répression de Tlx par lui-même, répression nécessaire à l'engagement dans la différenciation neuronale (Shimozaki et al., 2012).

Un autre facteur essentiel du maintien de la prolifération est Ascl1, que nous avons mentionné comme marqueur des PI. Ascl1 est impliqué dans la prolifération et l'engagement des progéniteurs à la fois neuronaux et oligodendrocytaires (Parras et al., 2004).

Le facteur de transcription Pax6 est nécessaire *in vitro* à l'orientation neuronale des PN, et cette activité requiert la présence de la sous-unité Brg1 du complexe de remodelage de la chromatin *Brama-associated factor* (BAF) (Ninkovic et al., 2013).

I.4.d. Contrôles transcriptionnels : les modifications épigénétiques

La neurogenèse met en jeu des réseaux transcriptionnels complexes notamment d'importants remodelages de la chromatine par des modifications épigénétiques. Ces modifications d'histones, modulent l'accès des facteurs de transcription à des régions données du génome, sont transmises à la progénie (Jenuwein and Allis, 2001). Les modifications épigénétiques permettent ainsi réguler la transcription des gènes ou clusters de gènes, et ont un rôle clé dans la perte de plasticité associée à la différenciation (Wu and Sun, 2006). Dans la neurogenèse adulte, de nombreux processus de modifications épigénétiques sont ainsi impliqués dans l'engagement dans la différenciation.

Plusieurs *histones désacéthylases* (HDAC), des protéines associées à la répression transcriptionnelle, sont exprimées différemment selon les stades de la neurogenèse : D'après une étude, HDAC1 est exprimée dans les CSN puis son expression diminue, tandis

que HDAC2 est exprimée dans les NB (Foti et al., 2013). Cependant, il a été récemment rapporté qu'une fraction des cellules de chaque population expriment HDAC1 ou 2 ; l'identité précise des cellules exprimant HDAC 1 et 2 reste donc encore à élucider (Nieto-Estevez et al., 2022). HDAC3 est exprimé par l'ensemble des PN (Jiang and Hsieh, 2014)

L'inhibition pharmacologique des HDAC conduit à une nette diminution de la neurogenèse (Foti et al., 2013; Nieto-Estevez et al., 2022). HDAC1 et 2 sont nécessaires à la différenciation neuronale *in vitro* (Jawerka et al., 2010; Nieto-Estevez et al., 2022). HDAC3, comme son homologue HDAC5, sont des co-répresseurs de Tlx, qui inhibent ainsi l'expression de la *Cyclin-Dependant Kinase Inhibitor 1* (p21), levant l'inhibition de la *Cycline Dependant Kinase 1* (Cdk1), une protéine du checkpoint nécessaire à la mitose (Sun et al., 2007; Jiang and Hsieh, 2014). Malgré ces éléments, l'expression continue des HDAC dans les PN suggère des rôles différentiels selon les stades de la neurogenèse.

Une autre modification épigénétique majeure est la triméthylation des lysines 27 des histones 3 (H3K27me3), soumise à la régulation des *Polycomb Repressive Complex 1* et 2 (PRC1/2) (van der Vlag and Otte, 1999). PRC2 effectue cette méthylation grâce à sa composante *Enhancer of zeste homolog 2* (EZH2), et PRC1 réprime l'expression des régions porteuses de ces H3 méthylés, ce qui nécessite la protéine *B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1* (BMI-1) dans ce complexe (Viré et al., 2006; Park et al., 2004).

Cette activité H3K27me3 est nécessaire à l'auto-renouvellement des CSN, et une baisse d'expression de Bmi-1 engendre un déficit de prolifération, suggérant un rôle important dans le maintien en quiescence (Fasano et al., 2009; He et al., 2009). Ezh2 est exprimé dans les CSN et PI de la ZSV, et présente 2 rôles séparés : d'une part, sa répression favorise la prolifération des CSN, tandis qu'à l'inverse, son expression induit la différenciation neuronale et inhibe l'expression d'Olig2, un facteur de transcription central dans la différenciation oligodendrocytaire (Szulwach et al., 2010; Hwang et al., 2014).

La *DNA méthyltransférase 3a* (DNMT3A) est exprimée dans le cerveau spécifiquement dans les zones neurogéniques (Wu et al., 2010). Elle promeut la différenciation neuronale en méthylant l'ADN au niveau d'îlots CpG proches de promoteurs de gènes tels que Dlx2, pour empêcher leur répression par d'autres modifications épigénétiques (Wu et al., 2010). Dnmt3a semble donc participer à l'engagement dans la différenciation neuronale.

Les modifications épigénétiques constituent donc une couche de régulation de l'expression génique qui vient s'ajouter à l'activité des facteurs de transcription. Cet ensemble aboutit à une régulation fine de la transcription au cours des différentes étapes de la neurogenèse.

I.4.e. Contrôles post-transcriptionnels

L'ensemble des processus que nous venons d'aborder permettent une régulation fine de la transcription des gènes au cours de la neurogenèse. Néanmoins, la production des ARN donne lieu à une étape supplémentaire de régulation génique, qui intervient au niveau post-transcriptionnel (Chan et al., 2022; Fisher and Feng, 2022). Ces modifications sont orchestrées par les protéines de liaison à l'ARN (PLA), des protéines se liant aux ARN pour réguler leur destin. Chaque PLA présente des affinités différentes pour certains ARNs ; ainsi, l'activité d'une PLA conduit à des altérations spécifiques de l'expression de gènes cibles. Plusieurs mécanismes sont mis en œuvre par les PLA, dont la polyadénylation, le clivage, la stabilisation, la dégradation, la localisation, la traduction, ou encore l'épissage alternatif (splicing) (Fisher and Feng, 2022).

Les modifications de l'ARN présentent des fonctions majeures dans un large panel de processus cellulaires, et particulièrement important dans le lignage neuronal. En particulier, l'épissage alternatif, qui désigne la rétention différentielle d'exons dans un transcrit, joue un rôle critique (Lara-Pezzi et al., 2017). Cet épissage est régulé par les régulateurs de l'épissage RNA (REA), dont plusieurs semblent avoir des rôles majeurs dans la neurogenèse adulte, impliquant des régulations complexes (Chan et al., 2022).

Par exemple, *abnormal vision-like 4* (ELAVL4) est nécessaire à différenciation des progéniteurs neuraux (F. Wang et al., 2015). Il agit en se fixant sur la région non-traduite 3' (3'-UTR) de l'ARNm de *Special AT-rich DNA-binding protein 1* (*Satb1*), et provoque sa stabilisation (Bronicki and Jasmin, 2013). SATB1 est un régulateur transcriptionnel essentiel pour la différenciation neuronale, qui induit d'une part une expression de NeuroD1, lui aussi nécessaire à la différenciation neuronale, mais induit également l'expression d'Elavl4, produisant une boucle de régulation positive qui suggère un engagement dans la différenciation neuronale (F. Wang et al., 2015).

Un nombre croissant d'autres régulateurs des modifications post-transcriptionnelles et de l'épissage ont été identifiés pour leur implication dans la neurogenèse, et suggère que ce niveau de régulation soit essentiel pour la progression des progéniteurs neuraux dans le lignage neuronal (Chan et al., 2022).

I.4.f. Hypoxie

L'un des facteurs régulant les niches de cellules souches adultes est l'accès à l'oxygène, qui, dans la neurogenèse adulte, semble avoir un rôle à la fois dans la maintenance des niches neurogéniques et dans la prolifération (Li et al., 2021). Le cerveau des mammifères maintient une tension en oxygène plus basse que l'air ambiant (1 à 8%), et la ZSV semble conserver une tension en oxygène similaire (Dings et al., 1998; Panchision, 2009). Une partie importante de la réponse cellulaire est médiée par le principal senseur de l'hypoxie, Hypoxia-Inducible Factor 1 α (HIF1 α) (Majmundar et al., 2010). Dégradé en conditions normoxiques, HIF1 α est phosphorylé en situation d'hypoxie, provoquant sa translocation vers le noyau où il joue un rôle de facteur de transcription promouvant l'expression d'une centaine de gènes.

HIF1 α est nécessaire au maintien de la niche neurogénique de la ZSV : en effet, sa délétion conditionnelle dans les cellules exprimant la nestin inhibe leur sécrétion de VEGF, entraînant une altération du réseau vasculaire de la niche (H.-L. Lee et al., 2016). HIF1 α agit également comme un suppresseur de la différenciation neuronale en promouvant l'expression du facteur de transcription *Hairy Enhancer of Split 1 (Hes1)* (Večeřa et al., 2020).

La régulation de la tension en oxygène dans la niche neurogénique apparaît donc comme un facteur essentiel au maintien de la prolifération des progéniteurs neuraux en conditions physiologiques, et sa modification influe sur la neurogenèse. A cette régulation moléculaire du microenvironnement s'ajoutent de nombreuses régulations basées sur la communication des cellules de la ZSV, que nous allons maintenant passer en revue.

Chapitre II

Régulations de la neurogenèse subventriculaire

La ZSV reçoit de nombreux signaux extracellulaires de différentes origines, qui peuvent engendrer des réponses à chaque étape de la neurogenèse, avec des conséquences variées. Certains peuvent affecter la balance quiescence/prolifération, comme la signalisation Notch, dont l'altération provoque un pic de prolifération suivi d'un épuisement des réserves de CSN, menant ultimement à une perte de la neurogenèse (Imayoshi et al., 2010). D'autres peuvent promouvoir la différenciation neuronale, comme le miR-124-3p, ou à l'inverse favoriser un destin glial comme le FGF2 (Cheng et al., 2009; Lim et al., 2000).

La ZSV constitue donc un microenvironnement qui est le réceptacle de nombreuses signalisations provenant de sources diverses (Fig. 11). Il existe d'abord une communication entre les cellules qui la composent, qui peuvent agir par contact, ou bien en sécrétant des molécules de signalisation ou de matrice extracellulaire, et exercent donc une modulation paracrine de l'activité des cellules voisines. Mais il existe également trois autres types de signaux, issus du système nerveux central : les signaux ventriculaires transmis par le biais du LCR et des cellules épendymaires, les signaux nerveux issus d'afférence provenant de plusieurs zones de l'encéphale, et enfin des facteurs sanguins sécrétés à l'échelle de l'organisme et diffusibles à travers les cellules endothéliales : on parlera alors d'une signalisation endocrine. Les voies de signalisation peuvent mêler plusieurs acteurs d'origines différentes, par exemple avec l'inhibition du BMP7 sécrété par le plexus choroïde par le Noggin produit par les cellules épendymaires.

Dans ce chapitre, nous considérerons comme endocrines les voies de signalisation impliquant au moins un acteur endocrine. Nous passerons ainsi en revue les différentes signalisations affectant les PN par ordre de proximité, en partant des signalisations paracrines, les plus intimes, puis en élargissant notre champ jusqu'aux acteurs les plus lointains.

II.1. Les signalisations locales : régulations paracrines

II.1.a. Signalisation calcique entre les CSN

Les CSN sont liées par des jonctions dites « gap junctions », qui permettent d'échanger des signaux paracrines par liaison directe de ligands à des récepteurs liés à la membrane, et de transmettre des courants ioniques (Quiñones-Hinojosa et al., 2006). La visualisation directe de la concentration calcique a permis de montrer non seulement des oscillations calciques spontanées dans les CSN et les NB mais également la propagation intercellulaire de vagues calciques par les gap junctions (Domenichini et al., 2018; Maslyukov et al., 2018; Lacar et al., 2011). Ces variations calciques intracellulaires peuvent réguler l'activation de voies de signalisations et de facteurs de transcription (Hogan et al., 2003). Ils sont à la fois nécessaires pour le maintien en quiescence, i.e. par la signalisation GABAergique (cf II.1.b, Daynac et al., 2013), et pour l'activation des CSN (Kong et al., 2008). Cette transmission directe cellule-à-cellule au sein des populations de CSN pourrait constituer une manière de transmettre les signaux extérieurs perçus par une sous-population de CSN à l'ensemble de la population, et d'ainsi potentialiser la réponse à une signalisation donnée.

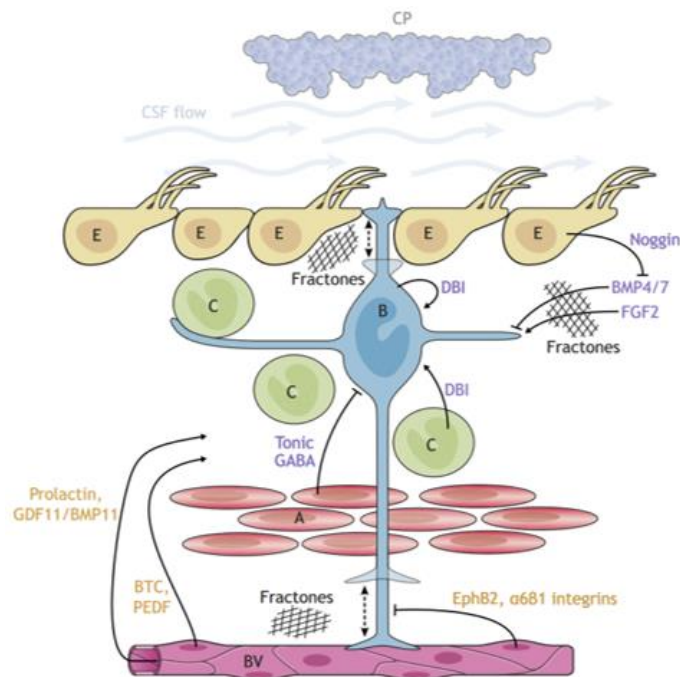


Figure 11: Signalisations paracrines et sanguines de la ZSV. De nombreux signaux régulant la neurogenèse sont sécrétés par les différents types cellulaires présents la niche neurogénique. Il s'agit alors de régulations paracrines (violet). D'autres régulations diverses proviennent de l'extérieur de la ZSV, comme les signaux sanguins sécrétés par les cellules épithéliales ou les péricytes. A : NB ; B : CSN ; C : PI ; E : cellules épendymaires ; BV : capillaires sanguins. CP : plexus choroïde. Tiré de Obernier and Alvarez-Buylla, 2019.

II.1.b. La signalisation GABAergique

Au sein de la niche neurogénique, les NB en migration libèrent du GABA durant leurs phases saltatoires. Ce neurotransmetteur active alors des récepteurs GABAergiques GABA_A exprimés par les CSN, et les PI provoquant une dépolarisation membranaire (Young et al., 2010), qui induit l'ouverture des canaux sodiques voltage-activés Cav1.2 et Cav3.1 présents dans les CSN et leur progénie (Khatri et al., 2014) et une augmentation du calcium intracellulaire. Si cette signalisation GABAergique conduit à un arrêt du cycle cellulaire dans les cellules réceptrices, celui-ci a des conséquences différentes selon le type cellulaire affecté: ainsi, si elle participe au maintien en quiescence des cellules souches (Daynac et al., 2013), elle favorise la sortie du cycle cellulaire et l'entrée en différenciation des PI (Tozuka et al., 2005).

Cette signalisation GABA peut cependant être modulée par le *Diazepam Binding Inhibitor* (DBI), sécrété par des CSN et une fraction des PI (Alfonso et al., 2012). Le produit protéolytique octadecaneuropeptide (ODN) issu de sa protéolyse favorise la prolifération des CSN et PI, en inhibant les courants induits par l'activation des récepteurs GABA_A, vraisemblablement par inhibition compétitive (Alfonso et al., 2012).

II.1.c. La signalisation Notch

La voie de signalisation Notch, très conservée évolutivement, implique chez les mammifères 4 récepteurs transmembranaires, Notch1, 2, 3 et 4 (Javed et al., 2021). Ils sont activés par liaison de leurs ligands *Delta-like 1/2/3* et *Jagged1/2*, des protéines transmembranaires présentes à la surface des cellules qui les expriment. La voie Notch est donc une signalisation paracrine reposant sur des contacts cellule-cellule. L'activation des récepteurs Notch par leurs ligands provoque un clivage protéolytique libérant le *Notch IntraCellular Domain* (NICD) qui est alors transduit vers le noyau, où il se lie à facteurs et co-facteurs de transcription tels que RBPj/CBF-1 et Maml1-3, respectivement, mais qui peuvent varier selon le récepteur Notch activé (Imayoshi et al., 2013). Cette liaison change l'activité des de ces facteurs, qui passent de co-répresseurs à co-activateurs des gènes cibles de la voie Notch. Ceux-ci comprennent un large panel d'autres régulateurs de la transcription, tels que les gènes répresseurs transcriptionnels Hes, c-Myc, la cycline D1, la cycline-dépendent kinase inhibiteur 1 (CDK1), le *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF-κB), ou encore SOX2 (Javed et al., 2021).

La voie de signalisation Notch joue un rôle prépondérant dans le développement embryonnaire et conserve un rôle majeur dans la neurogenèse adulte (Imayoshi et al., 2013). Dans cette dernière, la signalisation Notch semble avoir plusieurs rôles, dépendant notamment du récepteur Notch exprimé (Kawai et al., 2017).

La signalisation Notch est essentielle au maintien en quiescence, et la délétion de son effecteur Rbpj déplete la niche après une entrée en prolifération et en différenciation neuronale massive (Imayoshi et al., 2010). Le récepteur Notch2 est exprimé par les CSNq, et leur activation réprime la différenciation neuronale et est essentielle au maintien de leur caractère souche (Gaiano and Fishell, 2002). Le récepteur Notch3 est restreint aux CSNq des parties ventrales et latérales du ventricule, et contribue également à leur maintien en quiescence (Kawai et al., 2017). A l'inverse, Notch1 est exprimé par les CSNa, dans lesquels il est essentiel à la prolifération (Basak et al., 2012). Cependant, la signalisation EGFR active dans les cellules prolifératives induit l'expression de *Numb* et *Numbl*, qui répriment l'expression de Notch1 (Aguirre et al., 2010).

L'activité Notch induit l'expression de Hes1 et Hes5, nécessaires à la neurogenèse, et qui répriment l'expression de différents gènes de différenciation neuronale (Kageyama et al., 2005). Notamment, Hes1 réprime l'expression du promoteur de la différenciation neuronale *Ascl1*, tandis qu'à l'inverse, *Ascl1* et la *Neurogenin2* (*Ngn2*), exprimés dans les PI, induisent l'expression des ligands de Notch *Dll1* et *Jagged1*, suggérant une boucle de régulation négative des cellules prolifératives sur les cellules quiescentes (Chen et al., 1997; Castro et al., 2006).

Bien que les dynamiques complexes de la signalisation Notch dans la ZSV ne soient pas encore complètement élucidées, celle-ci apparaît comme essentielle à la régulation de la balance entre quiescence et prolifération des CSN, et apparaît comme un mécanisme paracrine de régulation des précurseurs indifférenciés par les cellules neurogéniques plus avancées dans la différenciation.

II.2. Les signaux endocrines

II.2.a. Signaux sanguins

La niche subventriculaire est intrinsèquement liée au réseau vasculaire, et de nombreux signaux venus du sang régulent l'activité neurogénique à différentes étapes (Fig. 11). Les capillaires sanguins possèdent un pouvoir attracteur sur les CSN : non seulement elles étendent jusqu'à eux un processus basal en conditions physiologiques, mais après transplantation, elles s'orientent également vers les capillaires de la niche (Mirzadeh et al., 2008; Kokovay et al., 2010). Elles contactent ainsi les cellules endothéliales tapissant les capillaires de la niche neurogénique. Ces cellules endothéliales fournissent au cerveau une protection unique dans l'organisme : ses parois vasculaires, surnommées barrière hémato-encéphalique, sont bien moins perméables que dans les autres organes (Zhao and Zlokovic, 2017). Malgré cela, les cellules endothéliales sont perméables à certaines molécules de signalisation ainsi que des éléments nutritifs.

Les cellules endothéliales tapissant les capillaires sanguins de la ZSV expriment la chimiokine *stromal-derived factor 1* (SDF1/CXCL12) (Zhu et al., 2019). Cette expression de SDF1 est à la fois nécessaire au contact des CSN avec les capillaires, mais aussi à leur orientation après transplantation (Kokovay et al., 2010; Zhu et al., 2019). Les cellules prolifératives se lient aux cellules SDF1-positives par le biais de leur récepteur CXCR4, et la déplétion de CXCR4 dans les cellules CSNa Nestine+ résulte en une augmentation de leur prolifération à court-terme, suggérant que la signalisation SDF1 puisse être un facteur limitant de la prolifération (Zhu et al., 2019).

L'EGF est un facteur de croissance qui promeut la prolifération des PN ; il est même nécessaire à leur culture *in vitro* (Reynolds and Weiss, 1992). *In vivo*, l'injection intraventriculaire d'EGF stimule la prolifération des CSNa et PI, au détriment de la différenciation neuronale (Doetsch et al., 2002; Gampe et al., 2011). La voie de signalisation canonique de l'EGFR débute avec la liaison de ligands à un dimère comprenant 2 des 4 récepteurs de cette famille de tyrosine kinases (Erb1-4, Erb1 est appelé EGFR) (Normanno et al., 2006). La cascade de signalisation résultant de cette activation est extrêmement complexe. Dans les PN de la ZSV, elle induit la signalisation MAP Kinase, par phosphorylation de CREB et ERK, ainsi que la voie Akt/PI3K (Normanno et al., 2006; Gampe et al., 2011). La betacellulin (BTC) est un ligand commun à l'EGFR et l'Erb4, et est sécrétée par les cellules endothéliales ainsi que par le plexus choroïde (Gómez-Gaviro et al., 2012). Les CSNa et les PI expriment l'EGFR, tandis que les NB expriment l'Erb4 ; ainsi, l'injection de BTC n'induit pas seulement la prolifération des CSNa et PI, elle favorise également celle des NB (Gómez-Gaviro et al., 2012).

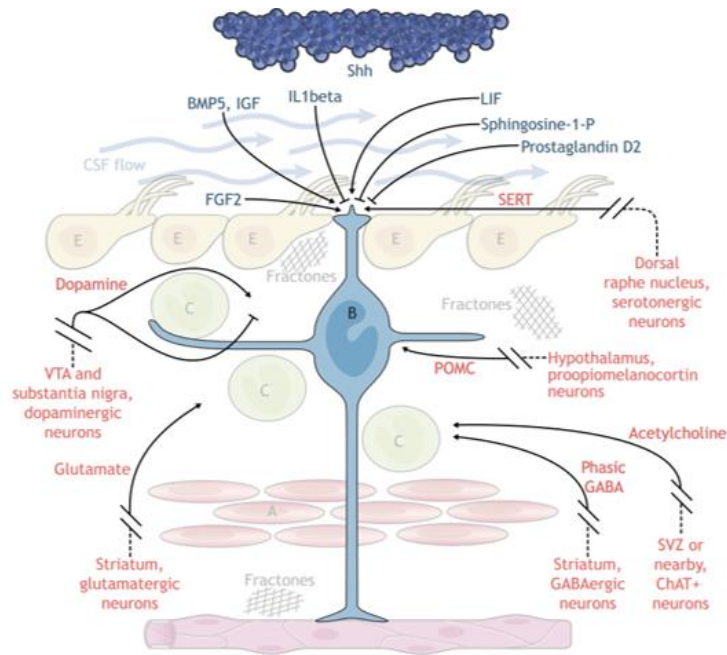


Figure 12: Signalisations ventriculaires et synaptiques. En plus des signaux paracrines et sanguins, la niche neurogénique reçoit de nombreuses communications issues du LCR, ainsi que des influx nerveux provenant de connexions neuronales afférentes provenant de régions diverses du cerveau. A : NB ; B : CSN ; C : PI ; E : cellules épendymaires ; BV : capillaires sanguins. CP : plexus choroïde. Tiré de Obernier and Alvarez-Buylla, 2019.

II.2.b. Les fractones

Le LCR contenu dans les ventricules latéraux contient de nombreux ions et protéines de signalisation, dont des facteurs de croissance, des cytokines, des chimiokines et des neurohormones. Ces molécules peuvent être sécrétées par le plexus choroïde (Zappaterra and Lehtinen, 2012), les organes circumventriculaires (Frautschy et al., 1991), ou les cellules de la ZSV (Bain et al., 2013) (Fig. 12).

Les cellules épendymaires sont perméables à de nombreuses molécules de signalisation (Brightman, 2002). En effet, si elles sont reliées entre elles par des fascias adhérents imperméables aux effecteurs biologiques, elles présentent également des fascias adhérents ouverts sur leur face luminale, par lesquels le CSF et les molécules qu'ils portent accèdent aux clivages interstitiels, structures labyrinthiques situées entre les cellules épendymaires (Brightman, 2002). Ces clivages interstitiels débouchent, au niveau basal des cellules épendymaires, sur une matrice extracellulaire spécialisée nommée fractone, d'après sa forme fractale observée en microscopie électronique (Mercier et al., 2002). La composition de ces fractones diffère fondamentalement de la membrane basale des cellules épendymaires, comprenant du collagène IV, de la laminine, des nidogènes ainsi que des *heparan sulfates*

proteoglycans (HSPG) (Kerever et al., 2007). Ces derniers sont capables de lier différentes molécules signalisatrices du CSF, et chaque fractone est au contact du prolongement de multiples cellules de la ZSV (Douet et al., 2013, 2012; Obernier et al., 2018). Ce faisceau d'éléments suggère un rôle prépondérant des fractones dans la régulation de l'activité proliférative de la ZSV, en contrôlant la libération de ces signaux.

Un exemple de signal capturé par ces fractones est le FGF2, qui favorise la prolifération des cellules de la ZSV et est nécessaire pour la neurogenèse (Zheng et al., 2004; Douet et al., 2012). Si l'origine exacte du FGF2 impliqué dans la neurogenèse n'est pas démontrée, il est présent dans le LCR et pourrait également être sécrété par des astrocytes de la niche (Morita et al., 2005).

II.2.c. La signalisation BMP

Les *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP) sont des metalloproteases qui font partie de la superfamille des protéines *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β). A la fois facteurs de croissance, des cytokines et des metabologènes, elles ont plusieurs rôles prépondérant dans le développement, orchestrant l'architecture des nombreux tissus exprimant leurs récepteurs, principalement des sérines-thréonines kinases (Reddi and Reddi, 2009). Les BMP sont au cœur de plusieurs voies de régulation dans les PN de la ZSV adulte comme dans leurs précurseurs embryonnaires (Peretto et al., 2002; Mathieu et al., 2008; Lim and Alvarez-Buylla, 2016).

La BMP4 est exprimée et sécrétée par les CSN et dans le LCR, et son récepteur est exprimé par les PN (Lim et al., 2000). Elle inhibe la prolifération des progéniteurs neuraux en favorisant leur différenciation astrocytaire, par la phosphorylation des facteurs de transcription Smad1/4/5/8 et de l'*Inhibitor of DNA-binding 3* (ID3) (Lim et al., 2000; Mercier and Douet, 2014; Gajera et al., 2010). Si cette sécrétion suggère une auto-régulation paracrine des PN, la BMP4 est en fait capturée par les HSPG des fractones (Mercier and Douet, 2014). Les BMP5 et BMP7 sont quant à elles sécrétées par le plexus choroïde dans le LCR (Douet et al., 2012; Silva-Vargas et al., 2016). Comme la BMP4, capturée par les HSPG dans les fractones (Douet et al., 2012). La BMP7 a également un effet inhibiteur sur la prolifération des PN (Lim et al., 2000). Malgré ces effets inhibiteurs dans des conditions de surexpression, l'activité BMP demeure essentielle à la neurogenèse : ainsi, Smad-4, un facteur de transcription médiant la signalisation BMP4, est nécessaire à la production continue de neuroblastes (Colak et al., 2008). En effet, la délétion de Smad-4 dans les cellules oriente les progéniteurs neuraux vers une différenciation oligodendrocytaire aux dépens de la différenciation neuronale (Colak et al.,

2008), soulignant un certain niveau d'activité BMP nécessaire à la neurogenèse physiologique, mais soumis à une fine régulation.

Deux acteurs principaux ont été identifiés dans cette régulation : d'une part, *la low-density lipoprotein receptor-related protein 2* (LRP2), exprimée dans l'épendyme seulement par les cellules épendymaires du mur latéral de la ZSV, qui régule la concentration extracellulaire de diverses métabolites, dont les BMP (Gajera et al., 2010; Zywitzka et al., 2018). L'autre acteur crucial est Noggin, un inhibiteur des BMP connu à l'inverse pour inhiber la différenciation gliale des PN (Chmielnicki et al., 2004; Douet et al., 2012; Mercier and Douet, 2014). Noggin est exprimé par diverses cellules de la ZSV, dont principalement les cellules épendymaires, et est présent dans les fractones où il inhiberait les BMP liées aux HSPG (Chmielnicki et al., 2004; Douet et al., 2013). Comme la délétion de Smad-4, l'infusion de Noggin dans le ventricule provoque une différenciation oligodendrocytaire délétère à la neurogenèse (Colak et al., 2008).

La signalisation BMP représente donc une voie finement régulée indispensable au maintien de la balance entre prolifération, différenciation neuronale, et différenciation oligodendrocytaire.

II.2.d. La signalisation Sonic Hedgehog

La protéine de signalisation *Sonic Hedgehog* (SHH) possède un rôle crucial dans le développement neural embryonnaire, à la fois comme morphogène et comme facteur mitotique (Ruiz i Altaba et al., 2003). Pour agir, SHH se lie au récepteur transmembranaire PATCH1 (PTC1), levant l'inhibition constitutive du G-protein coupled receptor *Smoothened* (Smo) (Carballo et al., 2018). Smo est alors transloqué vers la membrane plasmique du cil primaire, où il active les facteurs de transcription GLI2 et GLI3, provoquant leur transduction au noyau et l'activation d'un programme transcriptionnel large (Carballo et al., 2018). Celui-ci comprend notamment GLI1, également activé par Smo, et l'expression combinatoire des protéines GLI peut moduler la réponse à une signalisation Shh continue (Bai et al., 2002; Carballo et al., 2018). Ainsi, la réceptivité au Shh est cellule-dépendante, conditionnée à l'expression de Smo et de GLI2/3, puis modulée par l'expression de GLI1. Dans la ZSV, la signalisation Shh semble expliquer une partie de l'hétérogénéité spatiale des PN, en influant sur la spécification du type de neurones produits.

A l'âge adulte, Shh est sécrété dans le LCR, vraisemblablement par des neurones situés sous la zone ventral de la ZSV contactant le ventricule (Zappaterra and Lehtinen, 2012; Ihrie et al., 2011). La délétion de Smo dans le CSN diminue la formation de neurosphères par les cellules de la ZSV *in vitro*, suggérant un rôle de la signalisation Shh dans le maintien de la quiescence

ou de la prolifération (Machold et al., 2003). Bien que Smo, Gli 2 et Gli3 soient exprimés dans des CSN tout au long du mur septal de la ZSV, Gli1, exprimé en réponse à une signalisation Shh active, est principalement exprimé dans une population de CSN de la zone ventrale de la ZSV (Ihrie et al., 2011). Celle-ci semble étonnamment résistante aux traitements anti-mitotiques, suggérant une population relativement quiescente (Ahn and Joyner, 2005).

En effet, la suractivation de la voie Shh dans les CSN par délétion conditionnelle de PTC1 provoque une accumulation durable des CSNq et une augmentation transitoire de la prolifération des CSN liée à un raccourcissement du cycle cellulaire (Feret et al., 2014; Daynac et al., 2016). Cette réactivité à la signalisation Shh conditionne le destin des futurs neurones : en effet, la délétion de Shh réduit la production de neurones périglomérulaires, et l'expression induite d'une forme constitutivement activée de Smo dans les CSN dorsales produit des GCP. Pourtant, la délétion de Gli2 et Gli3 résulte en une diminution de la production de GCS (Petrova et al., 2013).

II.2.e. Le flux du LCR

Le processus apical des CSN, entouré de cellules épendymaires, constitue l'unique interface directe des progéniteurs neuraux et du ventricule latéral. Il réagit au flux du LCR, régulé par le mouvement des multiples cils portés par les cils épendymaires. Le LCR exerce sur le cil primaire des CSN une pression laminaire, qui augmente la probabilité d'ouverture des canaux sodiques épithéliaux (ENaC) (Karpushev et al., 2010), provoquant une augmentation du calcium intracellulaire par activation du Ca-release-activated calcium Channel (CRAC) qui favorise la prolifération de ces cellules (Petrik et al., 2018).

Enfin, la génération du flux du LCR par les cellules épendymaires semble orienter la migration des NB dans le FMR de la ZSV, possiblement par la formation de gradients d'agents répulsifs tels que Slit1, sécrété par le plexus choroïde et qui repousse les cellules exprimant ses ligands, dont Robo2 (Sawamoto et al., 2006; Kaneko et al., 2010). Ce mécanisme de répulsion semble complexe : en effet, Slit1 est aussi exprimé par les NB du FMR, tandis que Robo2 est exprimé à la fois par les NB et par les astrocytes du FMR. Cette voie de signalisation est également nécessaire au remodelage des processus astrocytaires par les NB en migration (Kaneko et al., 2010). Le rôle exact du flux du LCR et du gradient de Slit1 qu'il permet de maintenir est donc essentiel pour la migration des neuroblastes, mais le mécanisme de cette régulation reste à élucider.

En somme, ces mécanismes montrent la possibilité d'une modulation de l'activité neurogénique à différents stades par l'activité des cellules épendymaires voisines.

II.2.f. Signalisations nerveuses

La ZSV reçoit de nombreuses afférences nerveuses de neurones situés à des distances variées, depuis la zone subépendymale elle-même jusqu'au bulbe rachidien. Les axones qu'ils étendent le long des cellules épendymaires sont en contact direct avec le ventricule et le LCR.

Des neurones GABAergiques striataux innervent la ZSV, et contrairement à la signalisation tonique GABA issue des NB, semblent stimuler la prolifération des PN de la niche par activation phasique des récepteurs GABA_A (Young et al., 2010, 2012, 2014). Cette activation résulte également d'augmentations de l'activité sodique (Young et al., 2014).

Les neurones afférents les plus lointains sont ceux de la *substantia nigra* et de l'aire tegmentale ventrale (Baker et al., 2004; Höglinger et al., 2004). La dopamine sécrétée par ces neurones est nécessaire à la prolifération des PN de la ZSV, mais curieusement la déplétion des neurones de la *substantia nigra* n'affecte pas cette prolifération, tandis que celle des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale reproduit le déficit de prolifération observé précédemment, suggérant que les neurones de cette aire sécrètent une quantité de dopamine plus élevée que ceux de la *substantia nigra*, et suffisante pour compenser les effets de son ablation (Lenington et al., 2011).

Le striatum contient également des neurones glutamatergiques, dont certains innervent la ZSV (Song et al., 2017). La stimulation de ces neurones induit l'activation des récepteurs au glutamate AMPA dans les PN de la ZSV, favorisant la prolifération et les capacités migratoires des PN (Song et al., 2017).

Des neurones cholinergiques situés proches de la ZSV innervent la niche (Paez-Gonzalez et al., 2014). L'activation de ces neurones induit leur sécrétion d'acétylcholine dans la ZSV, qui stimule la prolifération des PN, et cette signalisation semble potentialiser la signalisation FGF2 (Paez-Gonzalez et al., 2014).

Un groupe de neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé étend des axones tout au long de la surface épendymaire (Tong et al., 2014). Ils contactent les cellules épendymaires et les CSN, et leur activité favorise la prolifération des PN (Tong et al., 2014).

L'un des contrôles nerveux les plus édifiants des cellules de la ZSV est neuro-hormonal, et provient des afférences de neurones proopiomélanocortinergiques hypothalamiques situées exclusivement sur la partie antérieure ventrale de la ZSV (Paul et al., 2017). La stimulation de ces neurones par la faim diminue l'activité des CSN Nkx2.1+, et réduit spécifiquement la production de cellules granulaires profondes dans le BO (Paul et al., 2017).

Chapitre III : microARNs et neurogenèse

III.1. Biogenèse des miRNA

Les micro-ARNs (miRs) sont des ARNs non-codants constitués de 22 à 26 nucléotides et exerçant une activité inhibitrice de la traduction d'ARNs cibles (Fig.13 , Gebert and MacRae, 2019). Principalement transcrits par la RNA-polymerase II (Lee et al., 2004), ils peuvent être issus d'introns géniques ou de longs ARNs non-codants (lncRNA). D'abord présents sous forme d'un précurseur de miRNA (pri-miR) possédant une structure en épingle à cheveux (Berezikov, 2011), leurs extrémités sont clivées dans le noyau par un complexe de la RNase III Drosha et de la DiGeorge syndrome critical region 8 (DGCR8), résultant en un pré-miRNA d'environ 70 nucléotides, qui sera exporté vers le cytoplasme par l'exportin-5 (Gebert and MacRae, 2019). Le pré-miRNA est alors reconnu par la RNase II Dicer qui clive la tête de l'épingle à cheveux, résultant en un complexe de deux brins, un brin 5' et un brin 3' (Zhang et al., 2004). Ces brins sont tous deux fonctionnels mais portent chacun sur leurs nucléotides 2 à 8 (depuis l'extrémité 5') une séquence dite « seed sequence » différente ; on parle par convention d'une forme -5p et d'une forme -3p pour un même miR.

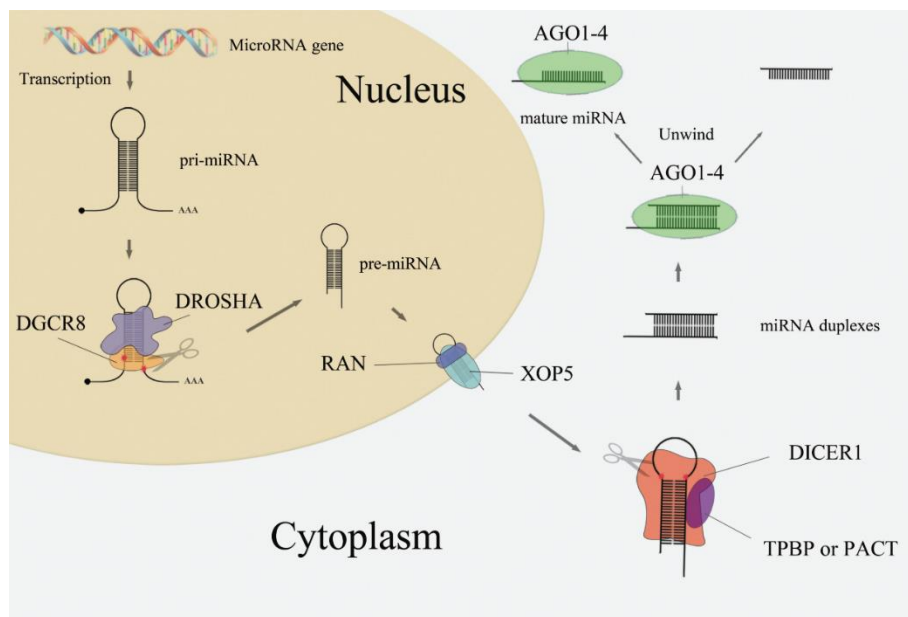


Figure 13: Biogenèse des miRNAs. Les miRs sont codés dans le génome sous forme de pri-miRNA, qui sont clivés par le complexe DGCR8/Drosha dans le noyau. Le pré-miRNA résultant est exporté par un complexe RAN/Exportin 5. Le complexe Dicer clive alors le pré-miRNA pour produire un duplexe formé des deux formes (-3p et -5p) du miR, dont l'une sera prise en charge au sein d'un complexe Argonaute pour inhiber l'expression des gènes cibles déterminés par sa *seed sequence*. Tiré de He et al., 2016.

Pour chaque pré-miR clivé, chacune des deux formes peut être prise en charge par une protéine Argonaute (AGO) à laquelle elle servira de guide, tandis que l'autre brin sera déchargé et dégradé (Rand et al., 2005). La forme présentant l'extrémité 5' la moins stable (Suzuki et al., 2015), ou bien une adénine ou une uracyle en 5' (Frank et al., 2010), sera chargée préférentiellement. Le complexe Ago-miR ainsi chargé va alors reconnaître des ARNms cibles, dont la région 3' non-traduite porte une séquence complémentaire à la seed sequence du miR porté, et provoquer la dégradation (Guo et al., 2010) ou la séquestration (Jonas and Izaurralde, 2015) de ces ARNms cibles : on a donc une répression traductionnelle. Par ce système présent à travers le monde vivant, l'expression d'un miR conduit donc à l'inhibition des gènes cibles de l'une de ses formes, -3p ou -5p.

L'expression des miRs est tissu-spécifique (Landgraf et al., 2007), et la régulation de cette expression est principalement transcriptionnelle (Ha and Kim, 2014). Ainsi, la détection de l'expression au sein d'une population est généralement utilisée comme indicateur primaire d'un rôle potentiel dans cette population. De plus, grâce à la diversité de leurs cibles potentielles, les miRs représentent des effecteurs importants de nombreux mécanismes de régulation post-transcriptionnelle, et peuvent jouer un rôle de « master regulator » dans différents processus. Dans la neurogenèse, différents miRs sont impliqués dans des fonctions variées (Stappert et al., 2018; Esteves et al., 2020), dont nous allons ici détailler les principaux. Ces dernières années, de nombreuses interactions entre des miRs et des gènes de la famille Sox ont notamment été mis en évidence, fournissant des mécanismes essentiels à la régulation de la neurogenèse (Fig. 14, Stevanovic et al., 2022).

III.2. Les miRs et les gènes Sox

Récemment, le miR-135a-5p a été identifié comme inhibant l'expression de Sox6 et ainsi de son effecteur CD44, nécessaire à la différenciation neuronale et à la génération de dendrites (Li et al., 2019).

Peng et collaborateurs ont mis en évidence une boucle de régulation négative entre la famille des miR-200c et les facteurs de transcription Sox2/E2F3, essentiels pour le maintien des CSN en quiescence : durant les phases de cycle cellulaire, Sox2 et E2F3 activent la transcription des miR-200c, qui va ensuite inhiber directement l'expression de ces deux gènes cibles, limitant sa propre expression et produisant une expression oscillatoire inverse de ces acteurs dans les phases de cycle cellulaire des populations souches (Peng et al., 2012). Cependant, durant la différenciation neuronale, une expression continue des miR-200cs maintient la répression de l'expression de Sox2/E2F3, nécessaire à la différenciation neuronale (Peng et al., 2012; Stevanovic et al., 2022).

Le miR-145 est également un inhibiteur direct de l'expression de Sox2 ainsi que de la protéine de liaison à l'ARN LIN28 (Morgado et al., 2016). LIN28 interagit avec la protéine MSI1, et cette interaction empêche la maturation des miRs de la famille Let-7 (Ratti et al., 2006; Kawahara et al., 2011; Glazer et al., 2012; Romer-Seibert et al., 2019). Cette famille de miRNAs composée de 9 miRs matures partageant une seed sequence codés par douze loci génomiques différents dont certains sont rassemblés en clusters (H. Lee et al., 2016). Les miRs let-7 semblent constituer un acteur central de la différenciation neuronale, soumis à de nombreuses régulations, tels qu'une augmentation de leur activité par la liaison de la tripartite motif-containing protein 32 (TRIM32) et de la RNA helicase DDX6 à la protéine Ago1 (Schwamborn et al., 2009; Nicklas et al., 2015).

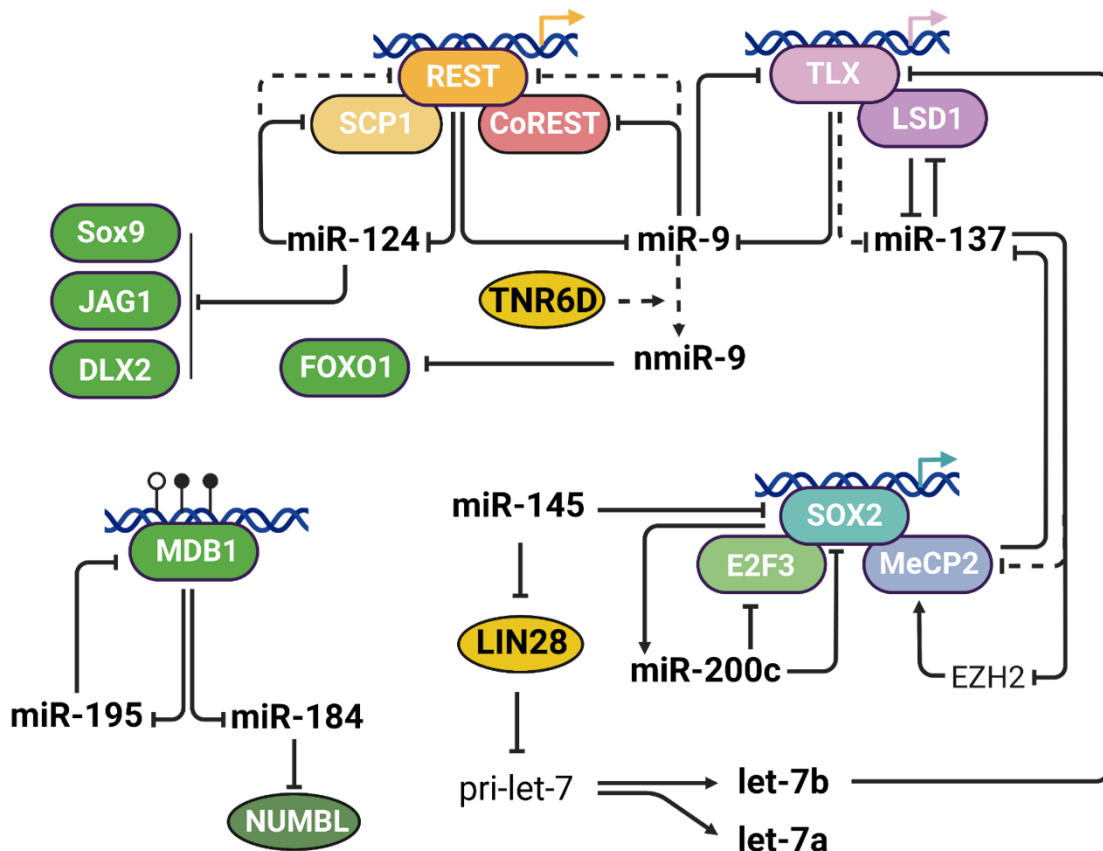


Figure 14 : Principaux miRs régulant la neurogenèse adulte. De nombreux miRs impliqués dans la neurogenèse inhibent ou sont régulés par des facteurs de transcription, créant des boucles de régulation complexes.

L'expression des miRs let-7 dans la ZSV augmente avec l'âge, de manière inversement corrélée avec celle de la protéine high mobility group a2 (HMGA2), qui promeut l'auto-renouvellement des CSN en réprimant l'expression des inhibiteurs de cycle p16 (Cdkn2a) et p19 (Cdkn2d) (Nishino et al., 2008). L'augmentation de l'expression de let-7a inhibe l'expression de Hmga2 et inhibe *in vitro* les capacités prolifératives des CSN. Cette interaction semble donc impliquée dans la diminution de la neurogenèse avec l'âge, vraisemblablement par un maintien en quiescence des CSN (Nishino et al., 2008). Parallèlement, l'expression de let-7b inhibe le cycle cellulaire et la prolifération en ciblant directement les gènes Tlx et la cyclin D1 (Zhao et al., 2010).

III.3. miRNAs régulant la balance quiescence/prolifération

Le miR-9, porté par trois loci hautement conservés au sein du génome des mammifères, est exprimé spécifiquement dans les aires neurogéniques du cerveau adulte (Nowek et al., 2018). Sa forme -3p inhibe directement l'expression de Tlx, et à l'inverse l'expression de Tlx inhibe l'expression du pri-miR-9 (Zhao et al., 2009; Shibata et al., 2011). Cette interaction du miR-9-3p et de Tlx est également trouvée dans la différenciation neuronale embryonnaire, où le miR-9-3p interagit avec les RSA Msi1 et Elavl1, qui maintiennent la prolifération des CSN (Shibata et al., 2008, 2011). Nous avons vu précédemment l'implication de la voie Notch (cf II.2.f) et l'interaction de FoxO1 avec cette voie dans le maintien de la quiescence des CSN (Kim et al., 2015). Dans l'étude de Kim et collaborateurs, le miR-9-3p était impliqué comme régulateur négatif de l'expression de FoxO1 au cours de la différenciation, et donc comme inhibiteur de la quiescence (Kim et al., 2015). Cependant, chez le poisson-zèbre, l'un des modèles de neurogenèse adulte, miR-9 est exprimé dans une sous-population de CSN quiescentes, et le complexe Ago-miR-9-3p est transporté par la Trinucleotide repeat-containing gene 6 (TNRC6) dans le noyau où il potentialise la signalisation Notch pour maintenir un état de quiescence (Katz et al., 2016). Les cibles de ce miR-9-3p nucléaire restent à élucider, mais pourraient révéler un mécanisme non-canonique de répression du cycle cellulaire par le miR-9.

Le miR-25 est essentiel à l'activation et la prolifération des CSN *in vitro* (Brett et al., 2011). Il est localisé dans le cluster polycistronique miR-106-b-25 (un ensemble de miRs aux cibles différentes transcrits sur un même fragment), qui se trouve dans un intron du gène minichromosome maintenance 7 Mcm7, essentiel à l'initiation de la réplication de l'ADN (Mehlich et al., 2018) et récemment identifié comme nécessaire à la prolifération durant le développement du système nerveux central (Ravindran et al., 2022). Cet effet du miR-25 pourrait être lié à Foxo3, un effecteur de la signalisation IGF (Martins et al., 2016) dont nous

avons évoqué la nécessité pour le maintien en quiescence des CSN (cf II.2.d, Paik et al., 2009; Renault et al., 2009), et qui est prédit comme une cible possible du miR-25 (Brett et al., 2011).

Dans les CSN du DG, la DNA methyl-CpG-binding protein MeCP2 inhibe l'expression de plusieurs miRs par régulation épigénétique : elle reconnaît la méthylation d'îlots CpG et se lie à l'ADN pour empêcher l'expression des gènes marqués (Bird, 2002). La répression de l'une de ces cibles, le miR-137, implique également le facteur de transcription Sox2, que nous avons cité précédemment pour son implication dans le maintien du statut souche des CSN (Szulwach et al., 2010). L'expression du miR-137 stimule la prolifération des CSN, tandis que son inhibition promeut la différenciation en neurones ou astrocytes, notamment par la répression de la déméthylase lysine-spécifique Lsd1 (Kdm1a), un co-facteur de Tlx nécessaire à la prolifération (Sun et al., 2010, 2011). Le miR-137 cible également une autre methyl-CpG-binding protein, MBD1, qui inhibe à son tour l'expression du miR-184,

II.5.c. Différenciation neuronale

Plusieurs miRs ont été impliqués comme modulateurs positifs de la différenciation neuronale des progéniteurs neuraux.

miR-124-3p a été le premier confirmé, par l'équipe de Fiona Doetsch en 2009, comme un miR dont l'expression augmente au cours de la neurogenèse adulte (Cheng et al., 2009). *In vitro* et *in vivo*, son inhibition bloque la différenciation neuronale et favorise la prolifération tandis que sa surexpression bloque la prolifération et favorise la différenciation neuronale, de par la suppression de l'expression de Sox9 et Jagged1, et l'inhibition de l'expression de Dlx2 (Cheng et al., 2009). Sa surexpression stable dans la ZSV conduit notamment à une déplétion du pool de CSN, et à une perte de la neurogenèse à long-terme (Akerblom et al., 2012). Sox9, exprimé dans les astrocytes du CNS, a été identifié comme marqueur des CSNq (Llorens-Bobadilla et al., 2015) présente un rôle dans la différenciation gliale, et apparaît nécessaire à l'inhibition de la différenciation neuronale, mais pas à l'initiation de la différenciation oligodendrocytaire (Cheng et al., 2009; Vong et al., 2015).

Le RE1 silencing transcription factor (REST), un facteur exprimé par les CSN et nécessaire au maintien du pool de CSN (Gao et al., 2011), bloque l'expression du miR-124 (Conaco et al., 2006) et du miR-9 (Laneve et al., 2010), et la régulation du profil d'expression des miRs des CSN par REST suggère une que sa fonction anti-neuronale est médiée par la répression de l'expression de miRs (Gao et al., 2012). Pendant la différenciation neuronale, cependant, cette balance est inversée : le miR-124 et le miR-9 inhibent l'expression des cofacteurs de REST respectifs Synaptonemal complex protein 1 (SCP1) et REST Corepressor 1 (CoREST) (Conaco et al., 2006; Visvanathan et al., 2007; Packer et al., 2008; Laneve et al., 2010).

De nombreux miRs sont donc impliqués dans chaque étape de la neurogenèse, au s'intègrent dans des boucles régulatrices complexes. Comme dans d'autres systèmes biologiques, la diversité des miRs impliqués, le recouvrement de leur dynamique d'expression et l'entrecroisement important de leurs cibles géniques laisse entrevoir que le rôle singulier de chaque miR s'inscrit dans une régulation globale impliquant de nombreux acteurs, et que les différentes étapes neurogéniques seraient orchestrées par des gradients d'expression de plusieurs miRs coordonnant le même processus (Gebert and MacRae, 2019).

Chapitre IV

Potentiel thérapeutique de la neurogenèse

IV.1. Potentiel oligodendrogénique des progéniteurs neuraux

IV.1.a. Le lignage oligodendrocytaire

La différenciation oligodendrocytaire est orchestrée par un réseau de signalisations et d'activité de facteurs de transcription, qui semble conservée entre le développement et l'âge adulte (Fig. 15, Nicolay et al., 2007; Franklin and Ffrench-Constant, 2008). Elle peut être décomposée en plusieurs phases: des CSN (embryonnaires ou adultes) donnent naissance aux CPO, puis les CPO entrant en différenciation se différencient en oligodendrocytes pré-myélinisants (pré-OL), qui vont ensuite maturer et étendre un réseau dendritique dense pour contacter les axones voisins et former autour d'eux la gaine de myéline : on parle alors d'OLM (Zhou et al., 2021).

La distinction entre ces différents stades se fait grâce à l'expression combinatoire de marqueurs du lignage oligodendrocytaire. Les gangliosides reconnus par l'anticorps A2B5 marquent ainsi les CSN et les CPO (Figarella-Branger et al., 2022). Le protéoglycane *neural/glial antigen 2* (NG2) et le *Platelet-derived Growth Factor Receptor α* (PDGFR α) sont exprimés par les CPO et les pré-OLs, et les pré-OLs sont distingués des CPO par l'expression de l'antigène O4, de la *2',3'-Cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase* (CNPase) et de qui la *Galactocérébrosidase* (GalC) qui continueront d'être exprimés dans les OLM (Kuhn et al., 2019). Ces OLM sont enfin identifiés par leur morphologie et leur expression de gènes liés à la myéline tels que la *myelin-binding protein* (MBP) ou encore la *myelin O/L glycoprotein* (MOG) (El Waly et al., 2014).

IV.1.b. Oligodendrogenèse physiologique

A travers le parenchyme, une population de CPO se maintiennent dans un état indifférencié à l'âge adulte, et leur destin semble dépendre de la localisation : les CPO situés dans la matière grise restant majoritairement quiescents et immatures, tandis que ceux de la matière blanche sont plus actifs, avec un rythme de prolifération et une production d'OLM plus soutenue (Dimou et al., 2008). Dans la matière blanche, on observe donc une production continue d'oligodendrocytes myélinisants à l'âge adulte.

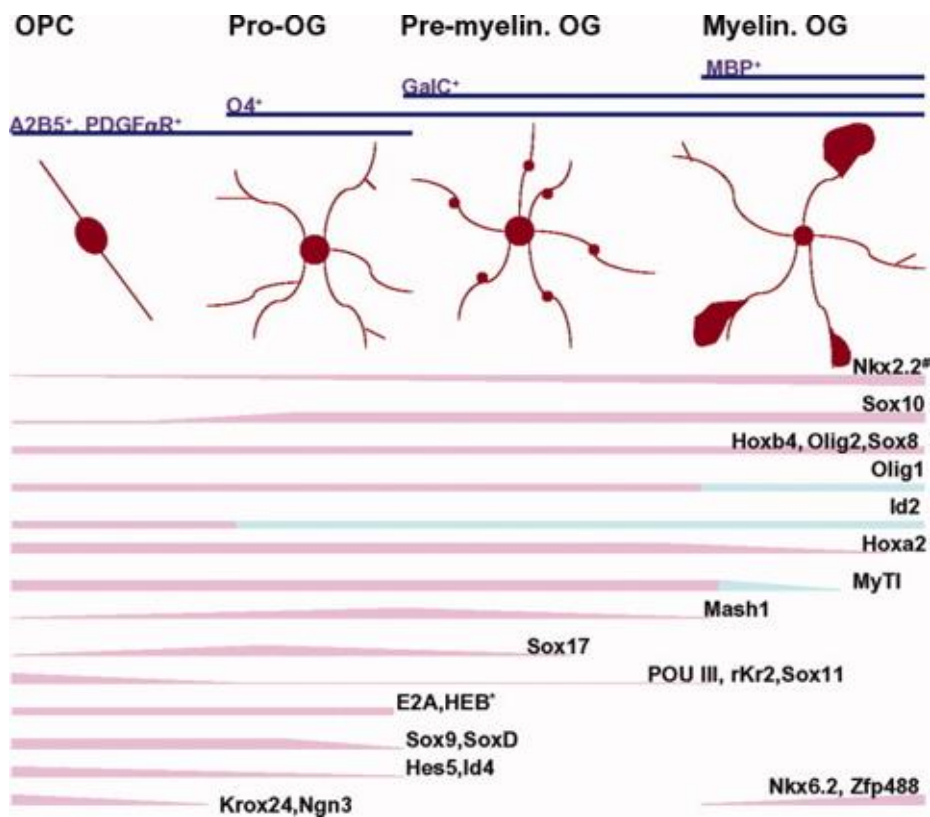


Figure 15 : Etapes et marqueurs de la différenciation oligodendrocytaire. Les CPO s'engagent dans la différenciation gliale et forment des pre-oligodendrocytes (pro-OG), qui à leur tour génèrent des oligodendrocytes immatures non myélinisant (Pre-myelin OG). Après maturation, ils deviennent des oligodendrocytes myélinisant (Myelin OG) et forment la myéline entourant les axones. Tiré de Nicolay et al., 2007.

Une fraction des OLM néoformés n'est cependant pas originaire des CPO parenchymaux, mais sont issus de la ZSV. En effet, les CSN adultes sont pluripotentes, et en marge de la neurogenèse, forment des précurseurs oligodendrocytaires (PO), qui migrent vers le corps calleux (CC) voisin pour y former des oligodendrocytes myélinisants (Menn et al., 2006). On distingue les CPO grâce à des marqueurs exprimés tout au long du lignage oligodendrocytaire, notamment Olig2 et Sox10 (Zhou et al., 2021). Ces deux facteurs de transcription sont centraux à la différenciation oligodendrocytaire : non seulement ils sont exprimés tout au long de ce processus, mais ils sont également nécessaires et suffisants pour la différenciation oligodendrocytaire des PN, y compris dans les neuroblastes (El Waly et al., 2018).

Olig2 est un facteur de transcription capital dans le programme de différenciation oligodendrocytaire, qui s'oppose aux fonctions pro-neuronales de Pax6 (Hack et al., 2005). Son inhibition par ID2 et 3 est essentielle à l'effet pro-neuronal de la signalisation BMP4 (Samanta and Kessler, 2004)

Le suivi des cellules Olig2-positives a ainsi permis de montrer que dans la ZSV, l'oligodendrogenèse se déroule à une échelle plus petite que la neurogenèse, à la fois au niveau d'une migration qui s'effectue sur une distance bien plus réduite, et par une production moindre de progéniteurs oligodendrocytaires comparée aux progéniteurs neuraux (Menn et al., 2006; El Waly et al., 2014). Ces deux processus sont mutuellement exclusifs : contrairement aux résultats *in vitro*, aucun progéniteur produisant à la fois des CPO et des NB n'a été observé *in vivo* lors de visualisations sous imagerie directe (Ortega et al., 2013).

IV.2. Progéniteurs subventriculaires et remyélinisation

IV.2.a. Modèles de lésions démyélinisantes

Les maladies démyélinisantes sont des pathologies du système nerveux dans lesquelles la myéline est endommagée. Parmi ces maladies, la plus commune est la sclérose en plaques (SEP), une maladie neurodégénérative auto-immune à causes multiples incluant des facteurs génétiques et environnementaux (Dobson and Giovannoni, 2019). Au cours de cette maladie, des infiltrats immunitaires localisés causent une mort oligodendrocytaire et une démyélinisation locale, causant la dégénération des axones non protégés et perturbant le fonctionnement du CNS. Dans environ 85% des cas, la maladie aux stades précoces alterne des crises aiguës d'activité auto-immune et des phases de rémission : on parle d'une forme relapsing-remitting (RR) (Cunniffe and Coles, 2021). De plus, aux stades précoces de cette maladie, on observe un phénomène de remyélinisation présentant une forte disparité entre les patients (Xiao et al., 2018). Face aux limites des traitements immunomodulateurs qui permettent uniquement de retarder la progression de la maladie, la stimulation de la remyélinisation constitue l'une des pistes thérapeutiques les plus prometteuses pour le traitement de la SEP (Cunniffe and Coles, 2021; Xiao et al., 2018).

Pour étudier cette remyélinisation, et plus particulièrement la contribution des progéniteurs neuraux adultes, plusieurs modèles de démyélinisation ont été mis en place chez le rongeur, présentant des caractéristiques différentes :

L'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) est le modèle récapitulant le mieux la pathogenèse de la SEP (Procaccini et al., 2015). Ce modèle utilise l'auto-immunisation de l'animal, soit avec un immunogène issu de protéines myéliniques ou axonales, soit par immunisation active soit par transfert de cellules T encéphalitogéniques. Une variété d'immunogènes issus de protéines de la myéline ou d'axones ont été utilisée, induisant des progressions différentes de la pathologie (Procaccini et al., 2015). Par exemple, l'immunisation

contre le peptide PLP₁₃₉₋₁₅₁, un épitope de la *Protéine Protéolipidique* (PLP), provoque une alternance de phases aiguës et de phase de rémissions mimant la forme Relapsing-Remitting (RR) de la SEP (Whitham et al., 1991; McRae et al., 1995). A l'inverse, une immunisation forte contre le peptide MOG₃₅₋₅₅ provoque une progression chronique de la pathologie (Mendel et al., 1995; Berard et al., 2010). Ces modèles d'EAE reproduisent ainsi différents aspects de la SEP, notamment immunitaires, mais ne permettent pas d'étudier la pathogénie, et ne sont que peu permissifs à la remyélinisation (Procaccini et al., 2015; Torre-Fuentes et al., 2020).

Un modèle viral utilise l'infection par le virus de l'encéphalomyélite de Theiler (TMEV), qui induit une inflammation persistante et une dégradation axonale précédant la démyélinisation. La persistance inflammatoire rend ce modèle peu permissif à la remyélinisation, mais il peut être relevant pour étudier les capacités remyélinisantes dans un contexte inflammatoire persistant.

Enfin, des modèles de lésions par agents chimiques permettent d'induire une démyélinisation, suivie d'une remyélinisation après arrêt du traitement. Ce contrôle temporel des phases de démyélinisation et de remyélinisation est particulièrement utile pour l'étude de cette dernière.

Ainsi, l'ajout dans l'alimentation de cuprizone, un agent chélateur du cuivre, induit des dysfonctionnements mitochondriaux dans les oligodendrocytes provoquant une démyélinisation et une activation des astrocytes et de la microglie (Matsushima and Morell, 2001; Bénardais et al., 2013). Ces effets s'estompent rapidement après arrêt du traitement, laissant place à une remyélinisation étalée sur quelques semaines (Praet et al., 2014).

L'injection focalisée de 2-lysophosphatidylcholine (LPC), induit une démyélinisation locale provoquant une inflammation, suivie d'une remyélinisation rapide (5-6 semaines) chez les animaux jeunes adultes, mais plus lente chez les animaux âgés (Shields et al., 1999). La démyélinisation est indépendante de l'activité immunitaire, mais conduit à une inflammation importante, qui semble favoriser la remyélinisation (Bieber et al., 2003). Cette inflammation se manifeste par l'infiltration de lymphocytes B et T, de macrophages et de neutrophiles, ainsi qu'une activation rapide des macrophages et de la microglie.

Les modèles utilisant des agents chimiques affectent directement les oligodendrocytes ou la myéline, et s'affranchissent ainsi des composantes immunitaires de la SEP. Bien que cela limite leur utilité pour l'étude de la pathogénie de la SEP, ils offrent un outil puissant pour étudier les processus de remyélinisation indépendamment du contexte immunitaire global.

IV.2.b. Implication des progéniteurs neuraux dans la remyélinisation

La contribution des progéniteurs neuraux au processus de remyélinisation a généré un intérêt grandissant depuis la découverte de la neurogenèse (Xiao et al., 2018). Ainsi, au sein de différents modèles de démyélinisation, notamment l'EAE (Picard-Riera et al., 2002) et les traitements cuprizone (Klingener et al., 2014; Samanta et al., 2015) ou lysolecithine (Klingener et al., 2014), la démyélinisation provoque un recrutement de progéniteurs neuraux, qui migrent vers le site de lésion pour y produire des oligodendrocytes myélinisants (Brahim Nait-Oumesmar et al., 1999). Ces capacités directes de régénération demeurent cependant fortement dépendantes de l'état inflammatoire globale ; en effet, si l'on observe une production importante d'oligodendrocytes myélinisants par les progéniteurs neuraux de la ZSV après traitement cuprizone, le maintien de ce traitement dans le temps réduit la prolifération globale de ces progéniteurs, diminuant la neurogenèse, et inhibe drastiquement leur contribution à la régénération de la myéline (Xing et al., 2014; Brousse et al., 2015). Deux études, dont l'une très récente, rapportent une réorientation de neuroblastes (NB) exprimant la DCX ou GAD67 vers le lignage oligodendrocytaire, et leur participation à la régénération myélinique (Jablonska et al., 2010; El Waly et al., 2022). Cette réorientation semble dépendre de l'inhibition de la signalisation BMP dans la ZSV par la chordine (Jablonska et al., 2010).

Cette signalisation BMP semble avoir des effets contradictoires sur l'orientation des progéniteurs neuraux : si elle favorise l'orientation gliale, sa suractivation favorise l'orientation astrocytaire aux dépens de l'orientation oligodendrocytaire, suggérant que son rôle sur l'oligodendrogenèse soit l'objet d'une régulation fine par les cellules de la ZSV (Cate et al., 2010). La signalisation EGF semble également présenter un rôle paradoxal, favorisant la prolifération et l'orientation gliale des progéniteurs neuraux indifférenciés (Cantarella et al., 2008), mais inhibant la différenciation des précurseurs oligodendrocytaires présents au site de lésion par l'induction d'une astroglie délétère (Holley et al., 2003).

D'autres mécanismes promouvant l'orientation oligodendrocytaire des progéniteurs neuraux en contexte de démyélinisation ont également été mis en évidence (Xiao et al., 2018). Ainsi, la signalisation N-cadhérine (Klingener et al., 2014) et l'inhibition de l'effecteur transcriptionnel de la voie Shh Gli1 (Samanta et al., 2015) participent au recrutement de progéniteurs oligodendrocytaires issus de la ZSV dans le modèle EAE en augmentent la prolifération des progéniteurs neuraux et en favorisant leur orientation oligodendrocytaire.

Enfin, les chimiokines inflammatoires IL-4 et IL-10 exercent une action chimioattractante sur les progéniteurs neuraux, et suggèrent que des acteurs inflammatoires puissent être responsables de la chimioattraction des progéniteurs neuraux recrutés aux sites de lésion (Guan et al., 2008).

IV.2.d Inflammation subventriculaire

La régulation de l'inflammation dans la niche neurogénique semble revêtir une importance particulière, à la fois en conditions physiologiques et en réponse aux lésions démyélinisantes (Soares et al., 2021). Le cerveau héberge en effet un type de cellules immunitaires unique dans l'organisme, la microglie (Voet et al., 2019). Ces cellules résidentes sont disséminées dans l'encéphale, et en réponse à l'inflammation, peuvent présenter des états d'activation, passant d'une morphologie étoilée à une morphologie améboïde, et sécrètent alors des facteurs régulant l'inflammation et le recrutement des cellules immunitaires sanguines (Hammond et al., 2019).

Curieusement, la ZSV présente un état inflammatoire physiologiquement plus élevé que les autres régions du cerveau, et accueille en particulier une microglie qui présente un phénotype moléculaire et une morphologie de microglie activée (Goings et al., 2006). Qui plus est, dans des modèles de lésion cérébrale provoquant une inflammation généralisée de l'encéphale, la microglie de la ZSV ne présente pas d'augmentation de son activation, contrairement aux autres régions cérébrales. Cela suggère un maintien finement régulé de l'inflammation dans la ZSV (Goings et al., 2006).

Dans les modèles de démyélinisation, la microglie présente une activation hétérogène aux sites de lésion (Hammond et al., 2019). Son rôle est encore mal compris, mais pourrait comprendre des effets conflictuels : d'une part, la microglie semble impliquée dans la physiopathologie de la SEP, et contribuant à la démyélinisation dans le modèle cuprizone et inhibant la différenciation oligodendrocytaire (Wergeland et al., 2011; Marzan et al., 2021), mais d'autre part, elle semble nécessaire à la remyélinisation et exerce des effets neuroprotecteurs (Olah et al., 2012; Yamasaki et al., 2014).

De manière intéressante, les progéniteurs neuraux semblent avoir une action régulatrice de l'activation microgliale, en induisant l'expression de molécules neuroprotectrices par la microglie (Takahashi et al., 2005; Cardona et al., 2006; Wu et al., 2014). Cet effet semble partiellement médié par le VEGF sécrété par les progéniteurs neuraux (Mosher et al., 2012), mais pourrait également être médié par la sécrétion par les progéniteurs neuraux d'exosomes spécifiquement intégrés par la microglie (Hou et al., 2020). À l'inverse, une inhibition de l'activation microgliale dans le modèle EAE a provoqué une augmentation de la prolifération et de la maturation oligodendrocytaire des progéniteurs neuraux, suggérant un dialogue moléculaire entre la microglie et les progéniteurs neuraux.

IV.3. Neurogenèse dans le cerveau âgé

L'hippocampe constitue le siège de la mémoire, et possède un rôle majeur dans la détermination des comportements. Entre l'humain et la souris, une asymétrie fonctionnelle majeure se présente dans les rôles respectifs du bulbe olfactif : chez les souris, l'odorat est déterminant dans de nombreux comportements exploratoires, nutritionnels ou encore sociaux chez l'homme l'odorat revêt un rôle mineur dans la détermination des comportements, tandis que l'hippocampe prend des fonctions essentielles dans les comportements, la mémoire ou encore les émotions. Pourtant, les niches neurogéniques ne semblent pas refléter cette différence : chez l'homme comme chez la souris, les PN sont présents en plus grande quantité dans la ZSV que dans la ZSG (Curtis et al., 2012). L'étude du vieillissement de la niche neurogénique murine peut donc informer sur les mécanismes impliqués dans la diminution de la neurogenèse chez l'humain.

IV.3.a. Vieillessement de la niche neurogénique

L'âge est un facteur déterminant de la neurogenèse : après sa phase développementale, qui s'achève à la puberté, elle subit un déclin régulier tout au long de la vie adulte (Apple et al., 2017; Cutler and Kokovay, 2020). Dans la ZSV comme dans la ZSG murines, on observe une baisse importante de la prolifération à partir de 6 mois (Enwere et al., 2004; Imayoshi et al., 2008). Cette diminution semble résulter à la fois d'une diminution de la prolifération des CSN, d'une déplétion de la niche, et de l'altération des signalisations pro-neurogéniques extérieures à la niche (Fig. 16, Encinas et al., 2011; Villeda et al., 2014; Kalamakis et al., 2019).

La ZSV s'affine avec l'âge, et semble fusionner avec le mur médian non-prolifératif, résultant en une diminution globale de sa taille (Shook et al., 2012). Une diminution de la densité vasculaire, et des signaux sanguins qu'elle apporte, participent à un remodelage de la niche (Katsimpardi et al., 2014). Le cerveau âgé présente également une inflammation de bas grade, qui dans la ZSV se manifeste par une sécrétion accrue des cytokines inflammatoires IL-6, IL1- β et TNF α , un état activé phagocytaire de la microglie, et l'infiltration de lymphocytes T dans la niche (Solano Fonseca et al., 2016; Dulken et al., 2019; Cutler and Kokovay, 2020).

La prolifération des CSN se ralentit dès 6 mois avec un allongement de la phase G1. Celui-ci résultant en une augmentation de la proportion de CSN en prolifération mais une diminution globale de cette prolifération de l'ordre de 75% à 2 ans, un mécanisme qui semble nécessaire à la conservation du pool de CSN (Enwere et al., 2004; Daynac et al., 2014, 2016).

La diminution de la neurogenèse résulte également d'une altération des signaux extérieurs reçus par les niches neurogéniques (Cutler and Kokovay, 2020); par exemple, les changements de facteurs circulants dans le sang (Katsimpardi et al., 2014; Villeda et al., 2014) et le LCR (Silva-Vargas et al., 2016) chez la souris âgée contribuent à diminuer la neurogenèse.

Le vieillissement de la ZSV murine et la diminution de la neurogenèse avec l'âge résultent donc à la fois d'une altération intrinsèque des capacités neurogéniques des progéniteurs neuronaux, et d'un environnement moins permissif à la neurogenèse (Cutler and Kokovay, 2020).

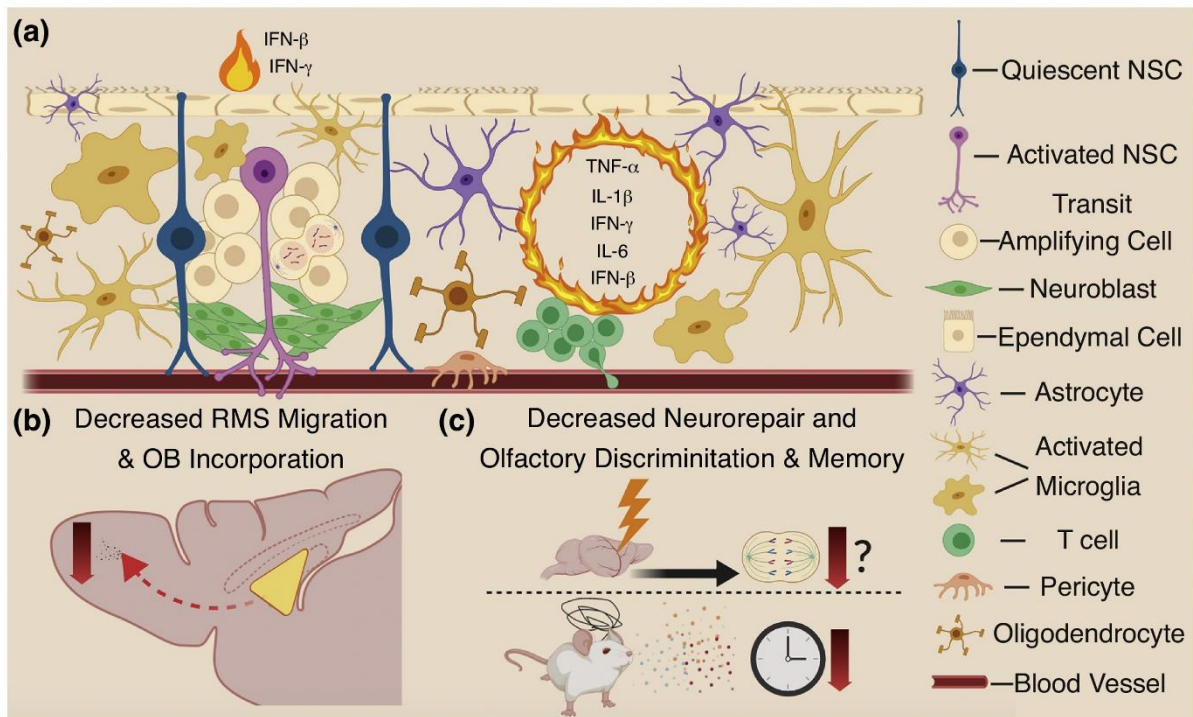


Figure 16 : Altérations de la neurogenèse au cours du vieillissement. (a) La niche neurogénique de la ZSV s'altère au cours du vieillissement, qui induit un amincissement de la couche de cellules épendymaire, ainsi qu'une augmentation de l'inflammation caractérisée par la présence de cytokines et chimiokines, tels que les interleukines -6 et -1 β , les interférons - β et - γ et le TNF- α . Les CSN adoptent un phénotype plus quiescent, résultant en une diminution de la neurogenèse (b), ainsi qu'une diminution de la plasticité et des capacités régénératives des progéniteurs neuronaux (c).

IV.3.b. Neurogenèse dans le cerveau humain âgé

Si vous fixez longuement les profondeurs des abysses, vous risquez d'augmenter le bruit de fond.

La première détection de neurones néoformés dans l'hippocampe humain par Peter Eriksson et l'équipe de Fred Gage en 1998 a fait couler beaucoup d'encre, et aujourd'hui encore, la neurogenèse humaine continue de faire résonner beaucoup de claviers. Si la formation de neurones après la naissance est universellement acceptée, les anciens pourfendeurs du dogme du cerveau figé contestent aujourd'hui l'idée d'une neurogenèse continue à travers l'âge adulte et le vieillissement, et s'opposent à ceux qui pointent les implications des déficits de neurogenèse dans les maladies neurodégénératives.

La preuve originelle est venue de coupes post-mortem de patients âgés, ayant reçu un traitement BrdU entre 16 et 781 jours avant la mort à des fins de diagnostic de cancer (Eriksson et al., 1998). La co-détection du marqueur de neurones NeuN et du BrdU dans des cellules de la CG montrait la présence de neurones néoformés dans l'hippocampe humain (Eriksson et al., 1998). De nombreuses études suivirent, cherchant à reproduire ces résultats par d'autres approches, en utilisant notamment d'autres marqueurs d'identification de l'âge des cellules, telle que l'incorporation du ¹⁴C atmosphérique à la formation des cellules (Spalding et al., 2013). Cependant, ces découvertes et leurs protocoles ont été mises en doute dans la décennie écoulée, à la fois pour des considérations techniques, mais aussi par la publication de reproductions négatives de ces expériences par d'autres approches, ne parvenant pas à trouver les combinaisons de marqueurs nécessaires dans leurs marquages immunologiques (Breunig et al., 2007; Dennis et al., 2016; Cipriani et al., 2018; Sorrells et al., 2018). En parallèle, d'autres études ont mis en évidence la présence de neurones néoformés (Boldrini et al., 2018; Moreno-Jiménez et al., 2019; Tobin et al., 2019), en s'appuyant sur divers marqueurs, dont le Dcx, ainsi que des protocoles adaptés de fixation des tissus post-mortem, critique pour la qualité du marque immunologique (Lucassen et al., 2020).

Ces controverses ont culminé par un face-à-face avec deux articles « Dual Comparison » entre les partisans principaux, dans lesquels chacun réaffirmait la robustesse de ses résultats, concluant tous deux que des données single-cell RNAseq robustes représentaient le meilleur espoir trancher sur la réalité d'une neurogenèse hippocampique adulte (Sorrells et al., 2021; Moreno-Jiménez et al., 2021). Très récemment, l'équipe de Wang et al. parvint au cours de telles analyses à déterminer l'existence d'un cluster de CSN chez des patients âgés, ainsi qu'un cluster au profil de neuroblastes/neurones immatures, fournissant de nouveaux marqueurs des populations neurogéniques humaines, marquant un nouveau chapitre de l'étude de la neurogenèse humaine, et offrant une nouvelle lecture des différents travaux sur

les liens entre neurogenèse, vieillissement, et pathologies neurodégénératives (Wang et al., 2022).

IV.3.c. Mobilisation thérapeutique des progéniteurs neuraux

La persistance des CSN et d'une neurogenèse fonctionnelle dans le cerveau humain adulte et âgé souligne la pertinence de l'étude des progéniteurs neuraux : en effet, la stimulation de leur potentiel régénérateur pourrait constituer une approche thérapeutique pour lutter contre la progression de maladies neurologiques et neurodégénératives (Xiao et al., 2018; Marchetti et al., 2020; Babcock et al., 2021).

Des approches utilisant la transplantation de CSN exogènes ont ainsi montré des améliorations substantielles de la régénération des tissus lésés dans des modèles murins de la maladie de Parkinson (Marchetti et al., 2020), de la maladie d'Alzheimer (Babcock et al., 2021), de la chorée de Huntington (Reidling et al., 2018; Yoon et al., 2020) ou de la SEP (Xiao et al., 2018). Malgré des différences substantielles de modèle ainsi que d'origine et de destin des cellules transplantées, ces expériences partagent une observation clé : en plus de la participation directe des cellules transplantées à la régénération des tissus, par la production de nouvelles cellules différenciées fonctionnelles, les cellules transplantées ont un effet modulateur de l'environnement inflammatoire favorable à la régénération (Xiao et al., 2018; Marchetti et al., 2020; Yoon et al., 2020; Babcock et al., 2021).

Ce double rôle souligne l'intérêt des approches thérapeutiques basées sur la stimulation des progéniteurs neuraux endogènes : au-delà d'une régénération directe des tissus, la mobilisation de ces progéniteurs pourrait contribuer à rendre l'environnement pathologique plus permissif à la régénération. Cependant, l'identification de cibles thérapeutiques pertinentes requiert une connaissance détaillée de l'identité des progéniteurs mobilisés et mobilisables en réponse aux diverses atteintes du système nerveux central. La délimitation précise des capacités prolifératives et plastiques des différentes populations de progéniteurs neuraux apparaît donc cruciale pour informer la recherche de cibles thérapeutiques stimulant les progéniteurs endogènes pour améliorer la régénération de manière non-invasive.

Objectifs

La découverte de la présence de cellules souches neurales demeurant capables de produire de nouveaux neurones dans le cerveau des mammifères adultes a généré d'importantes recherches sur la possibilité d'exploiter et de stimuler ces cellules pour participer à la régénération du système nerveux central (Obernier and Alvarez-Buylla, 2019). En particulier, la capacité de ces cellules souches et des progéniteurs neuraux à se différencier non seulement en neurones, mais également en astrocytes et en oligodendrocytes, en font des cibles thérapeutiques prometteuses dans le cadre de pathologies variées, telles que les accidents vasculaires cérébraux, les maladies neurodégénératives, ou les pathologies démyélinisantes (Moreno-Jiménez et al., 2019; Cunniffe and Coles, 2021; Willis et al., 2022).

Ainsi, dans un contexte de démyélinisation comme la sclérose en plaques, des progéniteurs neuraux de la ZSV peuvent se détourner de leur destin neuronal et migrer jusqu'aux zones lésées pour y produire des oligodendrocytes myélinisants et réguler le microenvironnement inflammatoire, contribuant de manière importante à la régénération de la zone lésée (Xiao et al., 2018). Les CSN et les PI constituent la majeure partie des cellules recrutées aux sites de lésion après démyélinisation, et de nombreuses études se sont intéressées à l'étude des mécanismes qui sous-tendent ce phénomène (Xiao et al., 2018). Cependant, quelques rapports précédents font état, en conditions pathologiques, d'une réorientation d'un faible nombre de neuroblastes vers le lignage oligodendrocytaire et de leur participation à la régénération des tissus lésés (Jablonska et al., 2010; El Waly et al., 2018, 2022). Cette preuve de principe suggère que l'étude de l'engagement dans la différenciation neuronale et de la perte de plasticité des neuroblastes en différenciation pourrait fournir des cibles thérapeutiques permettant de restaurer la plasticité des neuroblastes, et d'améliorer ainsi la contribution des progéniteurs subventriculaires à la régénération de la myéline.

Le laboratoire a précédemment décrit une nouvelle population abondante de neuroblastes immatures, les NBi exprimant des marqueurs de neuroblastes (Daynac et al., 2013). Cette population a la particularité de conserver un potentiel de clonogénicité *in vitro*, ce qui la distingue des neuroblastes matures mNB qui ont perdu cette capacité (Daynac et al., 2016). Par ailleurs, les résultats du laboratoire montrent que, bien que le nombre de NBi diminue au cours du vieillissement chez la souris, cette population reste plus représentée que les CSN dans les niches neurogéniques de la ZSV y compris à l'âge de 12 mois (Daynac 2016).

La stimulation du potentiel prolifératif et régénératif des NBi endogènes *in vivo* pourrait donc constituer une cible thérapeutique dans des contextes de démyélinisation, ainsi que dans des pathologies liées au vieillissement. Pour cela, il est indispensable de décrypter l'identité des

NBi et les mécanismes régulant leurs capacités de prolifération et de différenciation. Dans cette optique, mes travaux de thèses reposent sur trois axes d'investigation.

Axe 1 : Caractérisation moléculaire de la plasticité et du potentiel régénératif des NBi.

L'identification des neuroblastes immatures interroge sur le rôle et les capacités de ce stade. En effet, malgré quelques expériences montrant une réorientation des neuroblastes vers un destin oligodendrocytaire en conditions pathologiques, les populations de neuroblastes de la ZSV sont encore mal caractérisées, et l'étendue de leur potentiel régénératif est encore mal compris (El Waly et al., 2022).

Or, la conservation d'un potentiel clonogénique par les NBi, mais pas par les NBm qui les suivent, pourrait indiquer un maintien de la plasticité, du potentiel de différenciation, ou encore des capacités régénératrices déjà observés dans les CSN et les PI (Daynac et al., 2013, 2016). Pour cela, en s'appuyant sur notre stratégie de purification des populations de progéniteurs neuraux, nous avons cherché à caractériser le potentiel de différenciation et de prolifération à long-terme de cette population. Nous avons ensuite cherché à caractériser son profil d'expression génique à l'aide d'analyses transcriptomiques, permettant de décrire précisément son identité moléculaire.

Axe 2 : Etude des changements moléculaires des NBi après culture en hypoxie physiologique.

Le potentiel clonogénique des NBi interroge sur leur capacité à maintenir leur état prolifératif *in vitro*. En effet, si le maintien du potentiel clonogénique et de la multipotence des CSN en culture est bien démontré, celui-ci n'a pas été documenté dans les neuroblastes (Reynolds and Weiss, 1992; Morshead et al., 1994). Pour déterminer le destin des NBi en culture, nous avons donc cherché à mettre en évidence les changements transcriptomiques intervenant dans cette population après culture en hypoxie physiologique.

Axe 3 : Identification d'un acteur moléculaire régulant l'engagement dans la différenciation neuronale.

La stimulation de l'éventuel potentiel régénératif des NBi nécessite l'identification de cibles moléculaires responsables de la progression dans la neurogenèse et de la perte de la multipotence. En effet, dans le contexte de pathologies démyélinisantes, le recrutement des progéniteurs neuraux pour contribuer à l'oligodendrogenèse est limité (Jablonska et al., 2010). Nous avons donc cherché à identifier un acteur spécifique de l'engagement en différenciation neuronale, et à montrer son influence sur l'engagement dans la différenciation neuronale et le blocage de la différenciation oligodendrocytaire dans les progéniteurs neuronaux.

Article

Dans cette première étude, nous avons démontré par des expériences *in vitro* et *in vivo*, qu'une population de neuroblastes immatures, les NBI, conservait des propriétés de progéniteurs neuraux indifférenciés, à savoir un potentiel de clonogénicité à long-terme et une capacité à se différencier à la fois en neurones et en cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes).

Pour la première fois nous avons associé une analyse du transcriptome des populations neurogéniques à une analyse du transcriptome des cellules uniques. Après isolation par la stratégie de tri cellulaire développée au laboratoire, le transcriptome sur gène entier a été analysé dans les 4 sous-populations de progéniteurs neurogéniques de la ZSV, les CSN, les CSNa, les PI et les NBm, ainsi que dans les NBI CD24+EGFR+ (Daynac 2013). Ces analyses ont été exploitées pour observer l'hétérogénéité cellulaire de chacune de ces populations par la technique de séquençage de l'ARN de cellules uniques (scRNA-seq), à partir de ZSV de souris témoins ou irradiées, en se basant sur le modèle de régénération de la ZSV après irradiation déjà publié par le laboratoire (Daynac 2013).

La combinaison de ces analyses nous ont ainsi permis d'obtenir des signatures moléculaires des différentes sous-populations neurogéniques de la ZSV, et de mettre en évidence d'importants changements moléculaires notamment de gènes dont la fonction est de réguler les épissages alternatifs d'ARN (RSR) impliqués dans l'initiation de la différenciation neuronale. Enfin, nous avons pu décrire l'hétérogénéité des NBI au niveau cellulaire et identifier 2 sous-populations l'une n'exprimant pas le gène *Dcx*, l'autre exprimant le gène *Dcx*.

Des expériences à partir d'un modèle de souris DCX-CreERT2::CAG-floxed-eGFP inducible, permettant de marquer les neuroblastes exprimant le gène *Dcx* et de suivre leur progénie, ont montré que les NBI-eGFP+ *Dcx*+ présentaient une multipotence *in vitro* mais avaient perdu leur potentiel régénératif *in vivo*. Cette étude a permis de définir le profil d'expression des 9 familles de gènes RSR jouant un rôle essentiel dans l'épissage alternatif d'ARN décrits jusqu'alors au cours de la neurogenèse embryonnaire, au cours de la neurogenèse adulte de la ZSV.

Ces résultats ont également permis de redéfinir les étapes d'entrée en différenciation des progéniteurs neurogéniques de la ZSV par l'identification de 2 nouveaux stades de NBI. Un premier stade D1, *Dcx*- succédant aux PI exprimant des marqueurs de prolifération puis un second stade D2 *Dcx*+ exprimant des gènes de différenciation neuronale précèdent les mNB. Ces données constituent une base d'étude particulièrement intéressante pour adresser le devenir des NBI D1 *in vivo* et *in vitro*, notamment leur capacité à générer des NBI D2 ou à s'orienter vers un lignage glial.

Immature neuroblasts, an abundant and plastic population of neurogenic cells in the adult mouse subventricular zone

Corentin Bernou^{1,2}, Marc-André Mouthon^{1,2}, Mathieu Daynac^{1,2}, Vilma Barroca^{1,2}, Nathalie Deschamps^{1,2}, Léa Bellenger³, Alexandra Chicheportiche^{1,2a,*} and François D. Boussin^{1,2a,*}

1 Université de Paris and Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, UMR Stabilité Génétique Cellules Souches et Radiations, LRP/iRCM, F-92265, Fontenay-aux-Roses, France.

2 Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, UMR Stabilité Génétique Cellules Souches et Radiations, LRP/iRCM, F-92265, Fontenay-aux-Roses, France.

3 Artbio, Sorbonne Université, CNRS FR 3631, Inserm US 037, IBPS Paris.

^a Senior co-authors.

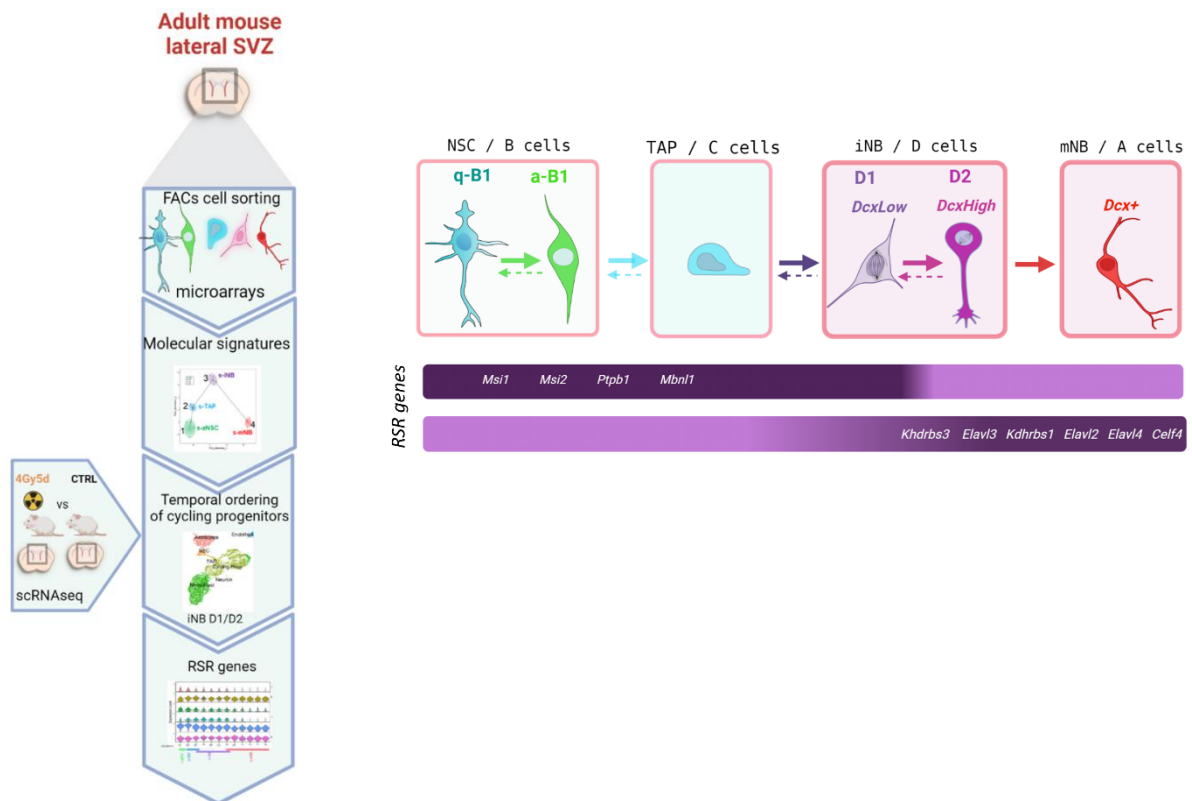
* Correspondence to Alexandra Chicheportiche, email: alexandra.chicheportiche@cea.fr and François Boussin, email: francois.boussin@cea.fr, Tel: 33 1 46 54 97 91

Summary

The lateral wall of the subventricular zone harbors neural stem cells (NSC, B cells) which generate proliferating transient-amplifying progenitors (TAP, C cells) that ultimately give rise to neuroblasts (NB, A cells). Molecular profiling at the single cell level struggles to distinguish these different cell types. Here, we combined transcriptomic analyses on FACS-sorted cells and single-cell RNAseq to demonstrate the existence of an abundant, clonogenic and multipotent population of immature neuroblasts (iNB or D cells) at the transition between TAP and mature NB. iNB are reversibly engaged in neuronal differentiation. Indeed, they retained molecular features of both undifferentiated progenitors, plasticity and unexpected regenerative properties. Strikingly, they underwent important progressive molecular switches, including changes in the expression of splicing regulators leading to their final differentiation in mature neuroblasts subdividing them into 2 subtypes, D1 and D2. Due to their plastic properties, iNB could represent a new target for regenerative therapy of brain damage.

Key words: Subventricular zone, adult neurogenesis, transcriptomic analyses, immature neuroblasts

Graphical abstract



Introduction

New neurons are constantly produced from neural stem cells (NSC) throughout life in two restricted neurogenic areas of the adult mammalian brain: the sub-granular zone (SGZ) of the hippocampus and the subventricular zone (SVZ) ¹. The lateral wall (LW) of the SVZ, adjacent to the striatum, is the largest germinal zone of the adult mouse brain, in which NSC (type B1 cells) are produced during the embryonic development and are mostly in a quiescent state thereafter ^{2,3}. Upon activation, NSC divide and give rise to rapidly dividing transit-amplifying cells (TAP, type C cells), which ultimately produce neuroblasts (NB, type A cells). These neuroblasts migrate out of the SVZ anteriorly along blood vessels and the rostral migratory stream (RMS) to reach the olfactory bulb (OB) where they integrate and differentiate into various subtypes of interneurons required to fine-tune odor discrimination ¹. The diversity of the OB interneurons depends on the intrinsic regional identity of NSC in the SVZ along the anterior-posterior and medial-lateral axes ^{1,4}.

Besides their neurogenic fate, NSC and neural progenitors present in the SVZ are also proficient to produce astrocytes and oligodendrocytes that migrate toward the corpus callosum, the RMS and the striatum in the normal ^{5,6,7} and injured adult brain ^{8,9}.

Transcriptomic analyses using different combinations of cell surface markers and transgenic mice models to isolate SVZ cells have provided important initial insights into stem cell quiescence and have highlighted consecutive transitions during neuronal lineage progression ^{2,10-13}. Since then, the single cell RNA-sequencing has revolutionized the field and has made it possible to precisely elucidate the transcriptome of SVZ cells in the LW ¹⁴⁻¹⁷ and in the septal wall which also harbours NSC niches ¹⁸.

We have previously developed a FACS-based method, based on the combination of three surface markers (LeX, EGF receptor, CD24), allowing to sort five distinct SVZ cell populations: quiescent NSC (LeX-EGFR-CD24-, hereafter referred to as sorted-qNSC, s-qNSC), activated NSC (LeX+EGFR+CD24-, referred to as sorted, s-aNSC), transit amplifying cells (LeX-EGFR+CD24-, referred to as sorted, s-TAP), immature (LeX-EGFR+CD24^{low}, referred to as sorted, s-iNB) and mature neuroblasts (LeX-EGFR-CD24^{low}, referred to as sorted, s-mNB) from the adult mouse brain ^{19,20}. Importantly, whereas s-iNB presented neuroblast markers, e.g. CD24 and doublecortin, they represented the most abundant population among SVZ cycling progenitors (approximately 4.3% of total SVZ cells vs 1% s-aNSC and 2.5% s-TAP) ²⁰.

We have shown that following a genotoxic stress (exposition to ionizing radiation) inducing the depletion of cycling progenitors, s-qNSC exit quiescence restoring successively s-aNSC, s-TAP, s-iNB and finally s-mNB ²⁰.

Transcriptomic studies revealed that age-related SVZ neurogenesis decline is associated with TGF β signaling and specific cell cycle regulation changes in s-aNSC. A progressive lengthening of aNSC G1 phase with age leads to a decrease in the production of s-TAP, s-iNB and s-mNB ²⁰⁻²². However, despite the decrease of neurogenesis with age, the s-iNB remained more abundant than s-aNSC and s-TAP in the aged brain ²¹.

Studies of SVZ neural progenitors have essentially focused on the characterization of the molecular mechanisms regulating quiescence, activation and the regenerative potential of aNSC. Here, we combined transcriptome analyses using DNA microarrays on FACS-sorted cells and single-cell RNAseq to demonstrate that the recently reported population of iNB form a molecularly distinct class of SVZ cells, exhibiting molecular features of both neural progenitors and neuroblasts while keeping unexpected regenerative capacity and plasticity. We identified important and sequential molecular switches occurring in these cells before their final differentiation in mature neuroblasts. Altogether, these data led us to propose a revision of the current model of adult neurogenesis.

Results

Regenerative potential and multipotency of sorted iNB *in vitro* and *in vivo*

We have previously shown that s-iNB had a clonogenic potential and were able to proliferate for weeks *in vitro* in normoxic conditions (20%O₂) unlike s-mNB ²⁰. However, s-iNB exhibited reduced clonogenic potential compared to that of s-aNSC and s-TAP (Fig.1A). It has been previously reported that hypoxic conditions promoted SVZ NSC proliferation and neurogenesis ^{23,24}. Hypoxic conditions (4%O₂) had no effects on s-mNB, but increased the proliferation capacities of s-aNSC, s-TAP and s-iNB, which reached similar growth rates, making them undistinguishable based on these timepoints (Fig.1A). Hypoxic conditions also increased the clonogenic potentials of both s-TAP and s-iNB but not that of s-aNSC (Fig. 1B). In these conditions, the clonogenic potential of s-TAP reached similar values as s-aNSC, but that of s-iNB was still lower (Fig.1B).

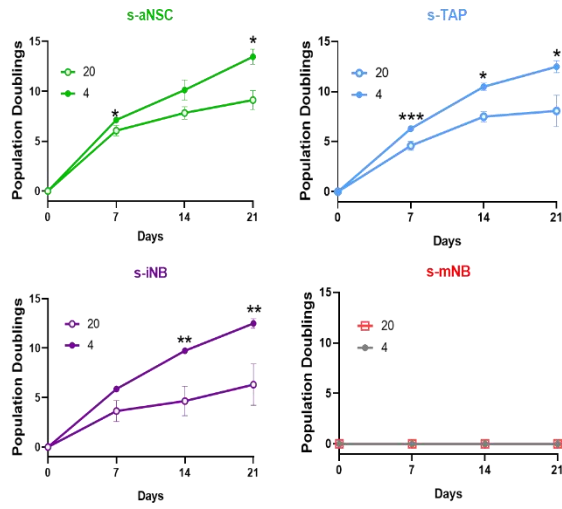
Quite surprisingly, freshly isolated s-iNB had the capacity to generate the three neural lineages, neurons, astrocytes and oligodendrocytes when plated for 5–7 day in the appropriate differentiation media, similarly as s-aNSC and s-TAP (Fig.1C).

Thus, to assess the regenerative potential of these immature neuroblasts *in vivo*, eGFP⁺ iNB were sorted from β -actin:eGFP mice then transplanted into the left striatum of recipient C57Bl/6 mice and compared to eGFP⁺s-mNB and eGFP⁺s-NSC/TAP. Five weeks after transplantation, eGFP⁺ cells were detected in different regions of interest (Table 1) in the brains of mice transplanted with eGFP⁺s-NSC/TAP or eGFP⁺s-iNB, whereas no eGFP⁺ were observed after transplantation of eGFP⁺s-mNB even at the injection site (IS) (Table 1). Except in one out 3, animals transplanted with eGFP⁺s-iNB presented high levels of eGFP⁺ cells in the OB with levels equivalent or superior to animals transplanted with eGFP⁺s-NSC/TAP or eGFP⁺s-iNB (Fig. 1D). EGFP⁺ cells were detected in the rostral migratory stream (Fig. S1A) as well as in the granular cell layer (GCL) and the external plexiform layer (EPL) of the OB where they differentiated into NeuN⁺ neurons in 2/3 animals transplanted with eGFP⁺s-iNB (Fig.1Da) and in 3/3 animals transplanted with EGFP⁺s-NSC/TAP (Table 1).

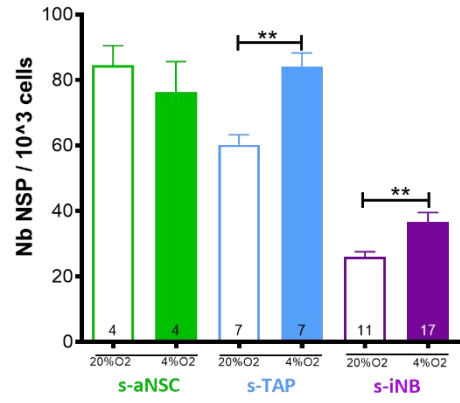
Importantly, eGFP⁺ cells were present in the SVZ of all animals transplanted with eGFP⁺s-iNBs and EGFP⁺s-NSC/TAPs (Fig. 1Db, Fig. 1Dc), some of them expressing GFAP suggesting a possible conversion of eGFP⁺s- iNB into NSC (Fig. 1Db3, Fig. 1Dc2). Plasticity of s-iNB was also shown by detection of eGFP⁺s-NB and eGFP⁺s-NSC/TAP eGFP⁺ expressing markers of astrocytes (GFAP) (Fig. S1Ba1) and oligodendrocytes (CNPase) (Fig. S1Bb2) at the IS.

Figure 1: Plasticity of iNB *in vitro* and *in vivo*. s-aNSC, s-TAP, s-iNB, and s-mNB were sorted from the SVZ of 2-month old C57Bl/6 mice. **(A)** Population doublings (PD) over 3 passages. Data were obtained from 3 independent experiments (n=8). **(B)** Clonogenicity assay. Results were obtained from 2 independent experiments. The number inside the bars indicated the number of microplate wells analyzed (mean \pm SEM). **(C)** Differentiation assay. Representative images of immunofluorescence of freshly sorted iNB cells cultured in oligodendrocyte, astrocyte, or neuronal differentiation medium, and stained either for NG2 and CNPase, or for GFAP and CD133 or for β III-Tubulin and DCX expressions, respectively. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. Scale bar: 20 μ m. **(D)** EGFP-positive iNB were isolated from β -actin:eGFP mice and transplanted unilaterally at 3 injection points at proximity of the dSVZ/RMS of recipient C57Bl/6J mice. Transplanted brains were analysed five weeks later by immunostaining. **(a)** Detection of eGFP⁺ cells in the granule cell layer and the external cell layer of the olfactory bulb of a mouse transplanted. **(a1-a2)** a2 high magnification of the inset (dotted line in A) showing eGFP⁺ NeuN⁺ cells (white arrows). **(b-c)** Detection (white arrows) of eGFP⁺ GFAP⁺ cells in the dorsal (b2) and lateral (c2) SVZ. GCL:granule cell layer, EPL : external plexiform layer, GL: glomerular layer, ISVZ: lateral SVZ, dSVZ: dorsal SVZ, Scale bars= 40 μ m or 100 μ m.

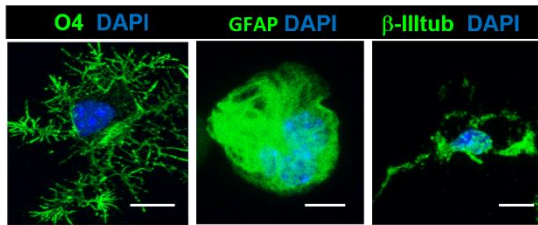
A



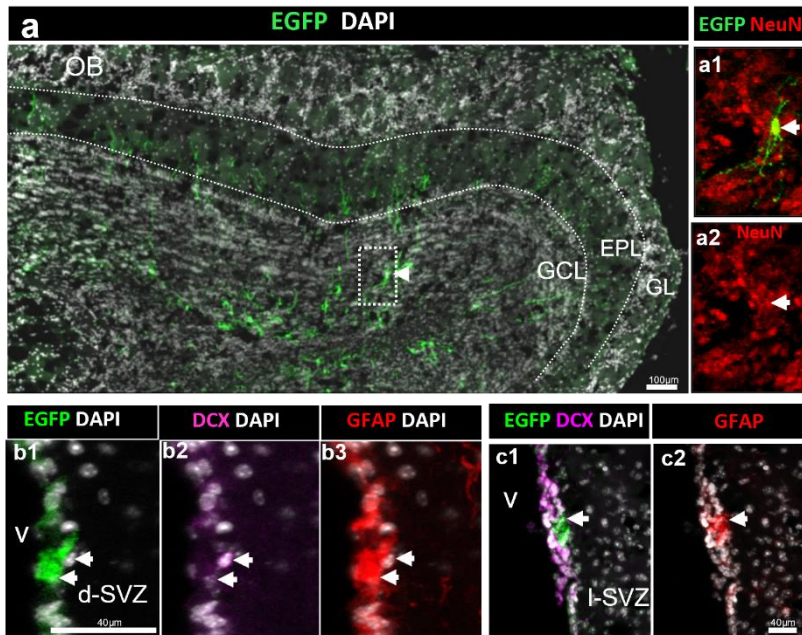
B



C



D



Overall, these results demonstrate the plasticity of s-iNB *in vitro*, making them very similar to s-NSC/s-TAP, questioning the exact nature of this abundant SVZ cell populations that express neuroblast markers.

s-iNB are a molecularly distinct class of proliferating SVZ progenitors

We characterized the transcriptomic profiles of each SVZ populations sorted from 2 month-old C57Bl/6 mice using Clariom™ D mouse microarrays that provides intricate transcriptome-wide gene- and exon-level expression profiles (Fig. 2A).

Pseudotime trajectory analysis (TSCAN) ²⁵ based on 3679 highly dispersed genes between the five sorted cell populations confirmed the lineage progression from s-qNSC (cluster1), then s-aNSC and s-TAP within a single cluster (cluster2), followed by s-iNB (cluster3) and finally s-mNB (cluster4) (Fig. 2B). Another pseudotime analysis excluding s-qNSC, based on 1481 highly dispersed genes, delineated two distinct clusters for s-aNSC and s-TAP (Fig. 2C), highlighting their molecular differences.

Venn Diagram comparison of data sets revealed 2950, 315, 129, 395 and 1693 genes unique to s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB and s-mNB respectively (Supp_data_1). G:Profiler functional profiling of these transcriptome signatures with KEGG and reactome databases uncovered significant stage-dependent changes (Fig.S2, Supp_data_1). S-aNSC overexpressed genes involved in metabolism of glycoylate and dicarboxylate metabolism. S-qNSC rather overexpressed genes related to the metabolism of lipids and Rho GTPase cycle. TAP significantly displayed genes involved in Mitotic, G1 phase and G1/S transition, Activation of the pre-replicative complex. S-mNB specifically overexpressed genes involved in axon guidance and nervous system development. Conversely, s-iNB signatures contained many genes linked to cell cycle, prometaphase, M phase, and cell cycle checkpoints, clearly distinguishing them from the other cell populations including s-mNB.

Alternative splicing (AS) plays various functions in brain development including neural cell differentiation and neuronal migration ²⁶⁻³⁰. Using the splicing index (SI) corresponding to a value assigned to each exon by estimating its abundance with respect to adjacent exons, we identified differentially spliced genes (DSG, adjusted p-value ≤ 0.05) between the successive cell transitions along neurogenesis. Results show a very large number of DSG between s-qNSC vs s-aNSC (9484) then no DSG at the s-aNSC and s-TAP transition, only 169 between the s-TAP and s-iNB transition, and finally 3759 between s-iNB and s-mNB (Supp_data_2). Functional profiling analysis with g.Profiler linked the DSG between s-TAP and s-iNB to the

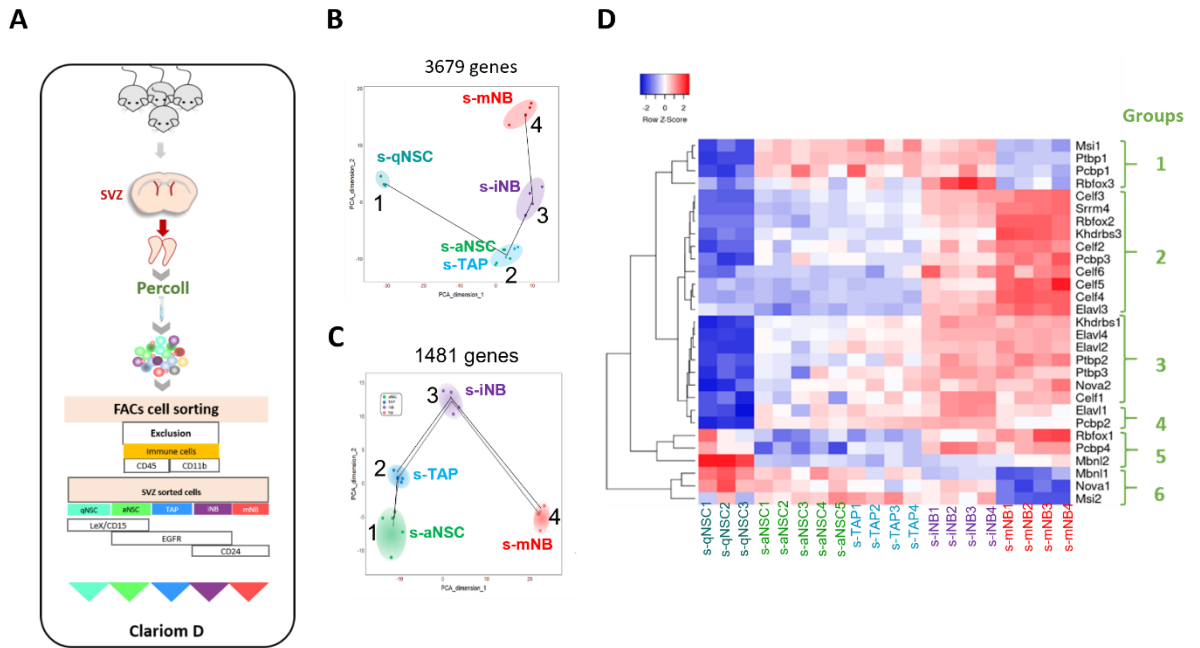


Figure 2: Transcriptomic analysis of SVZ neural progenitor cells. (A) Schematic illustration of cell sorting strategy for purification of the five major neurogenic populations (s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB, s-mNB) of SVZ microdissected from adult mouse brains. **(B)** Pseudotime analysis showing the lineage progression of sorted cell populations based on the highly dispersed genes between s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB and s-mNB. **(C)** Pseudotime analysis after exclusion of s-qNSC based to further discriminate s-aNSC and s-TAP. **(E)** Heatmap representation of RSR genes differentially expressed among s-aNSC, s-TAP, s-iNB, s-mNB (FDR p-value<0.05).

nervous system development (GO:0007399) and those between s-iNB vs s-mNB to cellular component organization or biogenesis (GO:0071840).

We then focused on the differentially expressed genes (adjusted p-value ≤ 0.05) belonging to the nine families of RNA splicing regulators (RSR) that play essential roles in the neurogenic pathway (*Ptbp*, *Nova*, *Rbfox*, *Elavl*, *Celf*, *Dbhs*, *Msi*, *Pcbp*, and *Mbnl*)²⁶. Strikingly, a clear down-regulation of most RSR gene expression distinguishes s-qNSCs from the other populations (Supp_data_3). Interestingly another shift discriminates s-aNSC and s-TAP from s-mNB (Supp_data_3). This led us to identify several groups of RSR genes in function of their variation of expression along with neurogenesis: the groups 1 and 6 were overexpressed in s-aNSC and s-TAP and downregulated in s-mNB; the group 2, 3 and 5 were up-regulated in mNB as compared to s-aNSC and s-TAP. All these groups were up-regulated in s-iNB, suggesting that the switch in RSR expression between cycling progenitors and s-mNB occurred in these cells (Fig. 3D). Interestingly, *Ptbp1*, a major splicing repressor³¹, was

downregulated in s-mNB as compared to s-iNB, consistently with the large increase in DSG at the transition between s-iNB and s-mNB.

Altogether, these data confirm at the molecular level that s-iNB comprises cycling progenitors at the transition between s-TAP and s-mNB that undergo important molecular switches, which include major changes in the expression of some RSR genes leading to a major increase in the number of DSG occurring at the final maturation of s-mNB.

s-iNB correspond to specific SVZ cell clusters identified by single cell RNA sequencing (scRNAseq)

We compared our microarray datasets to published scRNAseq datasets from adult mouse SVZ^{14,17,32}. Violin plots show that s-qNSC and s-mNB perfectly matched with the corresponding populations identified in these studies, which was less obvious for s-aNSC and s-TAP (Fig. S3). s-iNB matched with the clusters termed “Mitosis” (Class VI) in the study of Llorens et al.³² and “Mitotic TAP” in that of Zywitza et al.¹⁷, and with clusters 8, 10, 17, 16 linked to “Mitosis”, but also with clusters 6 and 15 described as DCX⁺Ki67⁺ neuroblasts in the study by Cebrian_Silla et al.¹⁴. These comparisons thus confirm that s-iNB comprise cycling SVZ cells exhibiting both TAP and NB features, which illustrates the difficulties to determine the exact nature of cell clusters identified by scRNAseq.

We have previously reported²⁰ that after brain exposure to ionizing radiation, proliferating progenitors, which are highly radiation-sensitive, are rapidly eliminated, whereas qNSC are radiation resistant and repopulate the different SVZ neurogenic cell populations successively in the irradiated brain. We therefore used this model and our transcriptomic signatures of SVZ stem and progenitor cells to gain new insights on the nature and the hierarchical ordering of neural progenitor clusters identified by sc-RNAseq.

TenX Genomics droplet-based single-cell transcriptomic analyses were performed on SVZ cells from 2 mice, 5 days after irradiation (4 Gy, SVZ only) and from 2 non-irradiated control mice after removal of myelin and red blood cells (Fig. 3A). Based on a filtering criterion of 1,500 genes/cell to exclude low-quality sequenced cells, 17,343 cells were retained for analysis, divided into 11,529 non-irradiated cells and 5,814 irradiated cells (Fig. S4).

Non-irradiated and irradiated samples were combined and integrated using the SCTransform workflow. After integration, PCA was performed and 50 PCs were used for Uniform-manifold approximation (UMAP). Leiden graph-based clustering with a resolution 1.2 identified 33 clusters (Fig. S5A). These clusters were first annotated based on the expression of known cell markers (Fig. 3B and C, Fig. S5B). Nineteen clusters, gathering more than half

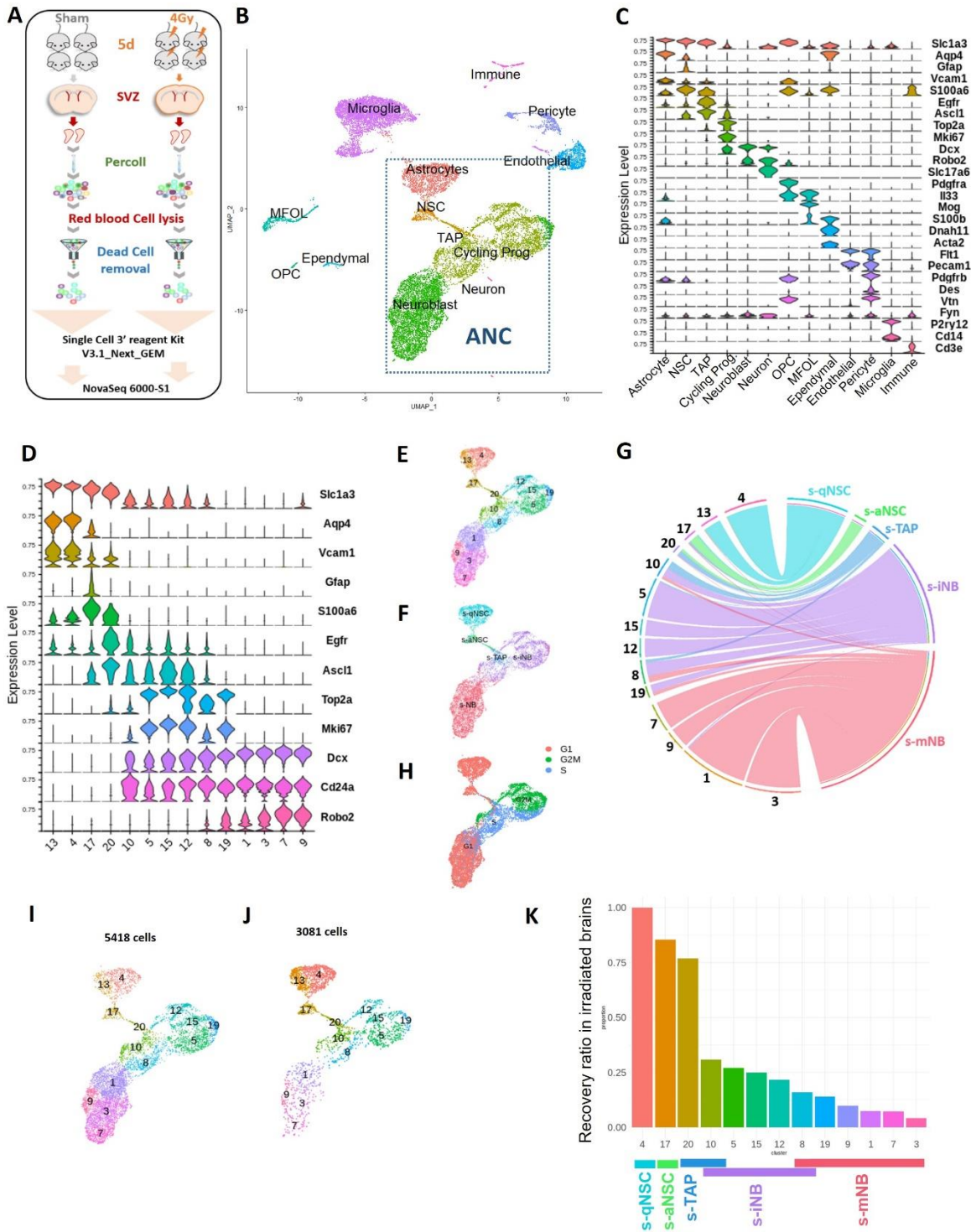


Figure 3: scRNA-seq analysis of the lateral SVZ. (A) Experimental design. **(B)** Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) of the 17343 high-quality sequenced cells annotated with corresponding cell type, combining scRNA-seq datasets of non-irradiated mice and 4Gy irradiated mice. Clustering analysis at resolution 1.2 segregated cells into 33 clusters that were matched with corresponding cell types determined with marker expression in **(C)**. Among them, 14 clusters (dotted lines rectangle) corresponded to the clusters of astrocytes and neurogenic cells (ANC). **(C)** Violin diagrams illustrating the expression level of known cell markers in the 33 clusters according to the literature. **(D)** Violin diagrams representing the expression level of selected markers specific to neurogenic cells and astrocytes from ANC clusters at the resolution 1.2. **(E)** UMAP focusing on the ANC subset. **(F)** UMAP of the top UCell score for the top 100 highly expressed genes of each neurogenic cell sorted population in the ANC clusters (Supp_data_1). **(G)** Chord diagram illustrating the correspondence of cell clusters with population top score. Cluster 10 matched with both s-TAP and s-iNB and clusters 8 and 19 both to s-iNB and to s-mNB. **(H)** Feature plot of cell cycle scoring **(I, J)** UMAP representation of ANC clusters in the unirradiated (I) and irradiated (J) samples. **(K)** Barplot showing the recovery ratios of each cluster in irradiated brains calculating as the number of cells per clusters from irradiated brains /control brains normalized to the respective numbers of s-qNSC (cluster 4). Taking into account UCell score results, s-iNB clusters overlapped the cluster 10 and 8 containing s-TAP and s-mNB, respectively.

of SVZ-residing cells, corresponded to (by decreasing abundance): microglia (expressing *P2ry12* expression³³), ependymal cells (expressing *S100β* and *Slc1a3*³⁴), endothelial cells (expressing *Flt1*³⁵), oligodendrocyte progenitors (OPC; expressing *Pdgfra*³⁶), Myelin forming oligodendrocytes (MFOL; expressing *Mog*¹⁷) and pericytes (expressing *Vtn* and *Pcam1*^{17,37}), and dopamine neurons (expressing *Vglut2*³⁸). The 14 other clusters corresponded to astrocytes and neurogenic cells (Fig. 3B, C, D). The clusters 4 and 13 that express *S100β* (Fig. S5B) were further identified as qNSC (cluster 4) and astrocytes (cluster 13) by using the transcriptomic signatures described by Cebrian et al. 2021 (Fig S5C, Supp_data_4). Cluster 17, expressing *Gfap*, *Thbs4*, *S100α6*, *Egfr^{low}* and *Ascl*, was identified as aNSC¹⁴ and cluster 20, expressing *Egfr* and *Ascl*, as TAP³⁹. Cycling progenitors (Clusters 10, 5, 12, and 8) were defined by the expression of proliferative markers such as *Top2a*, *Mki67*, *Ascl1*. NB engaged toward neuronal differentiation (clusters 1, 3, 7 and 9) were characterized by the loss of *Mki67* and *Ascl1* and the expression of *Robo2* and *Dcx*.

We then applied the UCell workflow to further characterize the neurogenic clusters (Fig. 4E) with the transcriptomic signatures of each of our five sorted SVZ cell populations (Supp_data_1), calculating individual cell scores for each signature based on the Mann–Whitney U statistical analysis, and attributing cells to populations based on the highest score amongst signatures⁴⁰. This score allowed us to unequivocally attribute some clusters to the sorted cell populations (Fig. 3F and G): cluster 4 and 13 matched with s-qNSC, cluster 17 with

s-aNSC, cluster 20 with s-TAP, clusters 5, 15 and 12 with s-iNB and finally clusters 7, 9, 1 and 3 to s-mNB. Reflecting the continuous nature of the SVZ neurogenic process, the cluster 10 matched both with s-TAP and s-iNB and clusters 8 and 19 both to s-iNB and to s-NB. Cell-Cycle Scoring³⁶ indicated that the clusters related to s-iNB were enriched in cells in S or G/2M phase (Fig. 3H).

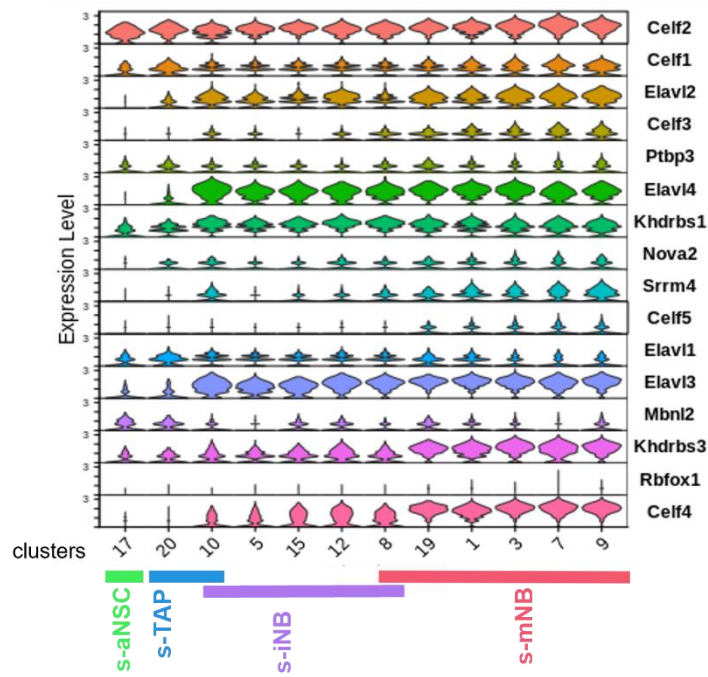
As the consequence of radiation-induced cell death, the relative abundances of each cluster were different in controls (Fig. 3I) and irradiated (Fig. 3J) brains, and dependent on the progressive repopulation of the different types of progenitors. After normalization to the numbers of s-qNSC (cluster 4), which are supposed not to be affected by irradiation²⁰, the ratios of the number of cells per clusters in irradiated brains over that in unirradiated controls gave an index of the progressive reconstitution of each cluster (Fig. 3K). As expected, clusters 17 and 20, corresponding to s-aNSC and s-TAP respectively, were almost entirely regenerated. The decreasing values of the ratios allow temporal ordering of the regeneration of each cluster corresponding to s-iNB along with neurogenesis as follows: 10, 5, 15, 12, and 8, the latter being the one at the iNB vs mNB transition as anticipated above.

We next addressed the expression of RSR genes in each cluster (Fig. 4). Not all genes could have been investigated since some of them were below the detection threshold in all the cell populations studied. The expression of RSR genes (*Kdrbs3*, *Kdrbs1*, *Elavl3* and *Elavl2*, *Elavl4*, and *Celf1*) that were shown to increase along with neurogenesis in microarrays, also increased in cluster 10, remained stable in the other clusters related to s-iNB and reached a maximal value in the s-mNB clusters (Fig. 4A). Conversely, the expressions of *Mbn1* and *Msi2* that were shown to decrease along with neurogenesis in microarrays (Fig. 4B) peaked in the clusters related to s-aNSC (17) and s-TAP (20), decreased in the cluster 10, remained low in the clusters related to s-iNB (5, 15, 12, 8) and were not detected in the clusters related to s-mNB (19, 1, 3, 7, 9). Altogether, these data corroborate our microarray data and show that a major switch in the expression of RSR genes occurs in the clusters related to s-iNB. Interestingly, the splicing repressor *Ptbp1* was similarly expressed in s-aNSC, s-TAP and s-iNB-related clusters but was downregulated progressively in the successive s-mNB clusters, suggesting that changes in *Ptbp1* expression constitute an important molecular step for the final maturation of mNB, which involves a major increase of DSG.

The *Dcx* status identifies two molecularly distinct subpopulations in s- iNB

We have previously shown by immunofluorescence that not all s-iNB were positive for doublecortin (DCX) expression, a common marker of neuroblasts²⁰. Violin plot (Fig. 3D) and feature plot (Fig. 5A) show that *Dcx* expression was restrained to s-mNB and to clusters

A *RSR genes increasing with neurogenesis*



B *RSR genes decreasing with neurogenesis*

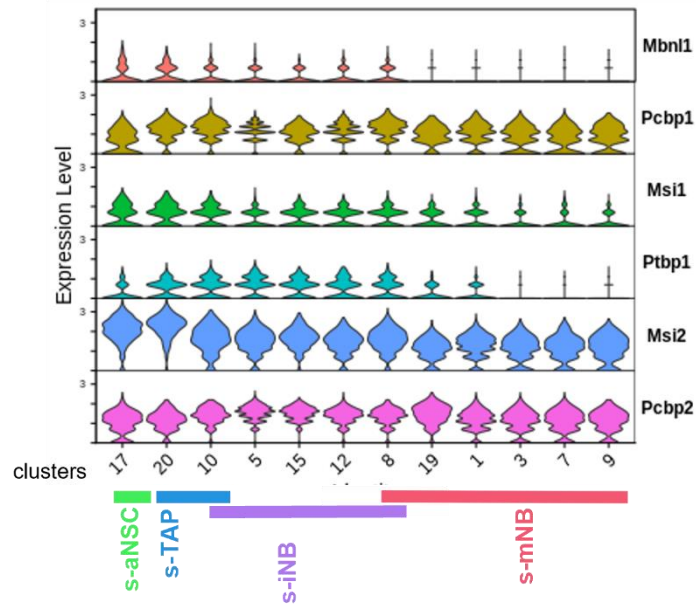


Figure 4: Expression of RSR genes in scRNA-seq neurogenic clusters. Violin diagrams illustrating the expression of the RSR genes increasing (**A**) or decreasing (**B**) with neurogenesis.

related to s-iNB in which it increased consistently with the hierarchical ordering defined above. Variations in *Dcx* expression among iNB-related clusters let us to analyse separately *Dcx*^{low} and *Dcx*^{high} cells. The ratios of numbers of cells per cluster indicated a greater recovery of *Dcx*^{low} cells as compared to *Dcx*^{high} cells in s-iNB related clusters from irradiated brains (Fig. 5B), reflecting their temporal ordering.

Characterization of differentially expressed genes according to the *Dcx* status in these clusters showed 588 unique genes expressed in the *Dcx*^{low} cells and 98 genes specifically expressed in the *Dcx*^{high} cells. Functional enrichment profiling using the g:Profiler software illustrates biological differences between both populations : genes related to Metabolism of RNA were overrepresented in the *Dcx*^{low} cells whereas genes linked to GABAergic synapse, Neuronal System were rather overexpressed in the *Dcx*^{high} cells (Supp_data_5). Notably, 55% of *Dcx*^{high} cell specific genes were s-mNB genes (e.g. *Robo2*, *Gap43*, *Nav3*). Further analysis of RSR genes expression in function of the *Dcx* status, clearly confirmed that progressive transcriptomic changes occurs between *Dcx*^{low} and *Dcx*^{high} cells (Fig. 5C, D). However, RSR gene profiles of *Dcx*^{low} cells in clusters related to s-iNB were obviously different from that related to both s-TAP and s-NSC, and that of *Dcx*^{high} cells from that of s-mNB. Similar results were obtained with cells from irradiated brains (Fig. S6).

These data clearly show that the clusters related to s-iNB contained cells engaged in neuronal differentiation that are molecularly distinct from the other types of SVZ neurogenic cells already characterized. This suggest that s-iNB correspond to a new type of cycling neurogenic progenitors progressively engaging in neuronal differentiation.

We next took advantage of the DCX-CreERT2::CAG-floxed-eGFP mice model, allowing the expression of eGFP in cells expressing *Dcx* after the administration of Tamoxifen to sort eGFP⁺CD24⁺EGFR⁺ cells corresponding to *Dcx*^{high}iNB and eGFP⁻CD24⁺EGFR⁺ cells containing the *Dcx*^{low}iNB to distinguish further these two populations at the functional level. As shown in Fig. 6A and B, recombinant eGFP⁺iNB exhibited a clonogenic potential and a rate of population doublings quite similar to eGFP⁻iNB and total iNB, whereas eGFP⁺ mNB did not show clonogenic potential and did not proliferate at long-term *in vitro*. Moreover, we showed that both eGFP⁺iNB and eGFP⁻iNB have the capacity to generate the three neural lineages, neurons, astrocytes and oligodendrocytes, when plated for 5–7 days in the appropriate differentiation media (Fig. 6C), similarly as s-iNB (Fig. 1C).

By contrast, when eGFP⁺iNB were transplanted into the brain of C57Bl/6J mice, no eGFP⁺ cells persisted at long-term (5 weeks), suggesting that the *in vivo* plasticity and regenerative properties of s-iNB were rather associated to *Dcx*^{low}iNB (Fig. S7).

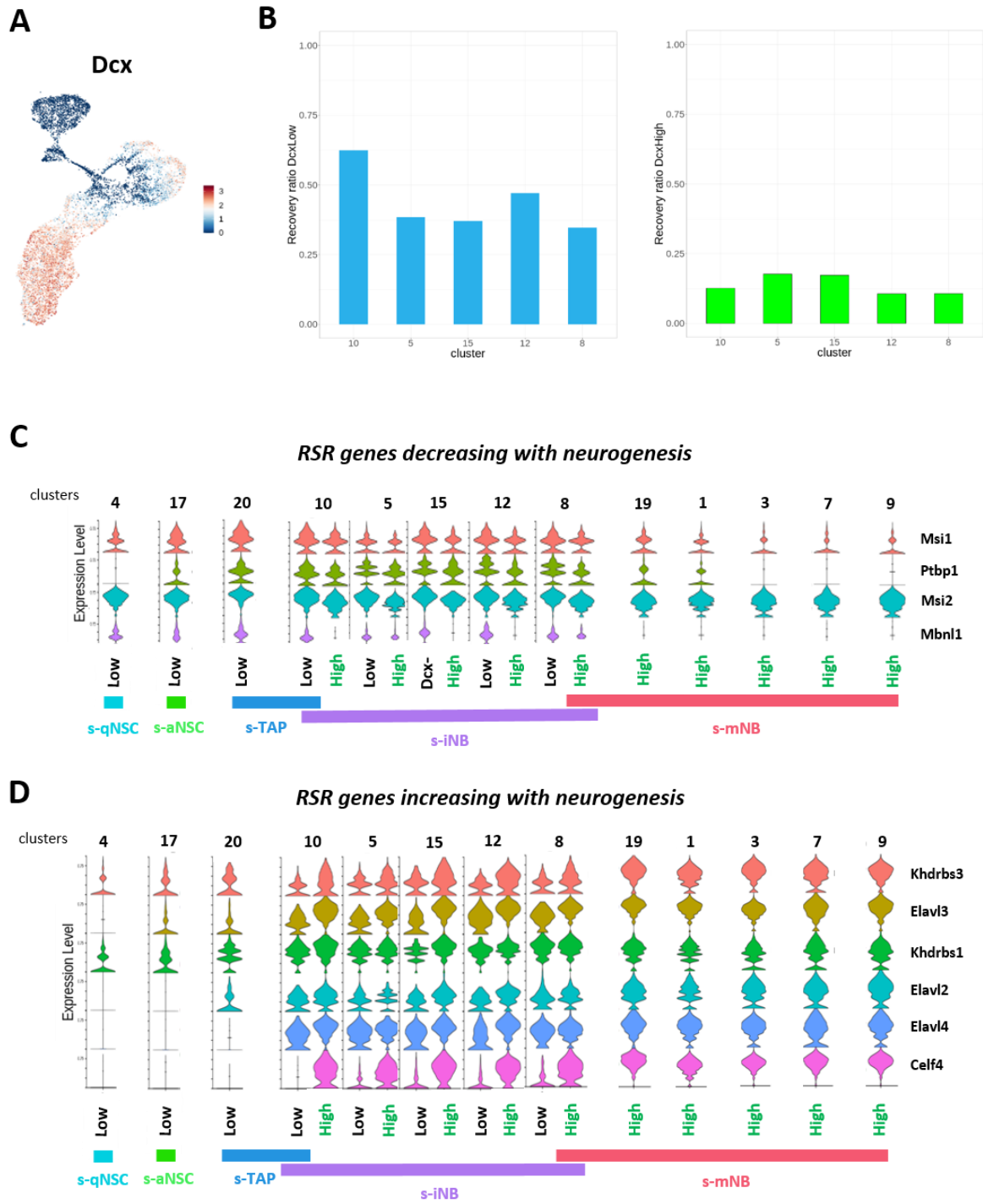


Figure 5: *Dcx* expression in the neurogenic cell clusters. (A) Feature plot. **(B)** Barplot representations of the recovery ratios of *Dcx*^{low} (left) and *Dcx*^{high} (right) in the iNB clusters of the irradiated brains, calculated as in Figure 3K. **(C-D)** Violin diagrams illustrating the expression level of RSR genes decreasing **(C)** and increasing **(D)** with neurogenesis in *Dcx*^{low} and *Dcx*^{high} in neurogenic cell clusters.

Discussion

This study bridges the cellular and molecular characterizations of SVZ neural progenitor populations. We combined the transcriptional profiling using DNA microarrays of SVZ cells that were sorted by an efficient FACS strategy¹⁹ and large-scale scRNAseq to decipher the progressive molecular and cellular changes involved in SVZ neurogenesis. Our model of regeneration of the neurogenic niches after brain irradiation²⁰ allowed a unique way to determinate the sequential regeneration of the different types of neurogenic cell clusters identified by scRNAseq that were precisely characterized using the respective molecular signatures of sorted-SVZ cells, providing new insights onto the progression of SVZ neurogenesis. We show that iNB is an abundant population of cycling progenitors, which are more advanced towards neuronal differentiation than TAP, while retaining unexpected stem properties unlike mNB. We suggest that major splicing regulations in iNB might be critical for the final commitment to the neuronal fate.

Our results constitute a valuable resource for delineating the molecular transitions occurring during neurogenesis, that are orchestrated by numerous differentially expressed genes and alternative splicing variants. The transition from qNSC to aNSC has been abundantly investigated in the literature^{15,32}, but the transcriptional shift leading to the differentiation of neural progenitors into neuroblasts has not been thoroughly analysed to date. We showed that it occurs in immature neuroblasts, which form a relatively abundant subpopulation of SVZ cells, which exhibit specific transcriptional features distinguishing them from TAP and mNB.

Consistently with previous works showing that a subpopulation of newly generated neurons continues to divide in the SVZ^{41,42}, we formerly described the isolation of s-iNB as a subset of cycling SVZ cells that expressed both CD24, a neuroblast marker, and EGFR, a marker of cycling progenitors¹⁹⁻²¹. This was consistent with prior findings describing a subset of neuroblasts co-expressing ASCL1 and DCX or CD24^{low} expressing low levels of EGFR in the adult SVZ^{13,39,43}. Here, we evidenced that s-iNB comprise a molecularly distinct population of cycling cells at the transition between TAP and mNB, and exhibiting molecular characteristics of both these cell types.

The capacity of neuroblasts to reorient towards the glial lineage in pathological contexts have been reported previously⁴⁴⁻⁴⁶. Consistent with the molecular findings showing that s-iNB kept transcriptional features of NSC and TAP, we showed that s-iNB also kept *in vitro* and *in vivo* a regenerative potential similar to that of s-aNSC and s-TAP. Importantly, this may also include the capacity to dedifferentiate *in vivo* and generate NSC as suggested by the detection of GFAP-positive engrafted cells persisting in the SVZ.

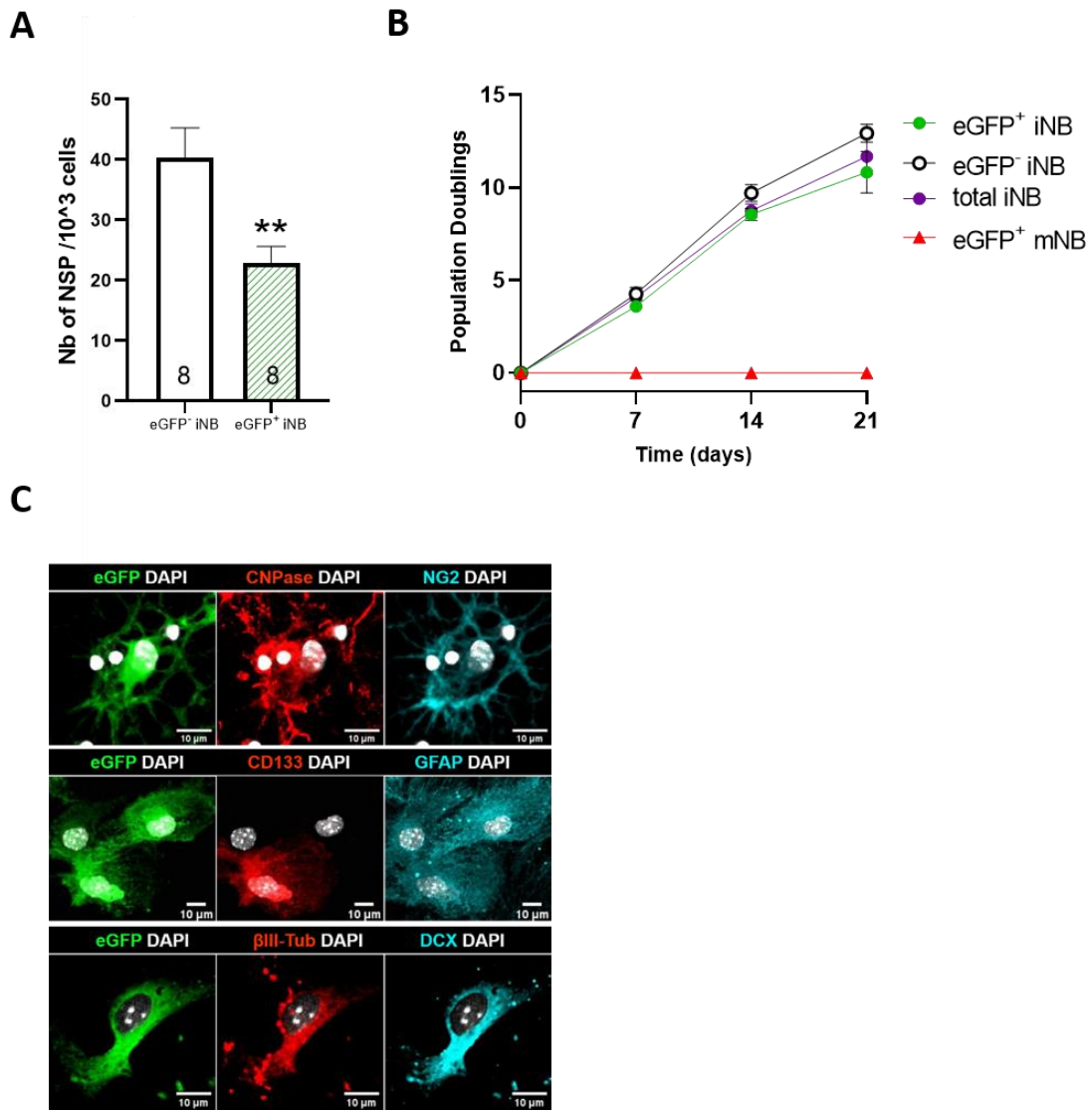


Figure 6: Plasticity of *Dcx*^{High} iNB in vitro. (A) Clonogenic potential of FACS-isolated eGFP+iNB and eGFP-iNB, and recombinant eGFP+mNB isolated from DCX-CreERT2::CAG-floxed-eGFP mice, 7 days after the first injection of tamoxifen. (B) Population doublings (PD) of FACS-isolated eGFP+iNB and eGFP-iNB, eGFP+mNB cells and total iNB cells (regardless of eGFP status). No statistical difference was found in the growth rate of the different isolated populations. (n = 8) (C) Representative images of immunofluorescence of freshly sorted eGFP+iNB cells cultured in either oligodendrocyte, or astrocyte, or neuronal differentiation medium, and stained for NG2 and CNPase, GFAP and CD133, βIII-Tubulin and DCX, respectively. Scale: 10 μm.

Interestingly, s-iNB corresponded to several scRNAseq clusters, which were not clearly characterized in the literature. Our model of SVZ regeneration established the hierarchical ordering of these clusters, in which we showed progressive molecular changes leading to the differentiation into mature neuroblasts. This includes the increase in *Dcx* expression. *Dcx*^{high} cells in these clusters have transcriptional features confirming they are more engaged in the

differentiation than their Dcx^{low} counterparts. Importantly, we showed that Dcx^{high} and Dcx^{low} cells in these clusters remained molecularly distinct from both TAP and mNB. We thus propose a revision of the current model of SVZ neurogenesis by introducing iNB or D cells, as highly cycling progenitors that undergo progressive neuronal differentiation but retain multipotency. D cells could be further divided in two subclasses of cells in function of their progression into the neuronal differentiation process: D1 cells corresponding to Dcx^{low} iNB immediately succeeding the stage C (TAP) and preceding D2 cells, corresponding to Dcx^{high} iNB, and finally the stage A (mNB). Importantly, we showed that both D1 and D2 cells retained transcriptomic features differentiating them from both TAP and mNB, whereas only D1 cells retained a regenerative potential both *in vitro* and *in vivo*.

One of the most important findings of this study is the first characterization of AS events and RSR expression variations occurring along with neurogenesis. It is now established that AS events are known to play important roles in neural cell differentiation, neuronal migration, synapse formation, and brain development^{27,30,47–49}. Neurons are characterized by a pervasive use of alternative exons^{50,51}. Consistently, we showed a dramatic increase in DSG at the transition between s-iNB and s-mNB. These alternative splicing events are clearly related to the major changes in RNA splicing regulators (RSR) expressions occurring in these cells. Indeed, we identified RSR genes whose expression increased with neurogenesis while others that decreased with neurogenesis. Some groups of genes were upregulated in s-aNSC, s-TAP, such as *Msi1* and *Msi2* consistently with their known role in maintenance and renewal of stem cells^{52–54}, while some others were upregulated in s-mNB, such as *Elavl3* and *4*, known as positive regulators of neuronal differentiation RNA sequences^{54,55}. Interestingly, both groups of RSR genes were overexpressed in clusters related to s-iNB, which undoubtedly distinguished these cells from both s-TAP and s-mNB and confirmed that molecular switches important for neuronal differentiation occurred in D cells.

Further analysis of scRNAseq clusters showed that these transcriptomic switches occurred sequentially from D1 cells to D2 cells. Indeed, the expression of *Elavl4* progressively increased from the Dcx^{low} iNB/D1 cells to the Dcx^{high} iNB/D2 cells fractions, confirming their progressive commitment into neuroblasts and overall the validity of new stages in the model of SVZ neurogenesis we propose. Strikingly, the splicing repressor, *Ptbp1*, was expressed in D1 cells at levels similar to those in s-aNSC and s-TAP, but decreased in D2 cells, and was undetectable in mature neuroblasts. These data suggest that expression of *Ptbp1* may play an important role in maintaining the regenerative properties in D1 cells, which should be further investigated.

Our study has been performed on cells collected from the SVZ the lateral walls of the ventricles of young adult mice. The transcriptional signatures we provide here may thus be useful for further characterization of neurogenic cells present in the septal wall of the SVZ ¹⁸.

To conclude, we have characterized the molecular features of iNB/D cells, a relatively abundant population in the adult SVZ that kept unexpected plasticity and multipotency that persist in the aged brain. They may thus represent a new target in regenerative medicine. We have shown that these cells undergo major transcriptomic changes involving AS and associated to switches in RSR genes expression. Dysregulations of many of these RSR genes have been involved in cancer and neurodegenerative diseases ⁵⁶. Further characterization of iNB/D cells using the tools we developed may be useful to determine the potential therapeutic targeting of these cells in various brain pathologies.

Acknowledgments

We thank V. Ménard for irradiation, C. Devanand and C. Duwat for their contribution for animal experiments and G. Piton for 10x single cell library preparations. We are grateful to Marie-Justine Guerquin, Pierre Fouchet, and the ARTBIO platform (Université Paris 6) for helpful discussions and assistance in bioinformatics analyses.

B.C has a fellowship from ARSEP (Fondation pour l'Aide à la Recherche sur la Sclérose en Plaques). This work was supported by grants of IRBIO (Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives, CEA) and Electricité de France (EDF). The funders have no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Author contributions

Corentin Bernou: Collection and assembly of data, data analysis and interpretation, manuscript writing.

Marc-André Mouthon: Collection and/or assembly of data.

Mathieu Daynac: Collection and/or assembly of data.

Vilma Barroca: Intracerebral neural progenitor grafting in mouse models.

Sébastien Couillard-Despres: for DCX-CreERT2:CAG-CAT-eGFP mice.

Nathalie Dechamps: Cell sorting by flow cytometry.

Léa Bellenger: Analysis of scRNAseq datasets.

Alexandra Chicheportiche: Collection and assembly of data, conception and design, data analysis and interpretation, manuscript writing.

François D Boussin: Supervision of the study, conception and design, financial support, data analysis and interpretation, manuscript writing.

STAR★Methods

KEY RESSOURCES TABLE

REAGENT or RESSOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
Antibodies		
PE-rat Anti-mouse CD24 (clone 1/69)	BD Biosciences	Cat#307567;RRID:AB_2034001
FITC-rat Anti-mouse CD15 (clone MMA)	BD Biosciences	Cat#340703; RRID:AB_400103
BV421-mouse Anti-human CD15 (Clone W6D3)	BioLegend	Cat#323039; RRID:AB_2566519
Alexa647-conjugated epidermal growth factor (EGF) ligand (clone 30H45L48)	ThermoFisher Scientific	Cat#MA7-00308-A647
Goat Anti-GFP	Abcam	Cat#ab6673
Rabbit Anti-GFP	Abcam	Cat#ab290
Mouse Anti-mouse O4 (clone 81)	Merck Millipore	Cat#MAB345
Rabbit Anti-mouse NG2	Merck Millipore	Cat#AB5320
Goat Anti-mouse Dcx C-18	Santa Cruz	Cat#sc-8066
Rabbit Anti-mouse Dcx	CellSignaling	Cat#4604
Rabbit Anti-mouse Tubulin β 3 (TUBB3)	Covance	Cat#PRB-435P
Mouse Anti-mouse Gfap (clone GA5)	Merck Millipore	Cat#MAB3402
Rabbit Anti-mouse Gfap	Merck Millipore	Cat#G9269
Rat Anti-CD133 (clone 13A4)	Merck Millipore	Cat#MAB4310

Mouse Anti-mouse CNPase (clone 11-5B)	Merck Millipore	Cat#MAB326
Goat Anti-mouse Olig2	Biotechne	Cat#AF2418
Mouse Anti-mouse NeuN (clone A60)	Merck Millipore	Cat#MAB377
Alexa Fluor 594_ Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody	ThermoFisher Scientific	Cat#A21203
Alexa Fluor 488_ Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody	ThermoFisher Scientific	Cat#A21202
Alexa Fluor 647_ Donkey anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody	ThermoFisher Scientific	Cat#A32787
Chemical, peptides, and recombinant proteins		
Albumin Bovine Serum 10%	Merck Millipore	Cat#9048-46-8
Percoll	Merck Millipore	Cat#GE17-0891-01
DPBS w/o calcium w/o magnesium	ThermoFisher Scientific	Cat#12559069
NeuroCult Basal medium	STEMCELL Technologies	Cat#05700
Heparin Solution	STEMCELL Technologies	Cat#07980
Epidermal Growth Factor Protein, human recombinant	Merck Millipore	Cat#GF144
Fibroblast growth Factor basic, human recombinant	Merck Millipore	Cat#GF003AF
Poly-L-ornithine solution	Merck Millipore	P4957
Poly-D-lysine solution	Merck Millipore	25988-63-0
DMEM:F12 medium	ThermoFisher Scientific	31331028
B-27-Supplement Minus Antioxydants (AO)	ThermoFisher Scientific	Cat#10889038
Fetal Bovine serum	ThermoFisher Scientific	Cat#10082139
D-(+)-Glucose	Merck Millipore	Cat#G7021
Sodium bicarbonate	Merck Millipore	Cat#S5761
HEPES sodium salt	Merck Millipore	Cat#H3784
Insulin from bovine pancreas	Merck Millipore	Cat#I1882
Apo-Transferrin human	Merck Millipore	Cat#T2252

Progesterone	Merck Millipore	Cat#P6149
Putrescine	Merck Millipore	Cat#P7505
Sodium selenite	Merck Millipore	Cat#S9133
Papain	Worthington Biochemical	Cat#LK003150
Tamoxifen	Sigma Aldrich	Cat#T5648
Corn oil	Sigma Aldrich	Cat#C8267
Solution de paraformaldéhyde, 4 % en PBS	ThermoFisher Scientific	Cat#15670799
Triton X-100	Sigma Aldrich	Cat# 11332481001
Propidium iodide	Sigma Aldrich	Cat#P4170
Hoechst 33258	ThermoFisher Scientific	Cat#H3569
Critical Commercial Assays		
Red blood Cell lysis solution	Milteny Biotec	Cat#130-094-183
Dead Cell Removal Kit	Milteny Biotec	Cat#130-090-101
RNeasy Micro Kit	Qiagen	Cat#74004
RNase-Free DNase Set	Qiagen	Cat#79254
AgilentHigh Sensitivity DNA Kit	LabChip	Cat#5067-4626
Chromium Next GEM Chip G Single Cell Kit	10X GENOMICS	Cat#PN-1000127
Dual Index Kit Plate TT Set A	10X GENOMICS	Cat#PN-1000215
Deposited data		
List of Significantly Upregulated Genes in All Identified Cell Types	Zywitsa et al., 2018	TableS1
List of Significantly Upregulated Genes in Subclusters, Related to Figures 3 and S4.	Zywitsa et al., 2018	TableS3
B cells vs. astrocytes: DE genes and GO terms	Cebrian et al. 2021	Supplementary file 1
scRNAseq datasets from the University of California Santa Cruz Cell Browser	Cebrian et al. 2021	https://svzneurogeniclineage.cells.ucsc.edu .
List of cluster gene sets and GO terms	Llorens et al. 2015	GEO :GSE67833 1-s2.0-S193459091500301X-mmc3.xls
Softwares		
Seurat v4.1.1	Hao, Hao et al., 2021	https://satijalab.org/seurat/
Tidyr	Wickham and Girlich, 2022	https:// github.com/tidyverse/tidyr
RStudio	RStudio	https://www.rstudio.com/

Transcriptome Analysis Console (TAC 4.0)	ThermoFisher Scientific	<ul style="list-style-type: none"> - Ritchie ME et al. (2015) limma powers differential expression analyses for RNAsequencing and microarray studies. Nucleic Acids Research 43(7):e47. - Romero JP et al. (2016) EventPointer: an effective identification of alternative splicing events using junction arrays. BMC Genomics 17:467.
Other		
70µm cell strainer	ThermoFisher Scientific	Cat#10788201
2.5µl, Model 62 RN SYR, Small Removable ND, 22s ga, 2 in, point style 3	Hamilton	Cat#87942
Small Hub 33G	Hamilton	Cat#074750

EXPERIMENTAL MODEL AND SUBJECT DETAILS

Mice

All experimental procedures complied with European Directive 2010/63/EU and the French regulations. The protocols were approved by our institutional ethical committee (CEtEA 44) and authorized by the « Research, Innovation and Education Ministry » under registration number APAFIS#25978-2020061110358856 v1. Adult C57BL/6J were obtained from Janvier Laboratories. β -actin:eGFP (Okabe et al., 1997) and DCX-CreERT2::CAG-CAT-eGFP mice kindly given by Pr Couillard-Despres Sebastien⁵⁷. Experiments were performed with animals aged 8 and 10 weeks. Tamoxifen (TAM, T-5648, Sigma-Aldrich) was dissolved in corn oil (C-8267, Sigma-Aldrich) at a stock concentration of 40 mg/ml. To analyse the expression of the *Dcx* reporter gene, 20 mg TAM/g body weight was administered twice daily by gavage over a period of five consecutive days.

Cell sorting

Lateral ventricle walls of the SVZ were microdissected and dissociated as previously described¹⁹⁻²¹ with the modification that cells were centrifuged at 250g for 20 min at 4°C without brake on a 22% Percoll gradient (GE Healthcare) to remove myelin prior to single cell suspension labelling. The antibodies to distinct cell populations were anti-CD24 phycoerythrin [PE]-conjugated (Rat IgG2b; BD Biosciences, 1:50, RRID:AB_2034001), CD15/LeX fluorescein isothiocyanate-[FITC] conjugated (clone MMA, mouse IgM; BD Biosciences, 1:50, RRID:AB_400103), CD15/LeX- Brilliant violet-421-[BV421] (Mouse IgG1, κ ; BioLegend, 1:50, RRID:AB_2566519) and Alexa647-conjugated epidermal growth factor (EGF) ligand (Clone 30H45L48, Thermo Fisher Scientific, 1:200, RRID:AB_2662334). Cells were gated following the fluorescence minus one (FMO) control. Immediately prior to FACs sorting, propidium iodide (PI) or Hoechst 33258 was added to a final concentration of 1 μ g/ml to label the dead cells. Cells were sorted on an INFLUX cell sorter equipped with an 86 μ m nozzle at 40 psi (BD Biosciences). All the data were analysed using FlowJo software (Tree Star, Ashland, OR).

Cell culture expansion and differentiation

Clonogenicity assay and population doublings: FACs-purified populations were collected in NeuroCult medium complemented with the proliferation supplement (STEMCELL

Technologies), 2 µg/mL heparin, 20 ng/mL EGF and 10 ng/mL FGF-2, at a density of 1×10^3 cells/well in 96-well tissue culture plates coated with poly-D-lysine (Merck Millipore).

Five days after plating, the neurospheres were counted to determine the clonogenicity of each cell population.

Neurospheres were then mechanically dissociated and sub-cultured in 24-well plates over 3 weeks to measure the population doublings at each passage (1 passage/week)..

Differentiation assay: just after sorting, cells were placed on Poly-L-ornithine (P4957, Merck Millipore) coated 24-well culture plates at 40,000 cells/ml in DMEM:F12 with several supplementation according to the lineage: astroglial : 2% B27 MAO (minus antioxidant, Thermo Fisher Scientific) and 2% fetal bovine serum (10082139, Thermo Fisher Scientific), oligodendroglial : 10 ng/mL FGF-2, a defined hormone mix including Glucose (G-7021, Sigma-Aldrich 50mg/l) /NaHCO₃ (S-5761, Sigma-Aldrich, 10mg/l) / HEPES (H-3784, Sigma-Aldrich, 1.3mM), insulin (I-1882, Sigma-Aldrich, 22.5mg/l), Apo transferrin (T-2252, Sigma-Aldrich, 0.09g/l), progesterone (P-6149, Sigma-Aldrich, 18µM), putrescine (P-7505, Sigma-Aldrich, 8.7mg/l), and sodium selenite (S-9133, Sigma-Aldrich, 4.7µM), and neuronal : 2% B27 MAO. Cultures in hypoxic conditions (4%O₂) at 37°C for 5 (oligodendroglial or astrocytic differentiations) or 7 days (neuronal differentiation).

Transplants

Three injections of 1 µl of freshly eGFP⁺ cells from β-actin:eGFP or DCX-CreERT2:CAG-CAT-eGFP mice were performed in the striatum at proximity of SVZ of wild-type C57Bl6/J recipient mice using the following coordinates: (1) AP, 0.0; L, 1.4; V, -2.1; (2) AP, 0.5; L, 1.1; V, -2.2; (3) AP, 1.0; L, 1.0; V, -2.5mm relative to bregma, as described before by Codega et al. 2014. For CD1 mouse transplants with freshly eGFP⁺ cells from DCX-CreERT2:CAG-CAT-eGFP mice the injection coordinates were redefined from the ratio of the distance bregma to lambda for the C57Bl6/J model over the distance bregma to lambda for the CD1 model.

The transplantations were performed using a small animal stereotaxic apparatus (Kopf model 900) with a 2.5 µl Hamilton syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland). Recipient mice were sacrificed 5 weeks after transplantation.

Tissue processing, immunolabeling and microscopy

Deeply anaesthetized animals received a transcardial perfusion of 4% paraformaldehyde. Brains were post-fixed overnight in 4% PFA and cryoprotected in 30% sucrose/PBS. Serial coronal cryostat sections were made at 14µm of thickness (Leica CM3050S). For each brain, all the sections from the hippocampus to olfactory bulb were deposited on a set of 14 slides with a 150µm step. Sections underwent permeabilisation in phosphate buffered saline (PBS) containing 0.3% Triton X100 and 1% of Bovine Serum Albumin 1h at room temperature. Sections were incubated with primary antibodies PBS containing 0.1% Triton X100 overnight at 4°C. Secondary antibodies used were Alexa 594, 488 and 647 and were applied at 1:400 (Thermo Fisher Scientific) for 2h at room temperature. Each staining was replicated in at least 3 slides from different mice.

Cells were fixed with 4% PFA for 15 minutes at room temperature and rinsed three times with PBS. Staining was performed as above except that antibodies were applied for 2h at room temperature.

The following antibodies used were: rabbit anti-eGFP (Abcam, ab290, 1:300), goat anti-GFP (Abcam, ab6673, 1:300), mouse anti-O4 (Millipore, MAB345, 1:100), rabbit anti-NG2 (Millipore, AB5320, 1:100), goat anti-Olig2 (R&D, AF2418, 1:200), mouse anti-NeuN (Millipore, MAB377, 1:100), rabbit anti-Dcx (Cell Signaling, 4604, 1:400), goat anti-Dcx (Santa Cruz, sc-8066, 1:100), mouse anti-GFAP (Millipore, MAB3402, 1:400), rabbit anti-Gfap (Sigma-Aldrich, G9269, 1:400), mouse anti-CNPase (Millipore, MAB326, 1:100), rabbit anti-β-III tubulin (Covance, PRB-435P, 1:200), rat anti-CD133 (Millipore, MAB4310, 1:100).

Brightfield and fluorescent images were captured through Plan Apo X20/ Numerical Aperture (NA):1.3 oil objective and Plan Apo X40/ NA:0.75 dry objective using hybrid detection technology on a laser scanning confocal (Leica Microsystems SP8), Nikon A1R confocal laser scanning microscope system attached to an inverted ECLIPSE Ti (Nikon Corp., Tokyo, Japan)

SVZ irradiation

Animals were anesthetized with isoflurane (3% induction for 5 minutes) and 1.5-2% when the mice were placed in Small Animal Radiation Research Platform (SARRP, XSTRAHL, LTD Company). First, a Cone Beam Computer Scanning (CBCT) was performed to target the SVZ and to set up the treatment planning system. Mice were placed on their stomach and two fields (-45° and + 45°) were used to be homogeneous on the irradiation target. The size of the irradiation field was adapted with a multivariable collimator 10*6 mm. The SVZ received a 4Gy dose distributed 50% by each beam and the dose output was around 3.64 Gy/min depending

of the size of the field. The X-ray configuration was 220 kV, 13 mA and 0.15 mm of Copper in these conditions.

Single cell library preparation for single cell RNA sequencing

SVZ lateral ventricle walls were dissected from two non-irradiated mice brains (2 month old) and two 5 days post-irradiation 4Gy-irradiated mice brains (2-month old).

Protocol of SVZ digestion with Papain (Worthington, LK003150) to obtain single cell suspensions were strictly identical to those performed in the whole genome microarray experiment described above, including the Percoll gradient step to remove myelin. Cells were resuspended in 0.04% BSA in PBS passed through a 70µm cell strainer (ThermoFisher Scientific).

Blood cells were lysed using the Red blood Cell lysis solution (Milteny Biotec, 130-094-183) and dead cell Removal using the Dead Cell Removal Kit (Milteny Biotec, 130-090-101) were performed following the manufacturer's instructions.

Single cell suspensions of two replicates of each sample (unirradiated, 4Gy) were adjusted to 2000 cells/µl and 10,000 non-irradiated cells and 6,000 irradiated cells were loaded per channel onto Chromium Next GEM Chip Single Cell kit (ref: 1000127). Library preparation was performed using the Dual Index Kit TT (ref: 1000215) according to manufacturer's recommendations (10x Genomics, Pleasanton, CA). Quality and quantification of libraries were done using the High Sensitivity DNA LabChip kit (ref: 5067-4626). Sequencing NGS Standard Illumina was carried out with the NovaSeq6000-S1 flow cell (ICM platform, Paris).

METHOD DETAILS

Whole-genome Microarrays

mRNA were isolated with the RNeasy Micro Kit with DNase treatment (Qiagen) and sample quality was controlled using the Agilent Bioanalyser. MTA-1.0 arrays (Clariom D Affymetrix technology) were performed according to the manufacturer's protocol (Thermofisher). PCA and pseudotime ordering was performed using TSCAN online user interface (Ji and Ji, 2016). The data were analysed with the freeware software Transcriptome Analysis Console (TACX) applying the RMA algorithm normalization. Functional profiling were generated using REACTOME and KEGG datasets obtained from the g.Profiler interface (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>).

Signatures of cell sorted populations were delineated using Venn diagrams comparing the five populations of neural progenitors (s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB and s-mNB) (https://bioinformatics.psb.ugent.be/cgi-bin/liste/Venn/calculate_venn.html).

Single-cell RNA control quality and analysis

ScRNA-seq data were aligned to the GRCm38 - mm10 reference genome. Data were analysed in R (version 4.1.0) using Seurat (v4.1.1). Quality control removed cells with fewer than 1200 to 1500 genes per cell (nFeatures_RNA), 2350 to 2700 UMI (nCount_RNA) and cells less than 10% mitochondrial content. Gene expression was normalized using the regularized negative binomial regression to normalize UMI count data (SCTransform) using 4000 variable features and the different samples (controls and irradiated). The features to use in the downstream integration procedure were determined using SelectIntegrationFeatures. After a pre-computed AnchorSet (FindIntegrationAnchors), the Seurat object were integrated using IntegrateData with the normalization method SCT. CellCycleScoring was applied to calculate the S.Score, G2M.Score and Phase. RunUMAP runs the Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) dimensional reduction technique using 50 PC. FindNeighbors computes the k.param nearest neighbors using dims = 1:50. Clusters of cells were identified by a shared nearest neighbor (SNN) modularity optimization bases clustering algorithm using FindClusters with the resolutions from 0.2 to 2. The resolution 1.2 that segregates cells into 33 clusters was chosen based on Clustree graph showing the relationship between clusterings at the different resolutions. UMAP plots were generated with UMAPPlot with default parameters.

The PrepSCTFindMarkers function was used to normalize gene expression for differential gene expression analysis among clusters, which was performed using FindAllMarkers on the SCT assay, with significance determined using a Wilcoxon rank sum test ($p_{val_adj} < 0.05$) and $\log(\text{Fold-Change})$ threshold of 0.1. A histogram representation of *Dcx* (ENSMUSG00000031285) expression in the clusters corresponding to astrocytes and neural progenitors allowed us to place a threshold expression at 1. Cells with an expression lower or equal to 1 correspond to *Dcx*^{Low} cells and cells with an expression strictly higher than 1 to *Dcx*^{High} cells. Then, we reapplied PrepSCTFindMarkers and FindAllMarkers to find differentially expressed genes between *Dcx*^{Low} and *Dcx*^{High} iNB.

Gene expression score

We used AddModuleScore_Ucell to score cells based on the expression of predefined specific gene lists of sorted s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB and s-mNB determined by microarrays,

using the Mann-Whitney U statistic⁴⁰. Each cell was then assigned an identity corresponding to the highest score amongst the signatures tested. Repartition of classes among clusters was visualized using the Circlize package⁵⁸.

For astrocyte and B-cell classification, we used the lists of Astrocyte and B-cell markers provided by Cebrian-Silla et al. (2021)¹⁴ to score cells from the clusters 4 and 13 between 0 (min) and 1 (max). Cells were assigned to the highest score amongst both signatures.

Gene enrichment analysis

Comparisons of the specific gene lists of s-iNB *Dcx*^{High} and s-iNB *Dcx*^{Low} were performed with Biological pathways using the g.Profiler software.

QUANTIFICATION AND STATISTICAL ANALYSIS

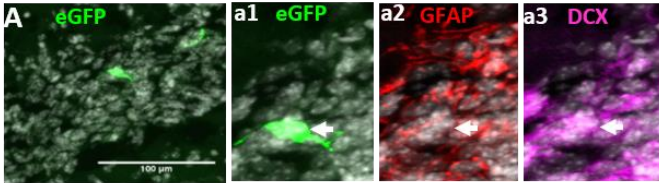
Non-parametric Mann-Whitney test was conducted using Prism 8.1.2 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, RRID:SCR_002798). The statistical significance was set at $p < 0.05$. The data are expressed as the mean \pm SEM.

DATA AVAILABILITY

The datasets generated for this article were deposited online on the ANNOTARE database (microarray experiments: accession number **E-MTAB-12265**; single-cell RNASeq aligned dataset: accession number **E-MTAB-12495**). Scripts used for analysis are available upon request. All data are available upon reasonable request.

Supplemental informations

A EGFP+ s-iNB cells in the rostral migratory stream



B Regenerative potential of eGFP+ s-iNB *in vivo*

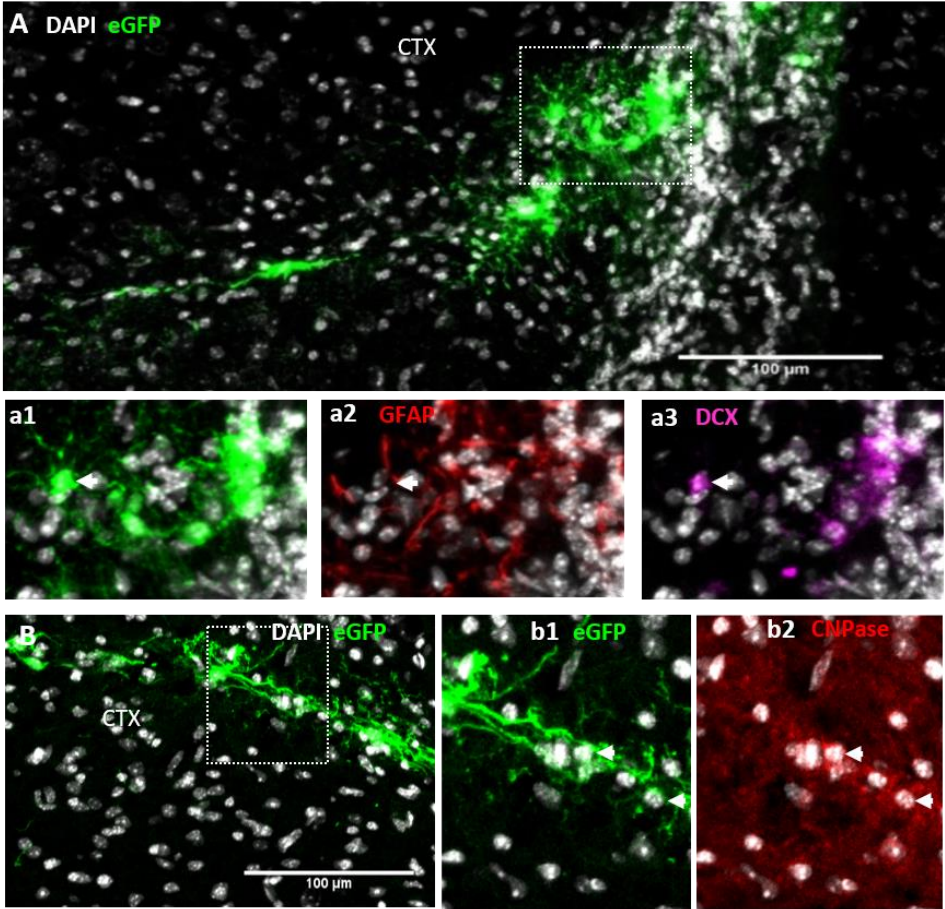


Figure S1: eGFP+ s-iNB cells in the rostral migratory stream. Immunofluorescence of mouse brains transplanted unilaterally in 3 injection points near the dSVZ/RMS with eGFP+iNB cells isolated from β -actin:eGFP mice. Transplanted brains were analysed five weeks later. **(A)** EGFP+iNB cells reached the rostral migratory stream and expressed DCX (insets A2 and A3, white arrow). Insets are high magnification panels. **(B)** EGFP+iNB cells persisting along the injection site expressing. High magnifications of the inset1 (dotted line in A) showing eGFP+ GFAP+ cells (white arrow) **(a2)** and eGFP+DCX+ cells (white arrow) **(a3)**. High magnifications of the inset2 (dotted line in B) showing eGFP+ CNPase+ (white arrow) **(b2)**. Scale bars= 100 μ m.

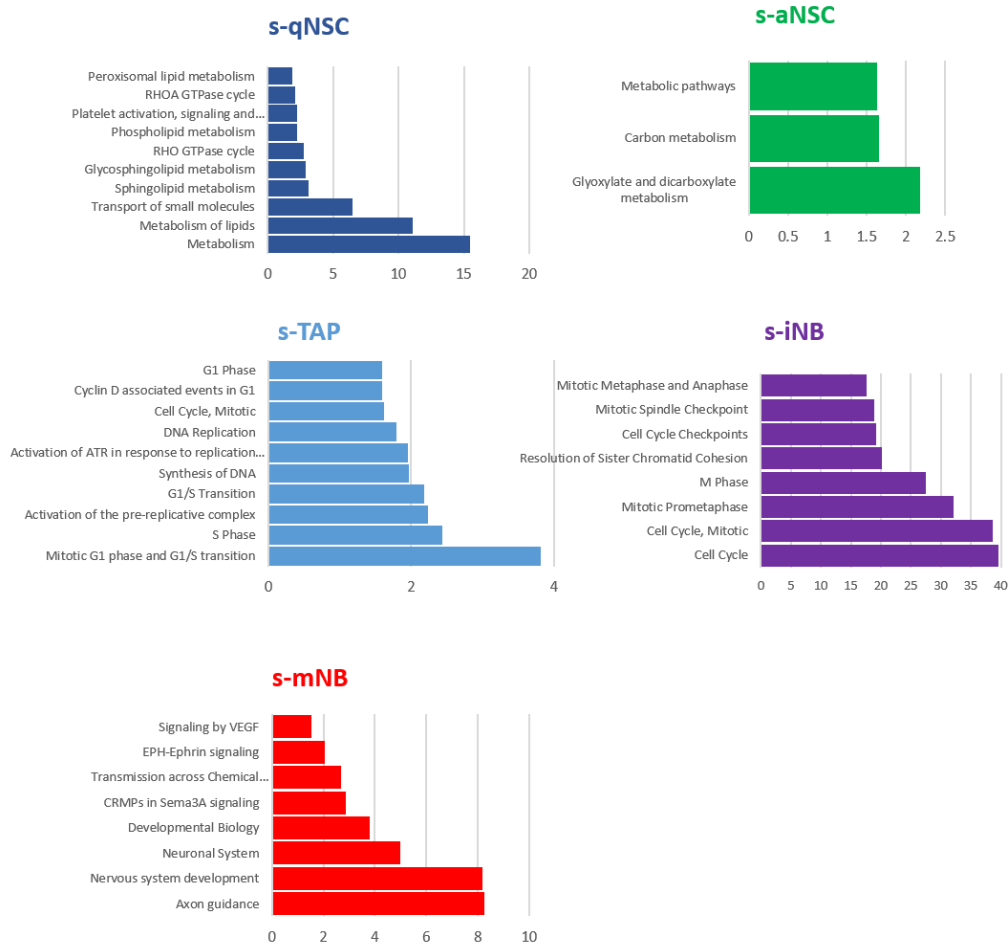
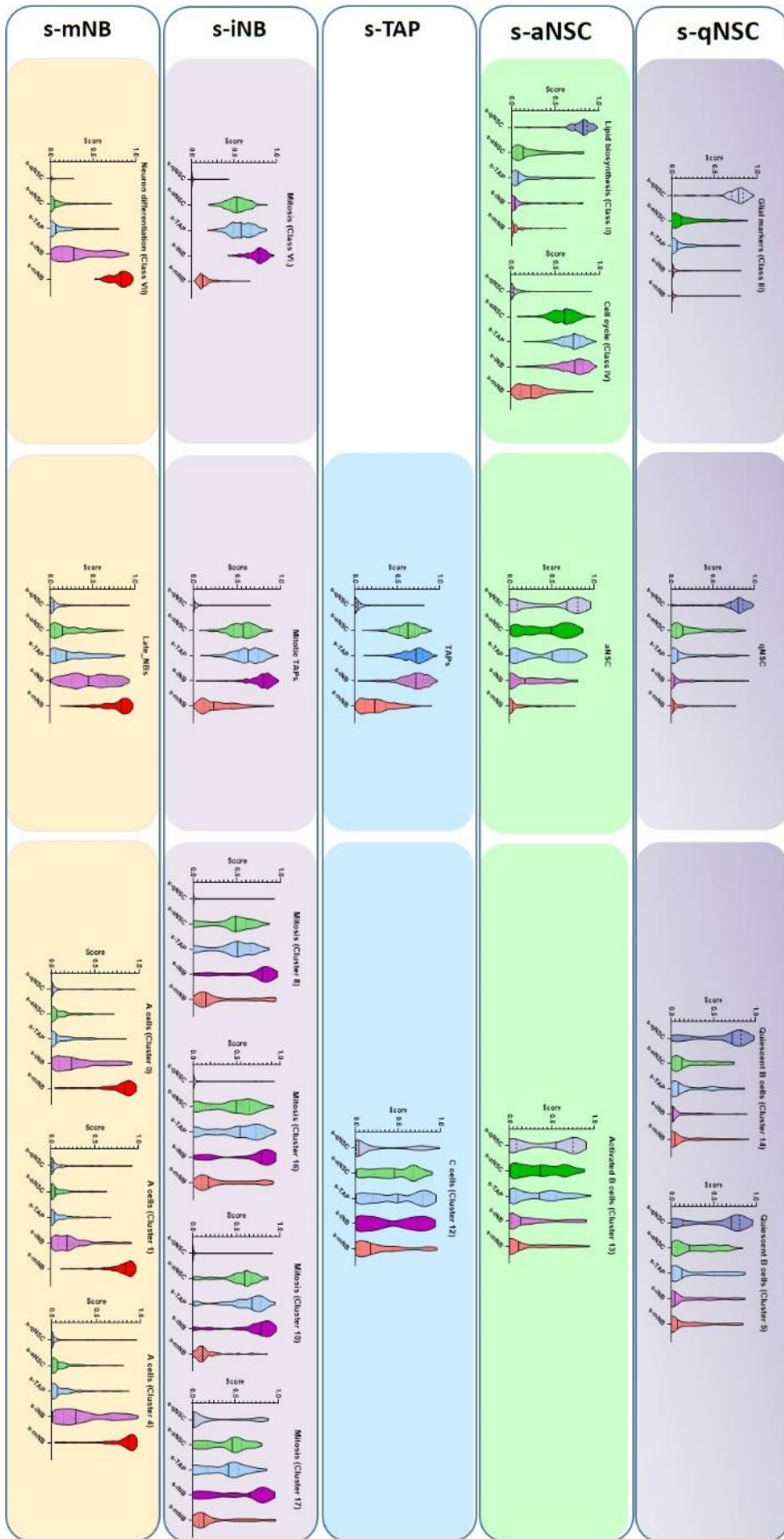


Figure S2: Functional enrichment analyses of the individual transcriptome signature of neurogenic populations. Comparisons of individual transcriptome signatures with various Gene Ontology gene sets and Biological pathways using the g:Profiler software highlight significant stage-dependant changes. Sorted-qNSCs expressed genes related to Metabolism of lipids, Transport of small molecules. Sorted-aNSC expressed genes involved in Glyoxylate and ducarboxylate metabolism. Sorted-TAP significantly displayed genes involved in Mitotic G1 phase and G1/S transition and S Phase. Sorted-iNB specifically expressed Cell Cycle and Mitotic genes in contrast to s-mNB which are characterised by the expression of Axon guidance and Nervous system development genes.

Figure S3: Correspondence between the molecular signatures of sorted neural progenitor populations in our study and available sc-RNA-seq datasets. Violin diagrams representing the expression of selected clusters from published sc-RNA-seq analysis in our Clariom microarray ^{14,17,32}. S-qNSC perfectly matched the expression of Glial markers (Class III) ³², qNSC ¹⁷ and Quiescent B cells (clusters 5 and 14) ¹⁴. In contrast, s-aNSCs poorly matched with Lipid biosynthesis (Class III) and Cell cycle (Class IV) ³², aNSC ¹⁷ and Activated B cells (Cluster 13) ¹⁴. Similarly, s-TAP poorly matched with TAPs ¹⁷ and C cells (Cluster 12) ¹⁴. S-iNB perfectly fit with Mitosis (Class VI), mitotic TAP (mTAP) (Zywitza et al., 2018) and Mitosis (Cluster 8, 10,16 and 17) ¹⁴. s-mNB overlapped genes related to Neuron differentiation (Class VII), Late NBs ¹⁷ and A cells (clusters 0, 1 and 4).



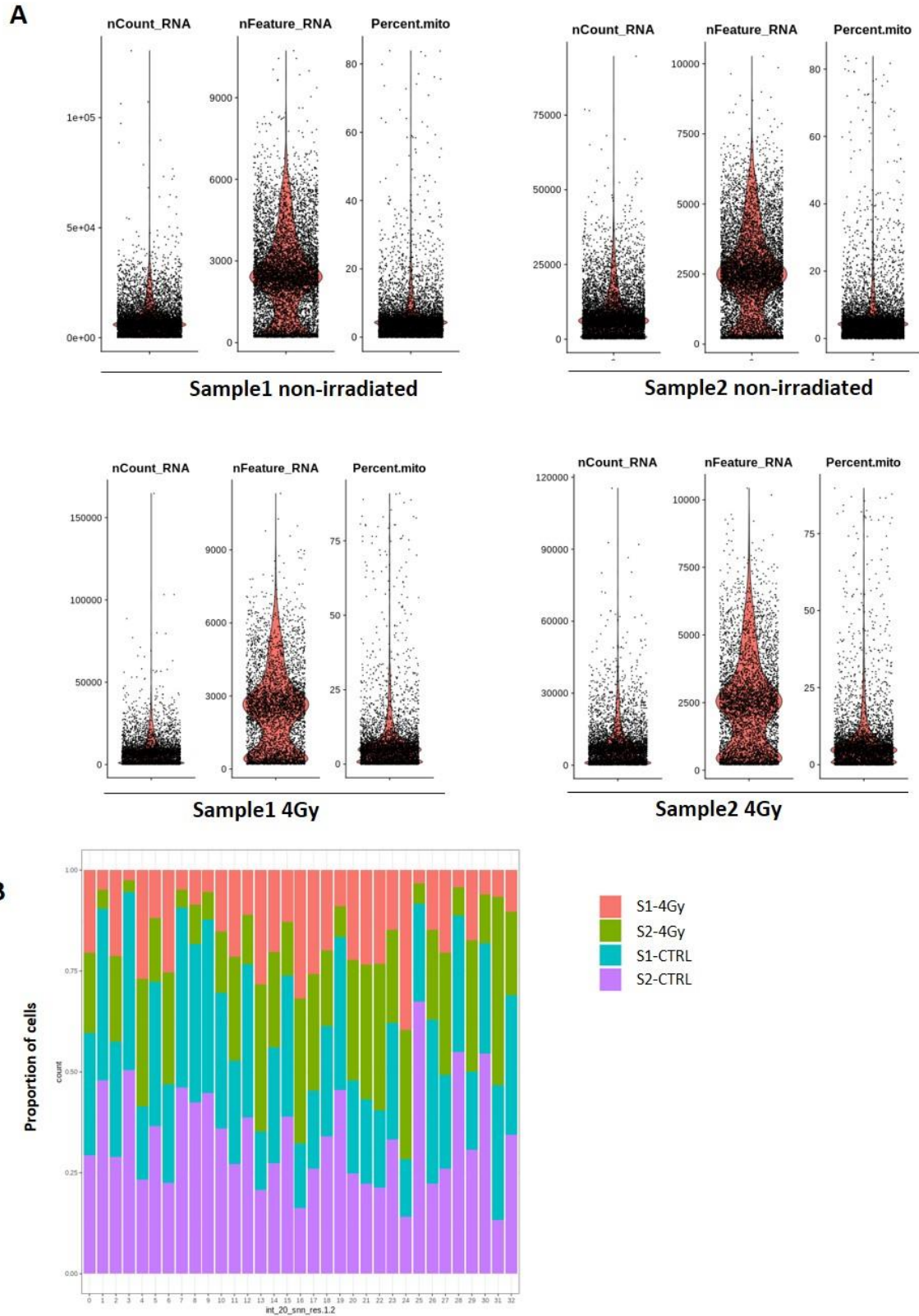


Figure S4: Quality controls of scRNA-seq on whole SVZ tissues. (A) Violin diagrams of the nCount_RNA, the nFeature_RNA and the mitochondrial percentage (Percent.mito) before applying cut-offs adapted to each non-irradiated and irradiated samples. **(B)** Proportion of cells from the 4 samples in the 33 clusters.

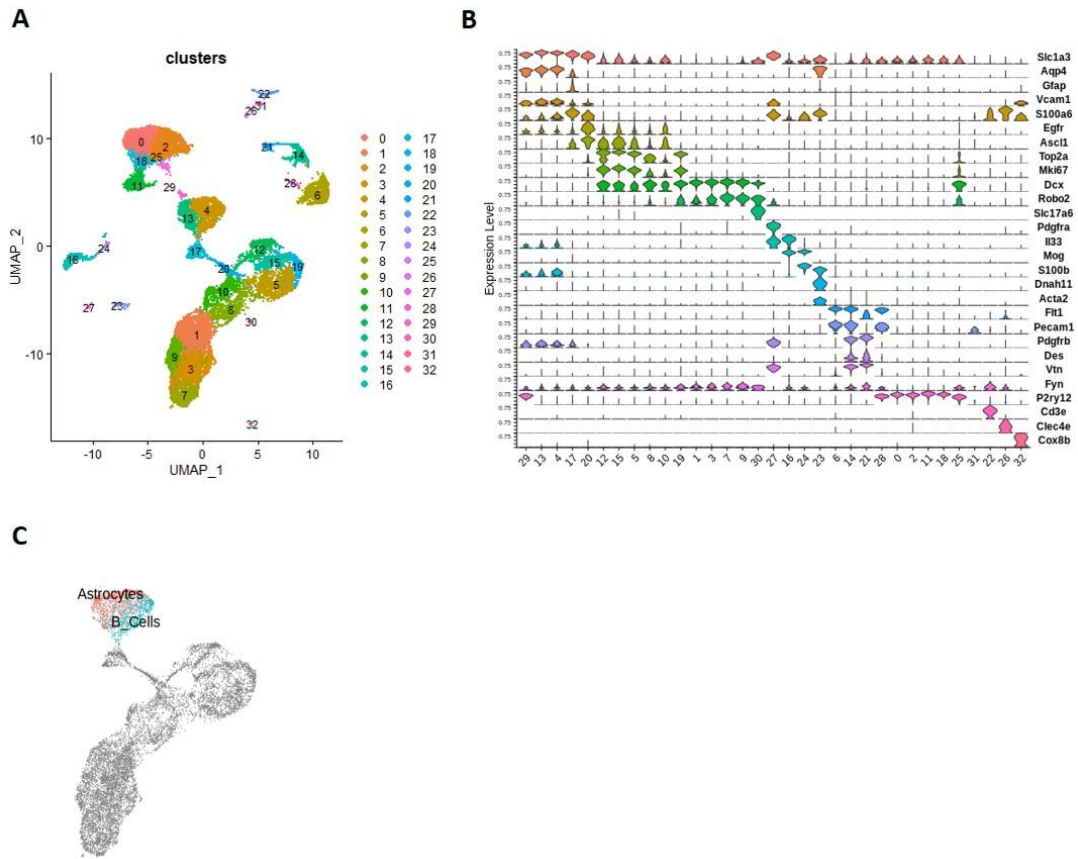


Figure S5: Annotation of sc-RNAseq clusters. (A) UMAP at the resolution 1.2 combining scRNA-seq datasets of unirradiated and 4Gy irradiated cells segregated into 33 clusters. (B) Violin diagrams illustrating the expression level of known cell markers in the 33 clusters according to the literature. (C) UMAP of top normalized UCellScore Astrocyte- and the B-cell specific genes described by ¹⁴ for cells from clusters 4 and 13 ¹⁴.

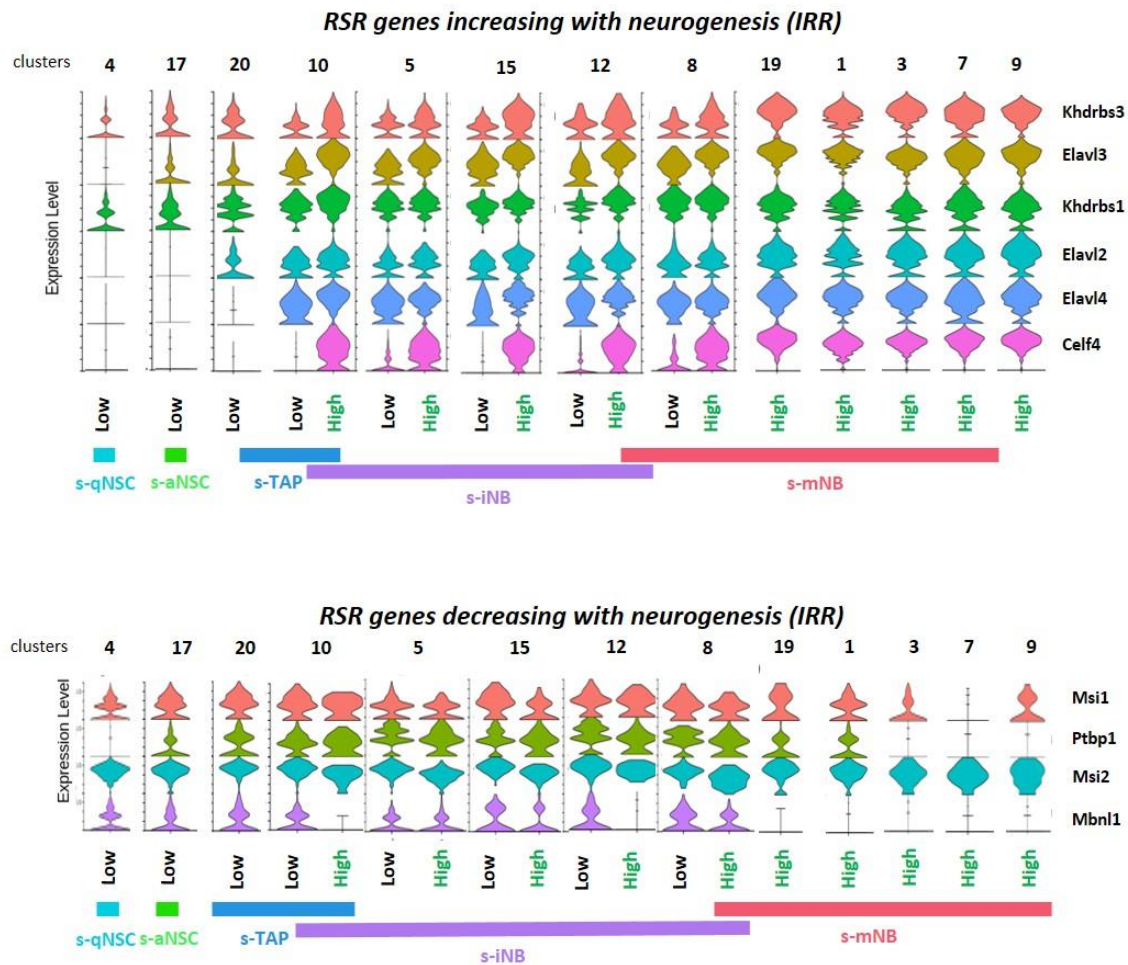


Figure S6: Expression of RSR genes in scRNA-seq neurogenic clusters in irradiated brains. Violin diagrams illustrating the expression of the RSR genes increasing (A) or decreasing (B) with neurogenesis.

		IS			SVZ		CC		OB		Total eGFP+ cells
		eGFP+ engrafted cells	Nb eGFP+ cells	%	Nb eGFP+ cells	%	Nb eGFP+ cells	%	Nb eGFP+ cells	%	
s-iNB eGFP+	Animal 1	1x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
	Animal 2	1x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
s-iNB eGFP+ /eGFP-	Animal 1	2x10 ⁴ / 8.1x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
	Animal 2	2x10 ⁴ / 8.1x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
	Animal 3	2x10 ⁴ / 8.1x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
s-mNB eGFP+	Animal 1	2x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
	Animal 2	2x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0
	Animal 3	2x10 ⁴	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0

IS: Injection Site
 SVZ: Subventricular Zone
 CC: Corpus Callosum
 OB: Olfactory Bulb

Figure S7: Transplantations of eGFP⁺s-iNB, eGFP⁻s-iNB and eGFP⁺s-mNB freshly isolated from DCX-CreERT2::CAG-floxed-eGFP mice model. Table recapitulating the immunohistological analyses of the numbers of eGFP⁺ cells in different regions in recipient C57Bl6/J mice brains, 5 weeks after transplantation.

Supp_data_1: Transcriptomic signatures of s-qNSC, s-aNSC, s-TAP, s-iNB and s-mNB (Clariom assay) and corresponding g.Profiler Gene Ontology analyses.

Supp_data_2: Differentially spliced genes (DSG) in each transition along SVZ neurogenesis.

Supp_data_3: Differentially expressed genes (DEG) among RNA splicing regulators (RSR) genes in each transition along SVZ neurogenesis.

Supp_data_4: Identification of astrocytes and qNSC among clusters 4 and 13 from our scRNAseq dataset using the transcriptomic signatures of Astrocytes and B_cells described by Cebrian et al. 2021.

Supp_data_5: Differentially expressed genes of s-iNB *Dcx*^{high} and s-iNB *Dcx*^{low} cells and functional profiling using g.Profiler.

References

1. Obernier, K., and Alvarez-Buylla, A. (2019). Neural stem cells: Origin, heterogeneity and regulation in the adult mammalian brain. *Dev. Camb.* 146. 10.1242/dev.156059.
2. Codega, P., Silva-Vargas, V., Paul, A., Maldonado-Soto, A.R., Deleo, A.M., Pastrana, E., and Doetsch, F. (2014). Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their in vivo niche. *Neuron* 82, 545–559. 10.1016/j.neuron.2014.02.039.
3. Fuentealba, L.C., Shah, J.K., Lindquist, R.A., Ihrie, R.A., Guinto, C.D., Rodas-Rodriguez, J.L., and Alvarez-Buylla, A. (2015). A Dorsal SHH-Dependent Domain in the V-SVZ Produces Large Numbers of Oligodendroglial Lineage Cells in the Postnatal Brain. *Stem Cell Rep.* 5, 461–470. 10.1016/j.stemcr.2015.08.013.
4. Merkle, F.T., Fuentealba, L.C., Sanders, T.A., Magno, L., Kessar, N., and Alvarez-Buylla, A. (2014). Adult neural stem cells in distinct microdomains generate previously unknown interneuron types. *Nat. Neurosci.* 17, 207–214. 10.1038/nn.3610.
5. Gonzalez-Perez, O., and Alvarez-Buylla, A. (2011). Oligodendrogenesis in the subventricular zone and the role of epidermal growth factor. *Brain Res. Rev.* 67, 147–156. 10.1016/j.brainresrev.2011.01.001.
6. Michael A. Hack, Saghatelian, A., Chevigny, A. de, Pfeifer, A., Ashery-Padan, R., Lledo, P.-M., and Götz, M. (2005). Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis. *Nat. Neurosci.* 8, 865–872. 10.1038/nn1479.
7. Sohn, J., Orosco, L., Guo, F., Chung, S.-H., Bannerman, P., Mills Ko, E., Zarbalis, K., Deng, W., and Pleasure, D. (2015). The subventricular zone continues to generate corpus callosum and rostral migratory stream astroglia in normal adult mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 3756–3763. 10.1523/JNEUROSCI.3454-14.2015.

8. Holmin, S., Almqvist, P., Lendahl, U., and Mathiesen, T. (1997). Adult nestin-expressing subependymal cells differentiate to astrocytes in response to brain injury. *Eur. J. Neurosci.* *9*, 65–75. [10.1111/j.1460-9568.1997.tb01354.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01354.x).
9. Nait-Oumesmar, B., Decker, L., Lachapelle, F., Avellana-Adalid, V., Bachelin, C., and Baron-Van Evercooren, A. (1999). Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate, migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination. *Eur. J. Neurosci.* *11*, 4357–4366.
10. Belenguer, G., Duart-Abadia, P., Jordán-Pla, A., Domingo-Muelas, A., Blasco-Chamarro, L., Ferrón, S.R., Morante-Redolat, J.M., and Fariñas, I. (2021). Adult Neural Stem Cells Are Alerted by Systemic Inflammation through TNF- α Receptor Signaling. *Cell Stem Cell* *28*, 285-299.e9. [10.1016/j.stem.2020.10.016](https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.016).
11. Fischer, J., Beckervordersandforth, R., Tripathi, P., Steiner-Mezzadri, A., Ninkovic, J., and Götz, M. (2011). Prospective isolation of adult neural stem cells from the mouse subependymal zone. *Nat. Protoc.* *6*, 1981–1989. [10.1038/nprot.2011.412](https://doi.org/10.1038/nprot.2011.412).
12. Mich, J.K., Signer, R.A., Nakada, D., Pineda, A., Burgess, R.J., Vue, T.Y., Johnson, J.E., and Morrison, S.J. (2014). Prospective identification of functionally distinct stem cells and neurosphere-initiating cells in adult mouse forebrain. *eLife* *3*, e02669. [10.7554/eLife.02669](https://doi.org/10.7554/eLife.02669).
13. Pastrana, E., Cheng, L.-C., and Doetsch, F. (2009). Simultaneous prospective purification of adult subventricular zone neural stem cells and their progeny. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 6387–6392. [10.1073/pnas.0810407106](https://doi.org/10.1073/pnas.0810407106).
14. Cebrian-Silla, A., Nascimento, M.A., Redmond, S.A., Mansky, B., Wu, D., Obernier, K., Romero Rodriguez, R., Gonzalez-Granero, S., García-Verdugo, J.M., Lim, D.A., et al. (2021). Single-cell analysis of the ventricular-subventricular zone reveals signatures of dorsal and ventral adult neurogenesis. *eLife* *10*, e67436. [10.7554/eLife.67436](https://doi.org/10.7554/eLife.67436).
15. Dulken, B.W., Leeman, D.S., Boutet, S.C., Hebestreit, K., and Brunet, A. (2017). Single-Cell Transcriptomic Analysis Defines Heterogeneity and Transcriptional Dynamics in the Adult Neural Stem Cell Lineage. *Cell Rep.* *18*, 777–790. [10.1016/j.celrep.2016.12.060](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.060).
16. Xie, X.P., Laks, D.R., Sun, D., Poran, A., Laughney, A.M., Wang, Z., Sam, J., Belenguer, G., Fariñas, I., Elemento, O., et al. (2020). High-resolution mouse subventricular zone stem-cell niche transcriptome reveals features of lineage, anatomy, and aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *117*, 31448–31458. [10.1073/pnas.2014389117](https://doi.org/10.1073/pnas.2014389117).
17. Zywitza, V., Misios, A., Bunatyan, L., Willnow, T.E., and Rajewsky, N. (2018). Single-Cell Transcriptomics Characterizes Cell Types in the Subventricular Zone and Uncovers Molecular Defects Impairing Adult Neurogenesis. *Cell Rep.* *25*, 2457-2469.e8. [10.1016/j.celrep.2018.11.003](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.003).

18. Mizrak, D., Levitin, H.M., Delgado, A.C., Crotet, V., Yuan, J., Chaker, Z., Silva-Vargas, V., Sims, P.A., and Doetsch, F. (2019). Single-Cell Analysis of Regional Differences in Adult V-SVZ Neural Stem Cell Lineages. *Cell Rep.* 26, 394-406.e5. 10.1016/j.celrep.2018.12.044.
19. Daynac, M., Morizur, L., Kortulewski, T., Gauthier, L.R., Ruat, M., Mouthon, M.-A., and Boussin, F.D. (2015). Cell Sorting of Neural Stem and Progenitor Cells from the Adult Mouse Subventricular Zone and Live-imaging of their Cell Cycle Dynamics. *J. Vis. Exp. JoVE.* 10.3791/53247.
20. Daynac, M., Chicheportiche, A., Pineda, J.R., Gauthier, L.R., Boussin, F.D., and Mouthon, M.-A. (2013). Quiescent neural stem cells exit dormancy upon alteration of GABAAR signaling following radiation damage. *Stem Cell Res.* 11, 516–528. 10.1016/j.scr.2013.02.008.
21. Daynac, M., Morizur, L., Chicheportiche, A., Mouthon, M.-A., and Boussin, F.D. (2016). Age-related neurogenesis decline in the subventricular zone is associated with specific cell cycle regulation changes in activated neural stem cells. *Sci. Rep.* 6, 21505. 10.1038/srep21505.
22. Pineda, J.R., Boussin, F.D., and Mouthon, M.-A. (2013). Le TGF β , un trouble-fête dans la niche des cellules souches neurales adultes. *médecine/sciences* 29, 572–574. 10.1051/medsci/2013296006.
23. Li, G., Liu, J., Guan, Y., and Ji, X. (2021). The role of hypoxia in stem cell regulation of the central nervous system: From embryonic development to adult proliferation. *CNS Neurosci. Ther.* 27, 1446–1457. 10.1111/cns.13754.
24. Ross, H.H., Sandhu, M.S., Cheung, T.F., Fitzpatrick, G.M., Sher, W.J., Tiemeier, A.J., Laywell, E.D., and Fuller, D.D. (2012). In vivo intermittent hypoxia elicits enhanced expansion and neuronal differentiation in cultured neural progenitors. *Exp. Neurol.* 235, 238–245. 10.1016/j.expneurol.2012.01.027.
25. Ji, Z., and Ji, H. (2016). TSCAN: Pseudo-time reconstruction and evaluation in single-cell RNA-seq analysis. *Nucleic Acids Res.* 44, e117. 10.1093/nar/gkw430.
26. Fisher, E., and Feng, J. (2022) RNA splicing regulators play critical roles in neurogenesis. *WIREs RNA* , e1728. 10.1002/wrna.1728.
27. Grabowski, P. (2011). Alternative splicing takes shape during neuronal development. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 21, 388–394. 10.1016/j.gde.2011.03.005.
28. Jacko, M., Weyn-Vanhentenryck, S.M., Smerdon, J.W., Yan, R., Feng, H., Williams, D.J., Pai, J., Xu, K., Wichterle, H., and Zhang, C. (2018). Rbfox Splicing Factors Promote Neuronal Maturation and Axon Initial Segment Assembly. *Neuron* 97, 853-868.e6. 10.1016/j.neuron.2018.01.020.
29. Weyn-Vanhentenryck, S.M., Feng, H., Ustianenko, D., Duffié, R., Yan, Q., Jacko, M., Martinez, J.C., Goodwin, M., Zhang, X., Hengst, U., et al. (2018). Precise temporal regulation

- of alternative splicing during neural development. *Nat. Commun.* 9, 2189. 10.1038/s41467-018-04559-0.
30. Yano, M., Hayakawa-Yano, Y., Mele, A., and Darnell, R.B. (2010). Nova2 regulates neuronal migration through an RNA switch in disabled-1 signaling. *Neuron* 66, 848–858. 10.1016/j.neuron.2010.05.007.
31. Zhu, W., Zhou, B., Rong, L., Ye, L., Xu, H., Zhou, Y., Yan, X., Liu, W., Zhu, B., Wang, L., et al. (2020). Roles of PTBP1 in alternative splicing, glycolysis, and oncogenesis. *J. Zhejiang Univ.-Sci. B* 21, 122–136. 10.1631/jzus.B1900422.
32. Llorens-Bobadilla, E., Zhao, S., Baser, A., Saiz-Castro, G., Zwadlo, K., and Martin-Villalba, A. (2015). Single-Cell Transcriptomics Reveals a Population of Dormant Neural Stem Cells that Become Activated upon Brain Injury. *Cell Stem Cell* 17, 329–340. 10.1016/j.stem.2015.07.002.
33. Gómez Morillas, A., Besson, V.C., and Lerouet, D. (2021). Microglia and Neuroinflammation: What Place for P2RY12? *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1636. 10.3390/ijms22041636.
34. Uv, B., and Ma, H. (1998). Comparative analysis of glutamate transporter expression in rat brain using differential double in situ hybridization. *Anat. Embryol. (Berl.)* 198. 10.1007/s004290050161.
35. Sawano, A., Iwai, S., Sakurai, Y., Ito, M., Shitara, K., Nakahata, T., and Shibuya, M. (2001). Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood* 97, 785–791. 10.1182/blood.v97.3.785.
36. Zhu, Q., Zhao, X., Zheng, K., Li, H., Huang, H., Zhang, Z., Mastracci, T., Wegner, M., Chen, Y., Sussel, L., et al. (2014). Genetic evidence that Nkx2.2 and Pdgfra are major determinants of the timing of oligodendrocyte differentiation in the developing CNS. *Dev. Camb. Engl.* 141, 548–555. 10.1242/dev.095323.
37. Lertkiatmongkol, P., Paddock, C., Newman, D.K., Zhu, J., Thomas, M.J., and Newman, P.J. (2016). The Role of Sialylated Glycans in Human Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1 (PECAM-1)-mediated Trans Homophilic Interactions and Endothelial Cell Barrier Function. *J. Biol. Chem.* 291, 26216–26225. 10.1074/jbc.M116.756502.
38. Kouwenhoven, W. Vglut2 expression in dopamine neurons contributes to post-lesional striatal reinnervation. 42.
39. Kim, E.J., Ables, J.L., Dickel, L.K., Eisch, A.J., and Johnson, J.E. (2011). Ascl1 (Mash1) Defines Cells with Long-Term Neurogenic Potential in Subgranular and Subventricular Zones in Adult Mouse Brain. *PLoS ONE* 6. 10.1371/journal.pone.0018472.
40. Andreatta, M., and Carmona, S.J. (2021). UCell: Robust and scalable single-cell gene signature scoring. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 19, 3796–3798. 10.1016/j.csbj.2021.06.043.

41. Lois, C., and Alvarez-Buylla, A. (1993). Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *90*, 2074–2077. 10.1073/pnas.90.5.2074.
42. Menezes, J.R., Smith, C.M., Nelson, K.C., and Luskin, M.B. (1995). The division of neuronal progenitor cells during migration in the neonatal mammalian forebrain. *Mol. Cell. Neurosci.* *6*, 496–508. 10.1006/mcne.1995.0002.
43. Ponti, G., Obernier, K., Guinto, C., Jose, L., Bonfanti, L., and Alvarez-Buylla, A. (2013). Cell cycle and lineage progression of neural progenitors in the ventricular-subventricular zones of adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *110*, E1045-1054. 10.1073/pnas.1219563110.
44. El Waly, B., Cayre, M., and Durbec, P. (2018). Promoting Myelin Repair through In Vivo Neuroblast Reprogramming. *Stem Cell Rep.* *10*, 1492–1504. 10.1016/j.stemcr.2018.02.015.
45. Jablonska, B., Aguirre, A., Raymond, M., Szabo, G., Kitabatake, Y., Sailor, K.A., Ming, G.-L., Song, H., and Gallo, V. (2010). Chordin-induced lineage plasticity of adult SVZ neuroblasts after demyelination. *Nat. Neurosci.* *13*, 541–550. 10.1038/nn.2536.
46. Klein, B., Mrowetz, H., Kreutzer, C., Rotheneichner, P., Zaunmair, P., Lange, S., Coras, R., Couillard-Despres, S., Rivera, F.J., and Aigner, L. (2020). DCX+ neuronal progenitors contribute to new oligodendrocytes during remyelination in the hippocampus. *Sci. Rep.* *10*, 20095. 10.1038/s41598-020-77115-w.
47. Mauger, O., Klinck, R., Chabot, B., Muchardt, C., Allemand, E., and Batsché, E. (2015). Alternative splicing regulates the expression of G9A and SUV39H2 methyltransferases, and dramatically changes SUV39H2 functions. *Nucleic Acids Res.* *43*, 1869–1882. 10.1093/nar/gkv013.
48. Shin, J., and Kim, J. (2013). Novel alternative splice variants of chicken NPAS3 are expressed in the developing central nervous system. *Gene* *530*, 222–228. 10.1016/j.gene.2013.08.024.
49. Zhou, J., Zheng, X., and Shen, H. (2012). Targeting RNA-Splicing for SMA Treatment. *Mol. Cells* *33*, 223–228. 10.1007/s10059-012-0005-6.
50. Irimia, M., Weatheritt, R.J., Ellis, J.D., Parikshak, N.N., Gonatopoulos-Pournatzis, T., Babor, M., Quesnel-Vallièrès, M., Tapial, J., Raj, B., O’Hanlon, D., et al. (2014). A highly conserved program of neuronal microexons is misregulated in autistic brains. *Cell* *159*, 1511–1523. 10.1016/j.cell.2014.11.035.
51. Li, Y.I., Sanchez-Pulido, L., Haerty, W., and Ponting, C.P. (2015). RBFOX and PTBP1 proteins regulate the alternative splicing of micro-exons in human brain transcripts. *Genome Res.* *25*, 1–13. 10.1101/gr.181990.114.
52. Fox, R.G., Park, F.D., Koechlein, C.S., Kritzik, M., and Reya, T. (2015). Musashi signaling in stem cells and cancer. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* *31*, 249–267. 10.1146/annurev-cellbio-100814-125446.

53. Sakakibara, S., and Okano, H. (1997). Expression of neural RNA-binding proteins in the postnatal CNS: implications of their roles in neuronal and glial cell development. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *17*, 8300–8312.
54. Yano, M., Hayakawa-Yano, Y., and Okano, H. (2016). RNA regulation went wrong in neurodevelopmental disorders: The example of Msi/Elavl RNA binding proteins. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev. Neurosci.* *55*, 124–130. [10.1016/j.ijdevneu.2016.01.002](https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.01.002).
55. WANG, Y., LIU, J., HUANG, B., XU, Y.-M., LI, J., HUANG, L.-F., LIN, J., ZHANG, J., MIN, Q.-H., YANG, W.-M., et al. (2015). Mechanism of alternative splicing and its regulation. *Biomed. Rep.* *3*, 152–158. [10.3892/br.2014.407](https://doi.org/10.3892/br.2014.407).
56. Kang, M.-J., Abdelmohsen, K., Hutchison, E.R., Mitchell, S.J., Grammatikakis, I., Guo, R., Noh, J.H., Martindale, J.L., Yang, X., Lee, E.K., et al. (2014). HuD Regulates Coding and Noncoding RNA to Induce APP→A β Processing. *Cell Rep.* *7*, 1401–1409. [10.1016/j.celrep.2014.04.050](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.04.050).
57. Zhang, J., Giesert, F., Kloos, K., Vogt Weisenhorn, D.M., Aigner, L., Wurst, W., and Couillard-Despres, S. (2010). A powerful transgenic tool for fate mapping and functional analysis of newly generated neurons. *BMC Neurosci.* *11*, 158. [10.1186/1471-2202-11-158](https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-158).
58. Gu, Z., Gu, L., Eils, R., Schlesner, M., and Brors, B. (2014). circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* *30*, 2811–2812. [10.1093/bioinformatics/btu393](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu393).

Résultats complémentaires

Partie I : Réorientation des neuroblastes immatures en culture

Introduction

Dans notre article précédent, nous avons démontré par des expériences *in vitro* et *in vivo*, qu'une population de neuroblastes immatures, les NBI, conservait des propriétés de progéniteurs neuraux indifférenciés, à savoir un potentiel de clonogénicité à long-terme et une capacité à se différencier à la fois en neurones et en cellules gliales (astrocytes et oligodendrocytes).

Nous avons comparé le transcriptome du génome entier des NBI à ceux des 4 autres sous-populations de progéniteurs neuraux de la ZSV, les CSNq, les CSNa, les PI et les mNB et défini des profils moléculaires spécifiques. Ces données nous ont servi par la suite à analyser l'hétérogénéité cellulaire de chacune de ces populations par la technique de séquençage de l'ARN de cellules uniques (scRNA-seq) et de mettre en évidence des changements moléculaires importants. Nous avons en particulier identifié deux sous-populations de NBI, l'une D1 n'exprimant pas le gène *Dcx* succédant au stade de PI, l'autre D2 exprimant le gène *Dcx* précédant le stade de neuroblaste mature mNB.

En conclusion, ces résultats nous ont permis de caractériser une population de NBI cyclants « plastiques » présentant des propriétés de CSN. Nos analyses transcriptomiques à l'échelle cellulaire ont servi à distinguer 2 stades de NBI : un stade *Dcx*⁻ très prolifératif, et un stade *Dcx*⁺ exprimant des gènes de différenciation neuronale. Ces deux stades étaient multipotents, conservant notamment une capacité à former des oligodendrocytes *in vitro*. Cependant, des expériences de transplantations de ces stades isolés ont révélé une différence de tropisme pour la ZSV et de plasticité : les NBI *Dcx*⁺ ne migrent pas spontanément vers la ZSV, contrairement aux NBI totaux. Ces données ont donc contribué à préciser les étapes d'engagement dans la différenciation neuronale des progéniteurs neuraux de la ZSV.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés au potentiel des NBI, en étudiant leur devenir en culture en hypoxie physiologique. Premièrement, nous avons confirmé le caractère indifférencié des NBI, en montrant l'absence de progéniteurs oligodendrocytaires au sein de cette population, et leur caractère moins différencié que les NBm. Nous avons ensuite cherché à caractériser le devenir des NBI en culture, en montrant que les cellules dérivées des NBI conservaient leur multipotence et leur plasticité, après culture en normoxie et après culture en hypoxie physiologique. Nous avons par la suite caractérisé les cellules issues de la culture en

hypoxie physiologique, montrant une réorientation vers le lignage oligodendrocytaire sans perte de la plasticité, à la fois *in vitro* et *in vivo*. Dans un dernier temps, nous avons montré que cette réorientation oligodendrocytaire se produisait aussi après culture de la fraction Dcx+ des NBi, montrant un engagement neuronal réversible après passage en culture.

Résultats

Les NBi ne sont pas engagés dans la différenciation

Les NBi constituent une population orientée vers le lignage neuronal, mais conservant un multipotence. Après transplantation *in vivo*, ils conservent une plasticité qui donne lieu à une différenciation oligodendrocytaire le long de la trajectoire d'injection (TI). Cette plasticité pourrait résulter soit d'une réorientation d'une fraction des NBi, soit de la présence parmi les NBi d'une fraction de cellules orientées vers la différenciation oligodendrocytaire. Pour tester cette seconde hypothèse, nous avons utilisé un modèle génétique de souris Ng2::DsRed, qui permet d'identifier les cellules exprimant le marqueur de précurseurs oligodendrocytaires Ng2 (cf III.2.a, El Waly et al., 2014). Dans une analyse par cytométrie en flux, nous avons observé la proportion des cellules DsRed-positives (Ng2+) au sein des populations neurogéniques définies selon notre stratégie de tri cellulaire, basée sur l'expression des marqueurs de surface CD24, EGFR et CD15 (Fig. C1, A). Les cellules NG2+ étaient présentes en proportions négligeables dans les CSNq (0.5%), PI (0.5%) et NBi (0.7%), et une faible fraction des CSNa (3%) et NBm (3%) en comparaison de la proportion de cellules Ng2+ parmi les cellules totales (8,6%), confirmant que les NBi ne contiennent pas de population de progéniteurs oligodendrocytaires (Fig. C1, A).

Pour confirmer cette absence d'orientation gliale, l'expression de gènes associés aux lignages neuronal ou oligodendrocytaire a été mesurée dans les populations neurogéniques triées et comparées à la fraction Ng2+ totale des cellules de la ZSV. Nous avons observé une expression plus importante des gènes *Ascl1*, *Egfr* et *Dlx2* dans les populations de progéniteurs neuraux de la ZSV comparés aux cellules NG2+ de la ZSV (Fig. C1, B). A l'inverse, les gènes *Olig2*, *Sox10*, *Pdgfra*, *Cspg4* et *Gpr17* étaient plus exprimés dans les cellules Ng2+ que dans les progéniteurs neuraux. Cette absence d'expression des gènes du lignage oligodendrogliol dans la population de NBi est cohérente avec nos résultats précédents, dans lesquelles une analyse transcriptomique de cellules uniques de la ZSV n'a pas mis en évidence de lien entre les populations de NBi et les progéniteurs du lignage oligodendrocytaire.

Ces résultats infirment donc l'hypothèse d'une sous-population de précurseurs oligodendrocytaires responsables de la différenciation oligodendrocytaire dans les NBi, et suggèrent fortement que les capacités oligodendrogéniques des NBi proviennent de progéniteurs neuraux subissant une réorientation.

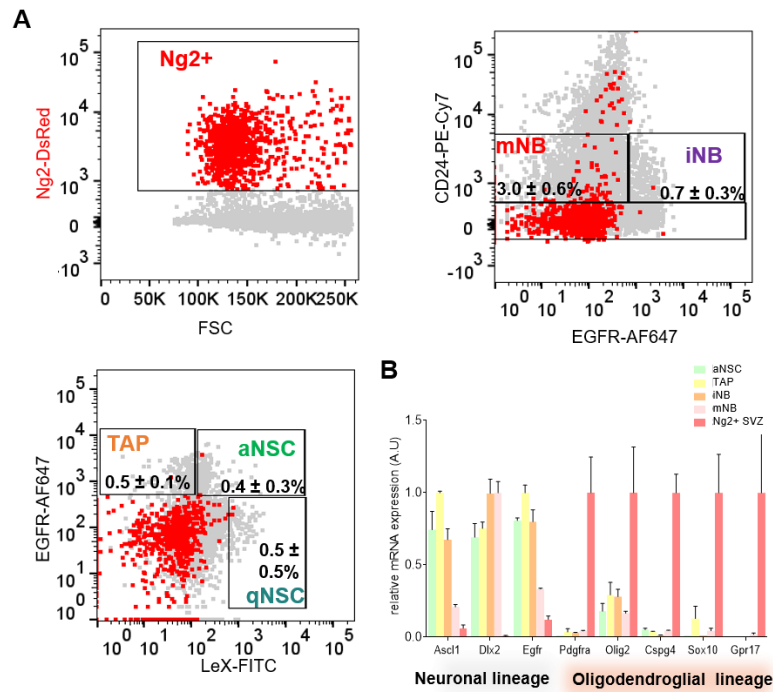


Figure C1. Les NBi ne contiennent pas de progéniteurs oligodendrocytaires. (A) Analyse par cytométrie en flux des populations neurogéniques de la ZSV de souris Ng2:DsRed. Haut : ensemble des cellules vivantes représentées selon leur intensité de fluorescence rouge (Gauche), ou rouge lointain (Droite). Bas, gauche : ensemble des cellules CD24-négatives (n = 4) (B) RT-qPCR mesurant l'expression d'ARNm associés aux lignage neuronal (gauche) ou oligodendrocytaire (droite) dans les populations neurogéniques et les cellules Ng2+ fraîchement triées (n= 4). q/aNSC: cellules souches neurales quiescentes/activées. TAP: progéniteurs intermédiaires. iNB: neuroblastes immatures. mNB : neuroblastes matures.

Nous avons ensuite cherché à caractériser le profil immature des *NBi* ex vivo. Pour cela, nous avons appliqué notre stratégie de marquage des progéniteurs neuraux précédemment décrite (Daynac 2013) au modèle transgénique FUCCI (Fig. C2, A; Sakaue-Sawano et al., 2008). Ce modèle génétique exprime un fluorophore rouge rapportant l'expression du *Cdt1* au cours du cycle cellulaire, et permet ainsi d'identifier pour chaque progéniteur neural sa phase dans le cycle cellulaire en mesurant son intensité de fluorescence : les cellules FUCCI-Red⁻ sont en phases S-G2/M, les cellules FUCCI-Red⁺ sont en phase G1, et les cellules sortant du cycle cellulaire ou en cours de différenciation sont FUCCI-Red^{bright} (Roccio et al., 2013) (Fig. C2, A).

Parmi les populations de progéniteurs neuraux, les cellules FUCCI-Red⁻ représentaient une large majorité des NBi (63%) et des PI (68%), mais une fraction moindre des mNB (26%) (Fig. C1, D), confirmant les rapports précédents établissant que les populations de NBi et PI sont majoritairement cyclants, contrairement aux mNB (Daynac et al., 2013). A l'inverse, la proportion de cellules FUCCI-Red^{Bright} était beaucoup plus importante dans les mNB (39%) que dans les NBi (3%) montrant que ces derniers n'étaient pas engagés dans la différenciation neuronale contrairement aux NBm. Cette différence est cohérente avec les résultats présentés dans notre article précédent, qui montrent que les NBi conservent une multipotence et une plasticité qui n'est pas retrouvée dans les NBm.

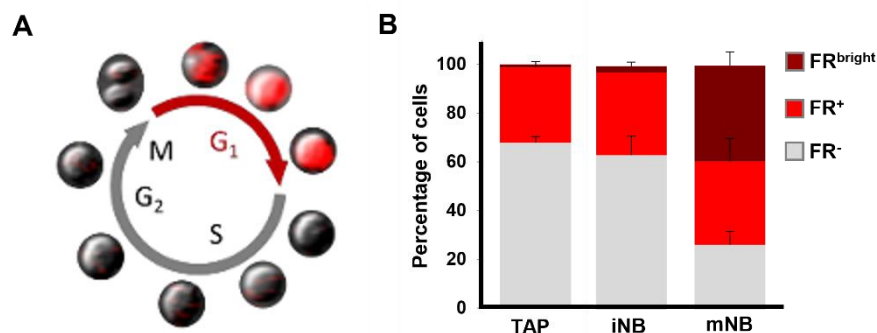


Figure C2. Les NBi ne sont pas engagés dans la différenciation. (A) Schéma de l'expression du rapporteur fluorescent Red au cours du cycle cellulaire dans le modèle FUCCI-Red. Tiré de Sakaue-Sawano et al., 2008. (B) Analyse par cytométrie en flux de l'expression du Red dans les populations de progéniteurs neuraux (n = 8). FR : Fucci-red. TAP: progéniteurs intermédiaires. iNB: neuroblastes immatures. mNB: neuroblastes matures.

L'hypoxie physiologique conserve la plasticité des NBi

Dans notre article précédent, nous avons montré que les NBi constituaient une population de neuroblastes de la ZSV conservant des propriétés de cellules souches, à savoir la multipotence et la capacité de former des neurosphères. En particulier, cette capacité de prolifération était, comme pour les CSNa et les PI, augmentée *in vitro* en conditions d'hypoxie physiologique (4%O₂), comparée à la normoxie (20%O₂). La capacité des CSNa et des PI à s'auto-renouveler et la maintenance de leur multipotence après culture en normoxie a déjà été démontrée à de nombreuses reprises dans la littérature (Menn et al., 2006; Pastrana et al., 2009; Ortega et al., 2013). Nous avons donc cherché à montrer que nos conditions de culture en hypoxie conservaient la multipotence des populations issues des progéniteurs neuraux.

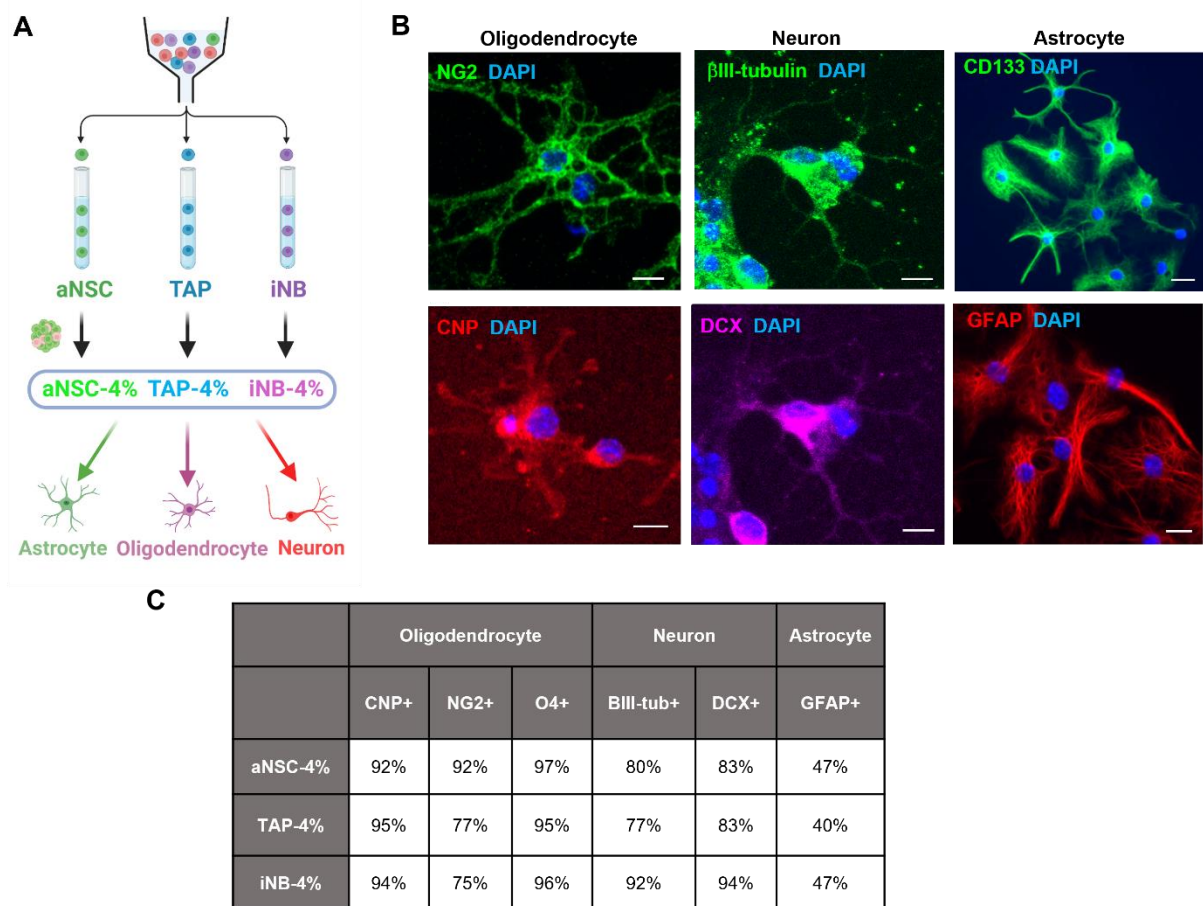


Figure C3. Pluripotence des progéniteurs neuraux cultivés en hypoxie physiologique. (A) Les populations de progéniteurs neuraux ont été triées, cultivées 14 jours à 4%O₂, puis leur différenciation a été induite dans les trois types cellulaires du lignage neuraux. (B,C) Immunofluorescence de cellules dérivées de CSNa (aNSC-4%), PI (TAP-4%) et NBi (iNB-4%) et induites en différenciation. Des marquages spécifiques des lignages ont été réalisés, illustrés pour la différenciation des iNB-4% en (B). Oligodendrocytes (gauche): NG2 (vert) et CNP (rouge) ; Neurones (milieu) : βIII-tubulin (vert) et DCX (magenta) ; Astrocytes (droite): CD133 (vert) et GFAP (rouge). (C) Pourcentage des cellules exprimant des marqueurs de différenciation parmi les différentes populations. Echelle (blanc): 20 μm.

Nous avons pour cela appliqué notre stratégie de cytométrie en flux pour trier des CSNa, PI et NBi issus de ZSV de souris C57Bl6 (Fig. C3, A). Les différentes populations de cellules triées ont été placées en culture en hypoxie physiologique sur deux passages (14 jours *in vitro*, 14DIV), pour obtenir des cellules dérivées de CSNa (CSNa-4%), PI (PI-4%), ou de NBi (NBi-4%). Ces différentes populations ont ensuite été placées dans 3 milieux adaptés pour induire leur différenciation dans les 3 lignages (Fig. C3, B). Le marquage de ces populations par immunofluorescence a permis d'observer dans ces différents lignages la formation d'astrocytes, à la morphologie étoilée et exprimant la GFAP et la Prominin (CD133), de

neurones, présentant des neurites et exprimant la DCX et la β III-tubulin, ainsi que d'oligodendrocytes étalés, formant un réseau circulaire de prolongements fins et exprimant la NG2 et la CNPase (Fig. C3, B). La proportion de cellules exprimant les différents marqueurs n'a pas révélé de différence d'efficacité de différenciation entre les différentes populations pour ces trois types cellulaires (Fig. C3, C). La culture en hypoxie physiologique maintient donc, comme celle en normoxie, la multipotence des CSNa-4% et PI-4%, mais également celle des NBi-4%.

Cependant, l'hypoxie physiologique, qui se rapproche de la tension en oxygène observée dans la ZSV, favorise la prolifération des progéniteurs neuraux et peut influencer sur leur destin cellulaire (Panchision, 2009; Li et al., 2021). Nous avons donc cherché à déterminer l'influence de la tension en oxygène sur l'orientation des populations de progéniteurs neuraux cultivées *in vitro*.

Pour étudier la plasticité des NBi après culture à différentes tensions en oxygène, nous avons donc utilisé un modèle de greffe intracrânienne déjà utilisé par le laboratoire (Jose R. Pineda et al., 2013). Ce modèle utilise une injection en un point unique, dans le striatum éloigné de la ZSV et du FMR, pour évaluer les capacités migratoires et la plasticité des cellules injectées (Modèle STR, Fig. C4, A). Des NBi-20% et des NBi-4% issus de souris β -actin::eGFP, exprimant constitutivement l'eGFP, ont été cultivés et transplantés unilatéralement. Après deux semaines, les cerveaux des souris receveuses ont été fixés et le destin des cellules eGFP+ a été observé par immunofluorescence (Fig. C4, A).

Dans les deux conditions, des cellules eGFP+ ont été retrouvées dans 3 zones : le long de la trajectoire d'injection (TI), dans la ZSV dorsale, et dans le BO. Des cellules eGFP+ s'étaient ainsi différenciées le long de la TI dans l'ensemble (9/9) des cerveaux greffés avec des NBi-20% (C20), et dans 6/7 cerveaux greffés avec des NBi-4% (C4) (Fig. C4, C-E, Table C1). Dans les cerveaux C20 et C4 se trouvaient des cellules eGFP+ avec un phénotype de neurone (MAP2+ ou DCX+) (54% et 27%, respectivement, Fig. C4, B), d'astrocyte (S100 β +, 48% et 48%, respectivement, Fig. C4, C) ou d'oligodendrocyte (CNPase+, 25% et 24%, respectivement, Fig. C4, D), montrant une multipotence *in vivo* des NBi cultivés indépendante de la tension en oxygène. Cependant, la capacité de différenciation neuronale des NBi pourrait être diminuée en hypoxie, puisque les neurones formaient une proportion significativement moins importante dans les C4 par rapport aux C20 ($p < 0.001$, Fig. C4, E).

Parmi les cellules greffées, des cellules eGFP+ ont conservé leur destin neuronal et ont rejoint le FMR jusqu'au BO à la fois dans les cerveaux C20 (2/9) et les cerveaux C4 (1/7) (Fig. C4, F). Les cellules eGFP+ au niveau du BO étaient présentes dans la couche granulaire.

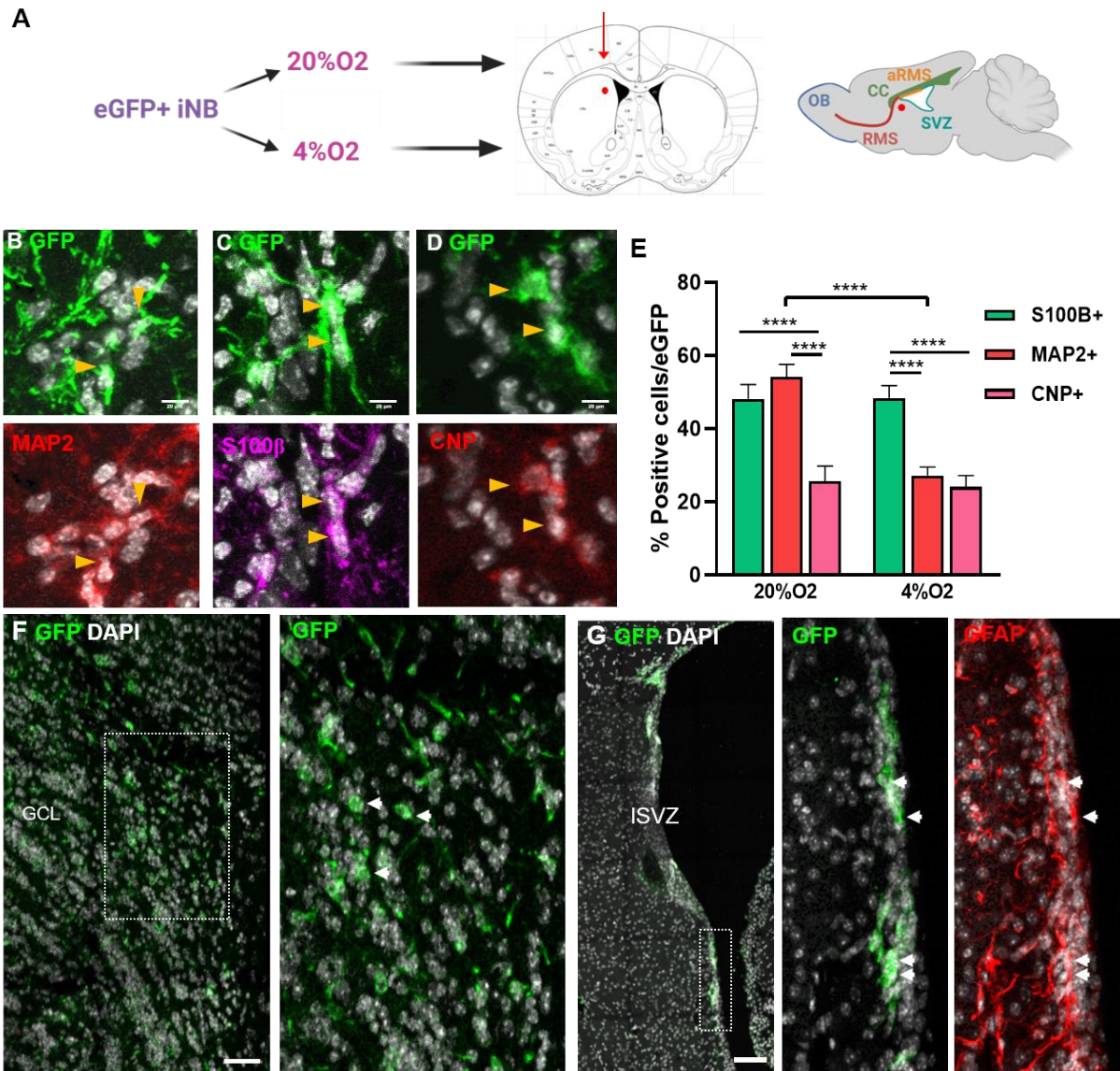


Figure C4. La culture en normoxie ou en hypoxie physiologique change le destin des NBi. (A) Des NBi issus de souris β -actin::eGFP cultivés en normoxie (20%O₂) ou en hypoxie physiologique (4%O₂), ont été transplantés dans le cerveau de souris receveuses dans le striatum éloigné de la ZSV. (B-D, F-G) Immunofluorescence des cerveaux transplantés avec les NBi 20%O₂ ou 4%O₂. (B-D) Illustrations de cellules eGFP+ (flèches jaunes) issues de NBi-4% retrouvées le long de la trajectoire d'injection (TI), différenciées en neurones exprimant MAP2 (B), astrocytes exprimant la S100 β (C) ou oligodendrocytes exprimant la CNPase (D). (E) Proportions de cellules eGFP+ différenciées présentes dans la TI. (F) Neurones eGFP+ (flèches blanches) dérivés de NBi-4% dans le BO. (G) Astrocytes eGFP+GFAP+ (flèches blanches) dérivées de NBi-4% dans la ZSV. ****. $p < 0.001$ d'après une ANOVA One-way avec comparaison post-hoc par test de Holm-Sidak. Echelle (blanc) : 20 μ M (B, C, D), 50 μ M (F), 100 μ M (G).

De façon intéressante, des cellules eGFP+ avaient migré vers la ZSV tout au long de la niche neurogénique du mur latéral, dans les cerveaux C20 (5/9) et C4 (4/7) (Fig. C4, G). Une partie de ces cellules exprimaient la DCX, indiquant une orientation neuronale, tandis qu'une autre partie exprimaient la GFAP. Cette présence d'astrocytes eGFP+ dans la ZSV met en évidence une capacité de recolonisation de la ZSV par les cellules cultivées indépendantes de la tension en oxygène en culture.

		Mice	GFP+ cells	Markers
IT	iNB-20%	9/9	Abundant	S100 β DCX MAP2 CNP
	iNB-4%	6/7	Abundant	
SVZ	iNB-20%	5/9	Few	DCX GFAP
	iNB-4%	4/7	Few	
OB	iNB-20%	2/9	Abundant	DCX β III-Tub
	iNB-4%	1/7	Abundant	

Tableau C1. Localisation des NBi-4% et NBi-20% eGFP+ transplantés. Evaluations qualitatives de la présence de cellules eGFP+ issues de NBi-20% (iNB-20%) ou NBi-4% (iNB-4%) dans 3 zones des cerveaux de souris receveuses, ainsi que des marqueurs exprimés par les cellules eGFP+.

Ces expériences ont donc montré que la culture, qu'elle soit en hypoxie physiologique ou en normoxie, conservait les propriétés multipotentes des progéniteurs neuraux, ainsi que leur tropisme pour la ZSV.

Cette similarité dans le potentiel des cellules après culture en normoxie et en hypoxie physiologique nous a conduit à choisir l'hypoxie physiologique, plus proche des conditions physiologiques et favorisant la prolifération des progéniteurs neuraux, comme unique condition de culture pour la suite des expériences. Nous avons également mis en évidence que la culture des NBi dans ces deux conditions réoriente les cellules cultivées, qui conservent donc leur multipotence ainsi qu'une certaine plasticité dans notre modèle STR *in vivo*. Elles montrent en

effet une réorientation vers le lignage glial, qui aboutit à une différenciation en oligodendrocytes dans le CC, et l'expression de marqueurs astrocytaires dans la ZSV. Ces deux tropismes suggèrent également une hétérogénéité des NBi-4%, ou bien alternativement, de mécanismes limitant le recrutement des NBi-4% au CC ou dans la ZSV, tels que des gradients de signalisation ou encore un feedback négatif des cellules recrutées envers les autres Nbi-4%.

Cette réorientation témoigne d'une dédifférenciation des NBI, dont l'étude pourrait dévoiler des mécanismes impliqués dans la reprogrammation des progéniteurs neuronaux.

La culture en hypoxie physiologique réoriente les progéniteurs neuraux vers un phénotype de précurseurs oligodendrocytaire

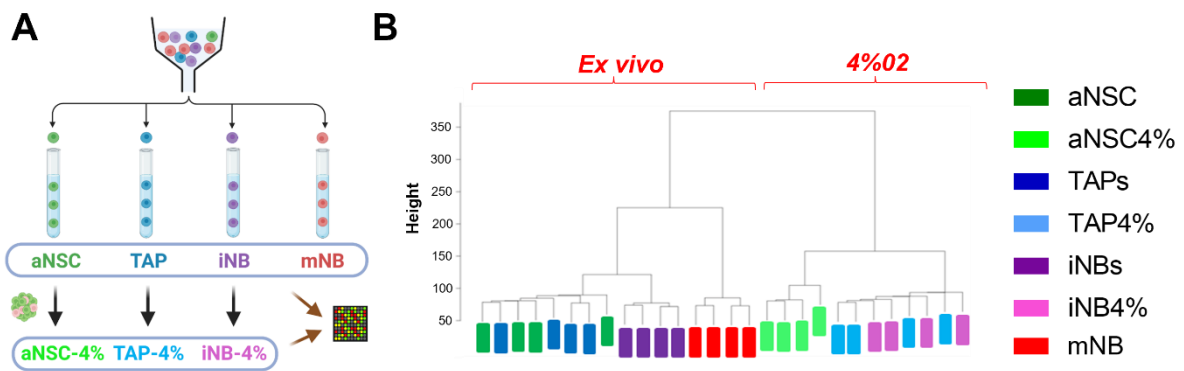


Figure C5. Les populations cultivées convergent vers un phénotype moléculaire proche. (A) Schéma expérimental. Les populations de progéniteurs neuronaux de la ZSV ont été triées puis les progéniteurs prolifératifs ont été placés en culture en hypoxie pendant 14 jours. Les transcriptomes des différentes populations ont été mesurés. (B) Clustering hiérarchique des populations fraîchement triées (Ex vivo) et cultivées (4%O₂). aNSC: cellules souches neurales activées (vert, -4% vert vif). TAP : progéniteurs intermédiaires (bleu foncé, -4% bleu clair). mNB : neuroblastes matures (rouge). iNB : neuroblastes immatures (violet, -4% magenta) DAPI : bleu.

Pour étudier cette influence de la culture sur l'orientation progéniteurs neuronaux, les populations de progéniteurs indifférenciés ont été triées par cytométrie en flux puis mises en culture 14j en hypoxie (Fig. C5, A). L'analyse du transcriptome des populations triées ainsi que des populations cultivées a été réalisée à partir de puces à ADN Affymetrix MouseGene2.0ST, puis l'ensemble des populations a été comparée par clustering hiérarchique associé à un dendrogramme permettant d'organiser les données en arborescence en fonction de leurs similitudes (Fig. C5, B). Dans notre analyse, les CSNa-4%, PI-4% et NBI-4% étaient

regroupées dans un cluster distinct des populations *ex vivo* signifiant qu'elles étaient plus proches entre elles que de ces dernières. Cette différence de profils d'expression génique suggère que la culture en hypoxie physiologique fait converger les populations en culture vers un phénotype moléculaire distinct de celui des populations *ex vivo*. Au sein des populations *ex vivo*, les NBm ont formé un cluster séparé montrant une population très différente des CSNa, PI et NBi. Les NBi ont également formé un sous-cluster séparé des CSNa et PI confirmant que les NBi correspondent à une population distincte de ces dernières. Cette hiérarchisation des populations *ex vivo* est donc cohérente avec les données de notre article précédent, montrant une population de NBi plus proche des CSNa et PI que des NBm, mais avec des différences moléculaires importantes.

Parmi les cellules *in vitro*, les PI-4% et NBi-4% formaient un cluster distinct des CSNa-4% (Fig.C5, B). Ces résultats montrent une convergence des phénotypes des différentes populations *in vitro*, et suggèrent une dédifférenciation des NBi, qui retrouvent des propriétés souches similaires à celles observées dans les CSN en culture.

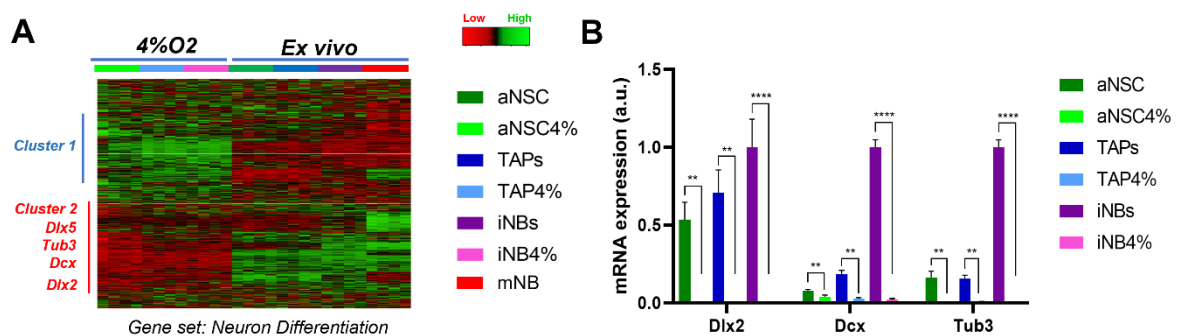


Figure C6. Les NBi cultivés perdent l'expression de marqueurs de l'orientation neuronale. (A) Heatmap de l'expression des gènes de la gene ontology *Neuron differentiation*. **(B)** RT-qPCR de gènes marqueurs de l'orientation neuronale dans les populations de progéniteurs neuraux fraîchement triés ou cultivés (n=8). **, ****: $p < 0.01$ et $p < 0.001$, respectivement. aNSC : cellules souches neurales activées (vert, -4% vert vif) . TAP : progéniteurs intermédiaires (bleu foncé, -4% bleu clair). mNB : neuroblastes matures (rouge). iNB: neuroblastes immatures (violet, -4% magenta) DAPI: bleu.

Afin de caractériser les différences entre les populations *ex vivo* et leurs descendants en culture, nous avons recherché pour chaque population *in vitro* les gènes différentiellement exprimés par rapport à la population correspondante *ex vivo* (*fold change compris entre -2 et 2, p-value <0.05*). Parmi les gènes les plus surexprimés en culture figuraient pour les trois populations plusieurs gènes associés à la différenciation neuronale, parmi lesquels les gènes de différenciation neuronale *Dlx2*, *Dlx5*, *Dcx* et *β III-Tub*. Pour visualiser ce changement dans l'expression de gènes de différenciation neuronale, nous avons représenté les expressions des gènes contenus dans la liste *Differentiation of neurons* disponible sur la database MGI (GO : 0030182), qui comprend les 1595 gènes dont l'expression varie le plus, positivement ou négativement, au cours de la différenciation neuronale embryonnaire (Fig.C6, A). L'ensemble des gènes présentait une expression similaire *in vitro*, et parmi ces gènes, deux clusters sont apparus, comprenant une fraction surexprimée (cluster 1) et une fraction sous-exprimée (cluster 2) dans les populations *in vitro* vs *ex vivo*. Les gènes du cluster 1 étaient exprimés à des niveaux élevés similaires parmi les échantillons *in vitro*, contrairement aux populations *ex vivo*. A l'inverse, parmi les gènes du cluster 2, on observe des profils d'expression différents parmi les populations *ex vivo* : ainsi, on trouve une fraction surexprimée dans les NBm, une fraction surexprimée par les NBm et les NBi, comprenant les gènes *Dlx5*, *Dcx* et *β III-Tub*, ainsi qu'une fraction exprimée par les NBi, PI et CSNa où l'on retrouve le gène *Dlx2*. La baisse d'expression des gènes cités après culture a été confirmée spécifiquement par RT-qPCR (Fig. C6, B), confirmant une perte de l'expression de gènes de la différenciation neuronale dans les NBi après culture. Cette perte confirme la dédifférenciation des NBi en culture, qui retournent vers un phénotype plus indifférencié et pluripotent.

Parallèlement à cette dédifférenciation neuronale, l'examen des gènes up-régulés *in vitro* vs *in vivo* a montré une surexpression de plusieurs gènes clés de la différenciation oligodendrocytaire dont *Sox10*, *Pdgfra*, *Olig2*, *Nkx6.2*, et *Ng2* (Fig. C7, A; Kuhn et al., 2019; Zhou et al., 2021). Pour visualiser les effets de la culture sur l'orientation oligodendrocytaire des cellules, nous avons donc utilisé un jeu de données issu de la littérature. Dans une étude du transcriptome de cellules uniques des cellules de la ZSV, Zywitza et al. ont en effet décrit la différenciation oligodendrocytaire de progéniteurs de la ZSV, et ont publié une liste de gènes surexprimés dans les précurseurs oligodendrocytaires par rapport aux autres populations (Zywitza et al., 2018). La représentation en heatmap des gènes de cette liste montre un changement moléculaire net entre les populations *ex vivo* et *in vitro*, mettant en lumière une surexpression importante de la majorité des gènes du lignage oligodendrocytaire *in vitro* (Fig. C7, A). Parmi ces gènes se trouvent de nombreux gènes clés de la différenciation oligodendrocytaire des progéniteurs subventriculaires, dont *Sox10*, *Pdgfra*, *Olig2*, *Nkx6.2*, et

Ng2 (El Waly et al., 2018, 2022). L'expression de ces gènes a été mesurée spécifiquement par RT-qPCR, confirmant leur surexpression dans les populations *in vitro* (Fig. C7, B).

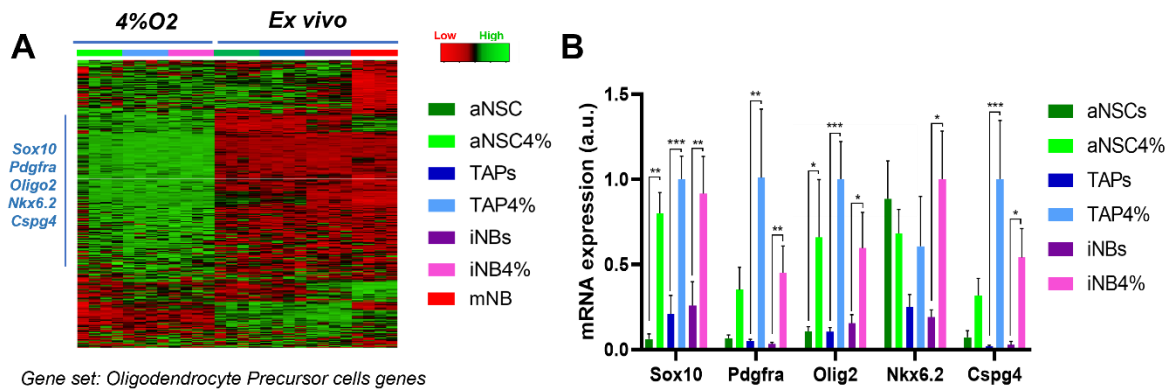


Figure C7. Les NBI cultivés en hypoxie se réorientent vers le lignage oligodendrocytaire. (A) Heatmap de l'expression des gènes de la gene ontology *Oligodendrocyte Precursor Cells* établi par Zywitza et al., 2018. (B) RT-qPCR de gènes marqueurs de l'orientation oligodendrocytaire (n=8). **, ****: $p < 0.01$ et $p < 0.001$ aNSC: cellules souches neurales activées (vert, -4% vert vif). TAP: progéniteurs intermédiaires (bleu foncé, -4% bleu clair). mNB: neuroblastes matures (rouge). iNB: neuroblastes immatures (violet, -4% magenta) DAPI: bleu.

Ces résultats confirment la dédifférenciation des NBI-4%, et montrent une reprogrammation des CSNa-4%, PI-4% et NBI-4%, qui se réorientent vers le lignage oligodendrocytaire *in vitro*. Curieusement, les expériences précédentes montrant le maintien de la multipotence et de la plasticité *in vivo* des NBI-4% n'avaient pas mis en évidence d'oligodendrogenèse spontanée dans le modèle STR hors de la trajectoire d'injection. Une explication probable vient de la distance entre le point d'injection striatal et le CC, dans lequel se produit la majeure partie de l'oligodendrogenèse physiologique de l'encéphale antérieur adulte. Par contraste, la production d'astrocytes dans la ZSV et de neurones dans le BO montre que cette orientation oligodendrocytaire est réversible *in vivo*. Elle montre également que dans le modèle STR, les NBI-4% demeurent sensibles aux signaux chémoattractants de la ZSV et du FMR. Ces éléments suggèrent que les NBI-4% pourraient se diriger vers un destin différent en présence d'un micro-environnement favorisant l'oligodendrogenèse.

Les NBI réorientés colonisent le CC *in vivo*

Afin d'étudier l'effet de la réorientation oligodendrocytaire des NBI-4%, nous avons utilisé un second modèle de transplantation, issu de la littérature et développé pour étudier le destin des populations de CSNq et CSNa (Codega et al., 2014). Ce modèle consiste en l'injection unilatérale des cellules en 3 points du striatum très proches de la ZSV, répartis le long de celle-ci selon l'axe antéro-postérieur (modèle SVZ-3, Fig. C8, A). Dans notre article précédent, nous avons utilisé ce modèle pour étudier le destin des NBI après transplantation, et avons montré une plasticité de cette population *in vivo*, produisant des neurones dans le BO et des astrocytes colonisant la ZSV, ainsi que des cellules différenciées des trois lignages neuraux le long de la trajectoire d'injection.

Nous avons donc utilisé ce modèle pour évaluer la plasticité de NBI-4% issus de souris β -actin::eGFP en présence du microenvironnement spécifique de la ZSV. Afin de suivre dans le temps le destin des cellules transplantées, les cerveaux des souris receveuses ont été observés par immunofluorescence à 2 (n= 7 animaux) ou 5 (n= 4 animaux) semaines post-injection (Fig. C8, A). Les cellules eGFP+ observées ont été trouvées uniquement au sein du TI, du CC et de la ZSV (Fig. C8, B,F). Les cellules eGFP+ localisées dans la TI comprenaient des astrocytes exprimant la GFAP, des oligodendrocytes exprimant l'Olig2, ainsi que des neurones exprimant la DCX, confirmant la multipotence des cellules injectées (non montré).

Après 2 semaines, des cellules eGFP+ étaient localisées dans le mur latéral de la ZSV (Fig. C8, F). Une partie de ces cellules exprimaient la GFAP, une autre exprimait la DCX, et une troisième partie exprimait à la fois la DCX et la GFAP, reproduisant le tropisme pour la ZSV observé précédemment dans le modèle STR.

Curieusement, entre 2 et 5 semaines, la proportion de cellules ayant colonisé la ZSV avait diminuée (respectivement 53% et 17%, Fig. C8, F), et après 5 semaines ces cellules étaient principalement localisées dans les parties dorsales et ventrales de la ZSV (Fig. C8, B,C). A nouveau, ces cellules exprimaient la GFAP, la DCX, ou les deux, suggérant une reprogrammation des NBI-4% entre 2 et 5 semaines après transplantation. Cinq semaines après transplantation, certaines cellules étaient situées au niveau de la ZSV dorsale, tandis que d'autres avaient migré vers la partie ventrale de la ZSV pour récréer des niches neurogéniques comprenant des cellules eGFP+ exprimant GFAP+, DCX+ ou bien les deux (Fig. C8, B, C).

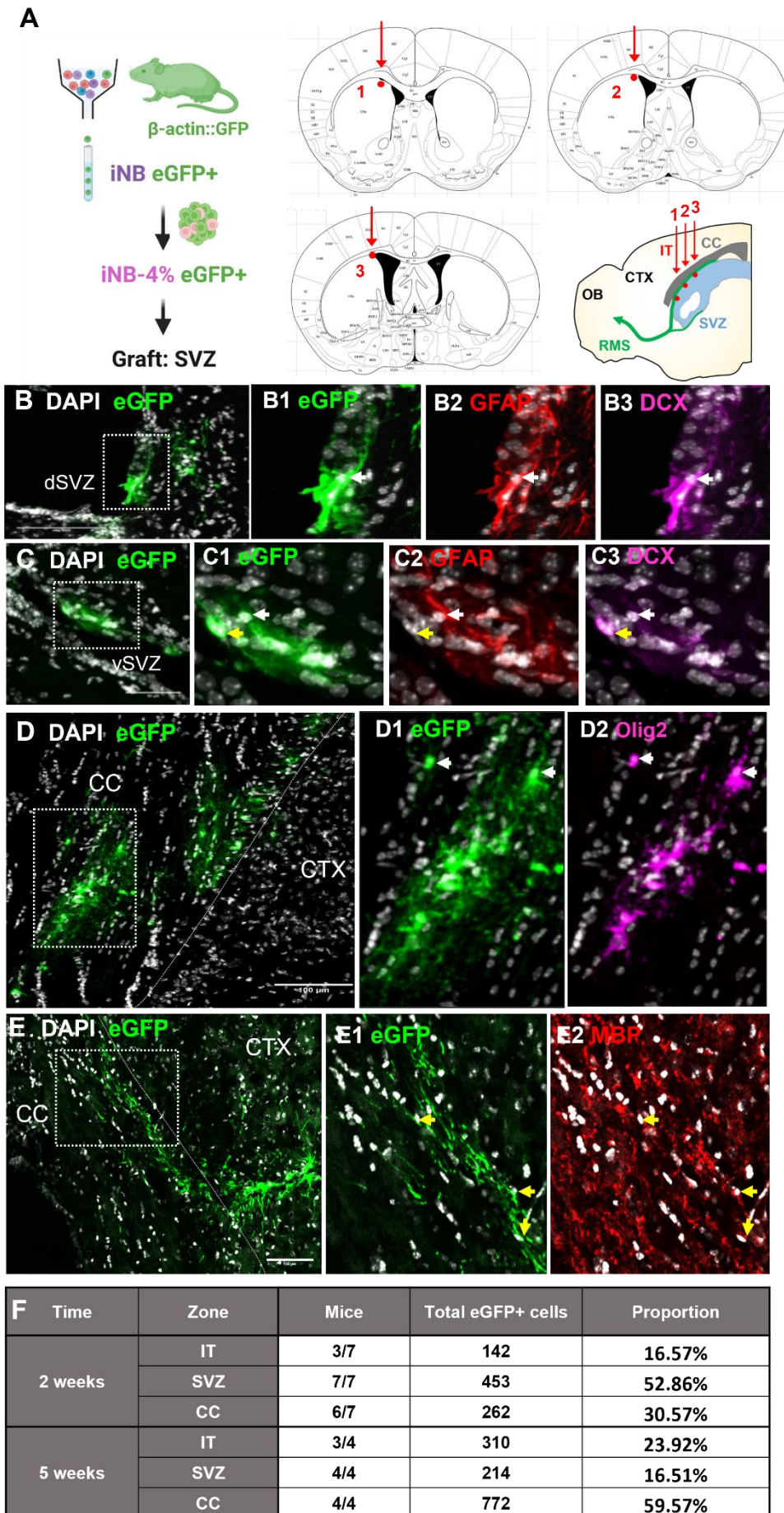


Figure C8. Les NBi cultivés forment des oligodendrocytes myélinisants dans le corps calleux. (A) Schéma de la stratégie expérimentale : des NBi (iNB) ont été triés à partir de souris exprimant l'EGFP de manière constitutive. Des cellules issues de la culture en hypoxie de ces NBi eGFP+ (iNB-4%) ont été transplantées dans le striatum proche de la ZSV, puis le destin des cellules 2 semaines après transplantation ont été comparés par immunofluorescence. (B-E) Immunofluorescence des cerveaux transplantés traçant les marquages eGFP (vert), Dcx (rose, **B3, C3**), Olig2 (Rose, **D2**) GFAP (rouge, **B2, C2**) et MBP (rouge, **E2**) dans les cerveaux transplantés avec des NBi. (F) Répartition par région des cellules eGFP+ observées dans les cerveaux transplantés comparé aux résultats *ex vivo* obtenus précédemment (Cf Article). n = 3 expériences indépendantes. OB : bulbe olfactif. (a) RMS : Flux migratoire rostral (antérieur). SVZ : Zone sous-ventriculaire. CC : Corps calleux. (q/a)NSC: cellules souche neurale quiescente/activée. TAP : progéniteur intermédiaire. mNB : neuroblaste mature. OPC : progéniteur oligodendrocytaire. Echelle (blanc) : 100µm (B,D,E), 50 µm (C).

Bien que dans le modèle de greffe (SVZ), les cellules eGFP+ iNB4% soient injectées à proximité du FMR, aucune cellule eGFP+ n'a été observée dans le BO, après 2 ou 5 semaines, contrairement aux observations du modèle STR. Les cellules eGFP+ injectées dans les 2 modèles ayant été cultivées dans les mêmes conditions d'hypoxie physiologiques pendant 2 semaines, cette différence de destin *in vivo* témoigne d'un impact du microenvironnement sur l'orientation des cellules eGFP+ iNB4% dans les cerveaux receveurs. Les NBi-4% ayant un profil de progéniteurs oligodendrocytaires, d'après notre étude de microarrays, ces cellules semblent essentiellement attirées vers le CC pour s'y différencier en oligodendrocytes au détriment de leur migration dans le FMR pour rejoindre le BO et s'y différencier en neurones. Cette absence de cellule dans le BO après 5 semaines révèle enfin que les cellules eGFP+ ayant recolonisé la niche neurogénique dès 2 semaines après transplantation n'initient pas de neurogenèse.

Ces expériences montrent que le changement d'orientation des NBi *in vitro* en conditions d'hypoxie physiologique est conservé par une majorité de NBi-4% après transplantation *in vivo*. Par ailleurs, une proportion non négligeable de NB-i4% conserve leur plasticité, ainsi qu'un tropisme pour la ZSV. Dans l'ensemble, les résultats obtenus pour les 2 modèles de greffes mettent donc en évidence un rôle majeur du microenvironnement dans le destin des NBi-4% greffées.

Les NBi Dcx+ cultivés sont aussi réorientés en culture en hypoxie physiologique

Dans les expériences présentées jusqu'ici, les NBi étaient considérées comme une population homogène. Cependant, dans notre article précédent, nous avons distingué deux classes de NBi : les NBi *Dcx*+ exprimant le gène *Dcx*, et les NBi *Dcx*- ne l'exprimant pas. A l'aide d'un modèle génétique de souris DCX-Cre^{ERT2}::CAG-floxed-eGFP (DCX-Cre) permettant la recombinaison des cellules exprimant la *Dcx* après traitement au tamoxifène, nous avons montré qu'après transplantation des NBi-eGFP+ fraîchement isolés dans le modèle SVZ-3 *in vivo*, aucune cellule n'a été observé dans le cerveau des souris greffées, contrairement à la population totale de NBi, suggérant que la plasticité des NBi *in vivo* provienne de la fraction *Dcx*-. Pourtant, les NBi *Dcx*+ présentaient des propriétés de cellules souches, à savoir une capacité à former des neurosphères ainsi qu'une multipotence *in vitro*. Nous avons donc cherché à étudier si les NBi DCX+ conservaient leur multipotence après culture en hypoxie physiologique, et si elles conservaient le même potentiel de régénération *in vivo* que les NBi-4%.

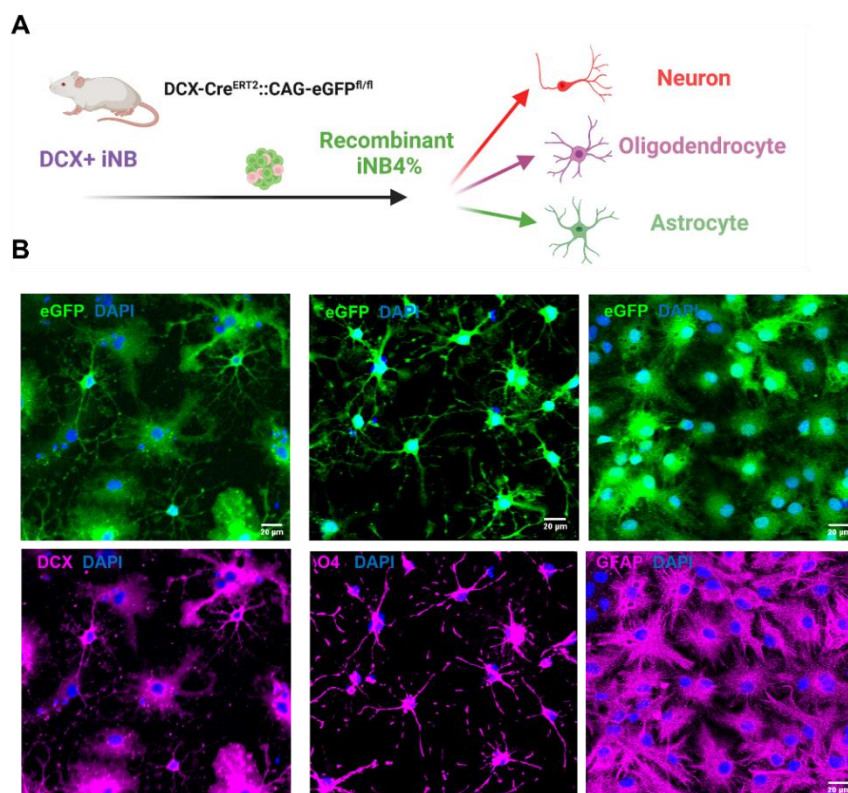


Figure C9 : Les NBi *Dcx*+ conservent leur multipotence en culture en hypoxie. Des NBi eGFP+ (*Dcx*+ iNB) ont été isolés à partir de souris DCX-Cre 2 jours après traitement TMX, puis cultivés en hypoxie physiologique durant 14 DIV (Recombinant iNB4%). Après différenciation dans les milieux appropriés (A), un marquage par immunofluorescence (B) a montré la présence de neurones DCX+ (gauche, magenta), d'oligodendrocytes O4+ (milieu, magenta), et d'astrocytes (droite, magenta) par les cellules eGFP+ (vert). Echelle (blanc): 20 µm.

Pour cela, des NBI recombinants eGFP+ ont été triés à partir de souris DCX-Cre traitées au tamoxifène, cultivés 14 jours en hypoxie physiologique, puis induits en différenciation dans les trois types cellulaires du lignage neural dans les mêmes conditions que précédemment (Fig. C9, A). Le marquage par immunofluorescence des cellules différenciées a permis de montrer la formation de neurones DCX-positifs, d'oligodendrocytes O4+, ou d'astrocytes GFAP+, confirmant la multipotence des cellules cultivées issues des NBI-4% Dcx+.

Les NBI-4% Dcx+ eGFP+ isolés à partir de souris Dcx-Cre traitées au tamoxifène ont ensuite été transplantés suivant le modèle SVZ-3, et le destin des cellules transplantées a été observé après 2 semaines par immunofluorescence sur tranches de cerveaux transparisés à l'aide du protocole Ce3D (Fig. C10, A). Comme précédemment, les cellules eGFP+ ont été observées principalement dans le CC et le long du site d'injection. Un marquage MBP a permis de montrer le caractère myélinisant des cellules eGFP+ localisées dans le CC. Cependant, contrairement aux NBI-4%, nous n'avons pas observé de cellules eGFP+ GFAP+ le long de la ZSV, suggérant que les NBI-4% Dcx-Cre avaient perdu leur tropisme pour la ZSV.

Ces résultats montrent que la fraction Dcx+ des NBI, conserve une multipotence *in vitro*. Ils montrent ensuite, comme pour la population de NBI-4%, une dédifférenciation neuronale et réorientation vers la différenciation oligodendrocytaire, qui aboutit à une production importante d'oligodendrocytes myélinisants dans le CC dans le modèle SVZ-3.

Dans l'ensemble, nous avons donc montré que les NBI forment une population indifférenciée ne comportant pas de progéniteurs oligodendrocytaires mais expriment des marques de progéniteurs du lignage neuronal. Nous avons ensuite montré que la culture en hypoxie physiologique ou en normoxie conservait la multipotence des progéniteurs neuraux *in vitro*. A l'aide du modèle de transplantation STR-1, nous avons montré que cette culture altérait la plasticité des NBI, leur conférant un tropisme pour la ZSV mais limitant leurs capacités neurogéniques. Nous avons ensuite caractérisé les effets de la culture en hypoxie physiologique sur les progéniteurs neuraux, en mettant en évidence une réorientation vers un phénotype de progéniteurs oligodendrocytaires. Cette réorientation altère le tropisme des NBI-4%, qui après greffe dans le modèle SVZ-3, ont montré une oligodendrogenèse massive, et une capacité à coloniser la niche neurogénique, sans atteindre le BO pour se différencier en neurones.

Enfin, nous avons montré que la multipotence de la fraction Dcx+ des NBI est conservée par la culture en hypoxie physiologique, et que les NBI-4% Dcx+ recombinés présentaient les mêmes capacités oligodendrogéniques que les NBI-4% totaux, mais ne présentaient pas le même tropisme pour la ZSV.

A

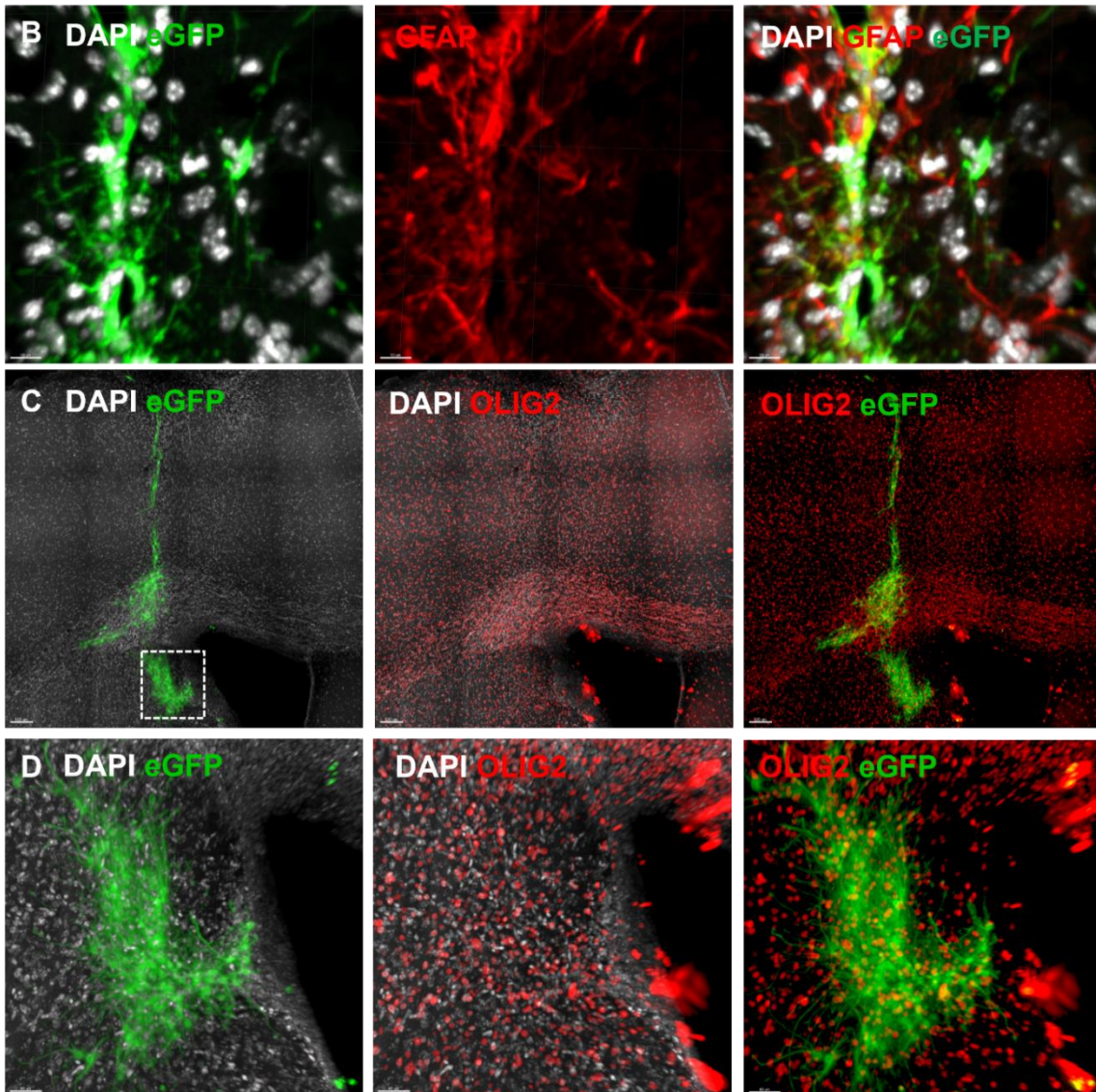
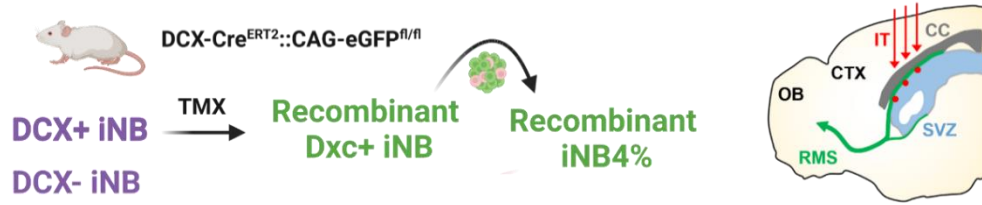


Figure C10: Les NBI Dcx+ cultivés produisent des oligodendrocytes dans le CC mais n'ont pas de tropisme pour la ZSV. (A) . Des NBI eGFP+ (Dcx+ iNB) ont été isolés à partir de souris DCX-Cre 2 jours après traitement TMX, puis cultivés en hypoxie physiologique durant 14 DIV (Recombinant iNB4%). Les cellules ont été transplantées suivant le modèle SVZ, et le destin des cellules eGFP+ a été observé par immunofluorescence sur coupes **(B)** ou tranches de cerveau clarifiées **(C,D)** suivant le protocole Ce3D **(B-D)**. **(D)** Magnification de la zone indiquée de **(C)**. n= 4 animaux. Echelle (blanc) : 10 (B), 100 (B), 40 (C) μ m.

Matériel et méthodes

Animaux et isolation des progéniteurs neuraux

Toutes les expériences sur animal présentées ici ont été réalisées avec des souris C57/Bl6-J de âgées de 8 à 12 semaines. Les animaux ont été élevés dans l'animalerie de l'IRCM (Fontenay-aux-Roses, France).

Pour l'isolation des progéniteurs neuraux, les souris ont été euthanasiées par dislocation cervicale, puis la ZSV a été disséquée sous loupe binoculaire. Une dissociation enzymatique a été réalisée avec de la Papain (Worthington, #NC9597281) puis complétée par dissociation mécanique avant l'enlèvement de la myéline sur gradient de Percoll (Sigma, #P1644), suivie d'un immunomarquage et tri cellulaire par cytométrie en flux sur Influx (BD Biosciences) à la plateforme de tri cellulaire de l'IRCM (Fontenay-aux-Roses, France). Pour immunofluorescence *ex vivo*, les cellules fraîchement triées ont été ensemencées sur laminine 2H dans du milieu de culture Neurocult (StemCell, #05702) sans mitogènes, puis fixées 15' dans 2% de PFA.

Les greffes intracrâniennes de progéniteurs neuraux β -actin::eGFP ont été réalisées sous anesthésie aux coordonnées (mm, relatif au bregma) AP, 0.0; L, 1.4; V, -2.1; (2) AP, 0.5; L, 1.1; V, -2.2; (3) AP, 1.0; L, 1.0; V, -2.5 pour l'injection en trois points (modèle SVZ-3) et AP, 0.75 ; L, 1.1, V, -2.7 pour l'injection striatale unique (modèle STR). Les animaux ont été euthanasiés par perfusion intracardiaque sous anesthésie profonde 2 ou 5 semaines après greffe, suivi d'une injection de paraformaldéhyde (PFA) 4% pour fixer le cerveau avant dissection du cerveau et post-fixation sur la nuit en PFA 4%. Pour l'immunofluorescence, les cerveaux ont été coupés au cryostat (Leica) par tranches sériées de 14 μ m.

Le maintien des lignées de souris Ng2::DsRed, β -actin::eGFP, et Dcx-Cre, ainsi que les procédures de greffe puis de perfusion intracardiaque ont été validées par le comité éthique institutionnel local (CEtEA) et spécifiquement autorisées par le Ministère de l'Agriculture (APAFIS#25978-2020061110358856 v1).

Culture et différenciation des progéniteurs neuraux

Les progéniteurs neuraux triés ont été cultivés en suspension dans du milieu Neurocult (StemCell, #05702) supplémenté d'EGF 20 ng/mL (Sigma, #GF144), de bFGF 10 ng/mL (ThermoFisher, #15950877) et d'héparine 2 μ g/mL (StemCell, #07980) et maintenus à 37°C en présence de CO₂ (5%) et d'O₂ (4% en hypoxie physiologique). Les cultures ont été surveillées quotidiennement et passées lorsque les neurosphères atteignaient une taille critique (~100 μ M), par dissociation enzymatique avec de l'Accutase (Sigma, #A6964) puis mécanique (10-

15 allers-retours). Pour les différenciations, 40000 cellules/cm² ont été déposées dans des puits coatées avec laminin (Sigma, #L2020) et poly-D-lysine (Sigma, #P6407) dans du milieu approprié. Milieu de différenciation neuronale : DMEM-F-12 supplément Glutamax (Gibco, #10565018) et B27 supplement Minus Anti-oxydants 1X (Gibco, #10889038). Milieu de différenciation oligodendrocytaire : DMEM-F-12 supplément Glutamax (Gibco, #10565018), B27 supplement minus anti-oxydants 1X (Gibco, #10889038), N-2 Supplement 1X (Gibco, #17502001), bFGF 20ng/mL (Thermofisher, #15950877) et un mix hormonal contenant de l'apo-transférine 40mg/mL (Sigma, T-2252), de l'insuline (Sigma, I-1882), de la putrescine (Sigma, P-7505), de la progestérone (Sigma, P-6149), et du sélénite de sodium (Sigma, S-9133). Le bFGF a été retiré après 5 jours pour permettre la différenciation oligodendrocytaire. Les milieux de différenciation ont été remplacés tous les 2-3 jours, et les cellules fixées avec du paraformaldéhyde 2% après 5 jours (différenciations neuronales et astrocytaires) et 12 jours (différenciation oligodendrocytaire) pour immunofluorescence.

Mesures d'ARN

Les transcriptomes des populations cultivées en hypoxies physiologiques ont été réalisées à partir d'ARN isolé avec le RNeasy Micro Kit avec traitement DNase (Qiagen), et la qualité a été contrôlée à l'aide d'un kit RNA Nano 6000 (Agilent). Pour obtenir les ADN codants le kit Ovation Nano V2 (NuGen) a été utilisé, puis les échantillons ont été hybridés sur des arrays GeneChip MouseGene2.OST (Affymetrix) suivant les recommandations du producteur par la plateforme GENOM'IC (Institut Cochin, France). Les données ont été analysées avec la Genomic Suite (Partek), faisant appel à une normalisation par algorithme RMA suivi d'une analyse statistique par ANOVA. Les analyses d'enrichissement ont été réalisées à l'aide du service en ligne GeneSet Enrichment Analysis en comparant les gènes différentiellement exprimés aux listes de gènes et gene ontology « Biological process » disponibles sur la database de signatures MSigDB (Mootha et al., 2003; Subramanian et al., 2005). Les heatmaps ont été générées à partir de ces signatures et des données de transcriptome en utilisant le service en ligne HeatMapper (Babicki et al., 2016).

Pour la RT-qPCR, les ARNs de cellules cultivées ou isolées ont été extraites avec le RNeasy Micro Kit avec traitement DNase (Qiagen), puis les ADNc ont été obtenus par reverse-transcription avec le High-capacity RT kit (Thermofisher). Les réactions de RT-qPCR ont été préparées avec du Sybr Green Master Mix en présence des sondes puis réalisées sur thermocycleur StepOne Plus (Applied Biosystems) et analysées à l'aide du logiciel StepOne (Applied Biosystems).

Immunofluorescence

Les tranches de cerveaux ont été perméabilisées 1h en tampon de perméabilisation PBS contenant du Triton 0.3% et 1% d'albumine de sérum bovin (BSA), incubées une nuit à 4°C avec les anticorps primaires en tampon de marquage PBS contenant du Triton 0.1% et 1% BSA, lavées au PBS puis incubées 2h à température ambiante avec les anticorps secondaires en tampon de marquage, et enfin montées avec une solution de contre-marquage DAPI. Les immunofluorescences ont été réalisées avec la même procédure mais des temps de marquages différents (respectivement 2h et 2h à température ambiante), puis contre-marquées 10' au DAPI 1mg/mL. Les images ont été acquises à grossissement 20X avec un microscope Leica Sp8 pour les tissus, et Nikon A1 pour les cellules, puis visualisées et analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

Partie 2 : Rôle du miR-342-3p dans la régulation de la neurogenèse

Introduction

Les populations neurogéniques de la ZSV donnent lieu, en condition physiologique, non seulement à la neurogenèse, mais aussi à une oligodendrogenèse dans le CC voisin (Menn et al., 2006). Ainsi, des sous-populations de CSNa et de PI présentent une orientation vers le lignage glial, et en particulier oligodendrocytaire, qui sous-tend cette myélinisation physiologique continue du CC. Cependant, en conditions pathologiques, et notamment dans des conditions de démyélinisation, des progéniteurs neuraux peuvent être mobilisés en quantité plus importante pour migrer vers les régions démyélinisées et participer à la régénération des oligodendrocytes qui constituent la gaine de myéline. Ces populations sont à la fois composées des progéniteurs présentant une orientation gliale, mais comprennent également des cellules ayant une orientation neuronale. Notamment, après démyélinisation focalisée du CC par injection de LPC, Jablonska et collaborateurs ont montré qu'une fraction des cellules Dcx+ étaient capables de migrer vers le site de lésion pour s'y différencier en oligodendrocytes myélinisants (Jablonska et al., 2010; Cayre et al., 2021; Gacem and Nait-Oumesmar, 2021; El Waly et al., 2022). La mobilisation des populations Dcx+ pourrait donc présenter un intérêt pour la régénération de la myéline dans le cas de pathologies démyélinisantes. Pour cela, la réorientation des progéniteurs neuronaux pourrait s'appuyer l'activation du programme oligodendrocytaire pour augmenter la proportion de progéniteurs neuronaux participant à la régénération myélinique. Toutefois, cela semble déjà être le mécanisme mis en jeu par la réorientation oligodendrocytaire des neuroblastes après lésion démyélinisante : en effet, la mobilisation des progéniteurs Dcx+ n'affecte globalement pas la neurogenèse, et ne provoque pas de diminution des populations Dcx+ de la ZSV (Jablonska et al., 2010; El Waly et al., 2022). Ainsi, seule une minorité de cellules réceptives se détournent de leur orientation neuronale pour se diriger vers le lignage oligodendrocytaire, suggérant un maintien moléculaire fort de l'orientation neuronale au cours de la neurogenèse. Pourtant, les expériences présentées précédemment montrent la présence d'une population Dcx+ abondante et conservant sa multipotence. Par conséquent, l'identification des acteurs de ce maintien de l'orientation neuronale pourrait fournir des cibles moléculaires, dont l'inhibition pourrait lever le maintien de l'orientation neuronale dans la fraction pluripotente des neuroblastes. Cette levée d'inhibition pourrait ainsi favoriser la différenciation oligodendrocytaire, et ainsi améliorer la mobilisation des progéniteurs de la ZSV après lésion démyélinisante, pour enfin augmenter la contribution des progéniteurs neuraux à la régénération de la myéline.

Dans les résultats précédents, nous avons précisé le moment de l'engagement en différenciation neuronale, en identifiant les populations de NBi multipotentes et de NBm, population qui semblent irréversiblement engagées dans la différenciation neuronale. La description moléculaire de la transition NBi/NBm, qui correspond donc à la perte de la multipotence, pourrait donc fournir des cibles dont l'action inhibe la différenciation oligodendrocytaire et restreint les cellules à un destin neuronal. Dans les travaux présentés ici, nous avons donc utilisé nos analyses transcriptomiques pour identifier un acteur, le miR-342-3p, comme un régulateur potentiel de l'engagement en différenciation neuronale. Nous avons montré que sa surexpression dans les progéniteurs neuraux diminuait la prolifération et inhibait l'expression de gènes de la différenciation oligodendrocytaire, tandis que son inhibition favorisait la différenciation oligodendrocytaire et inhibait la différenciation neuronale.

Résultats

Le miR-342-3p inhibe des gènes de prolifération et de différenciation oligodendrocytaire

Nous avons donc cherché à identifier des cibles moléculaires susceptibles de jouer un rôle modulateur dans l'engagement en différenciation neuronale et la perte de plasticité des NBi. Pour ce faire, nous avons utilisé les analyses transcriptomiques des populations neurogéniques de la ZSV, en se focalisant sur la perte de multipotence, que nous avons identifiée à la transition NBi/NBm. Parmi les cibles potentiellement up-régulées à la transition NBi/NBm, nous nous sommes particulièrement intéressés aux micro-ARNs (miRs), de petits ARNs non codants inhibant l'expression de protéines cibles en provoquant la dégradation des transcrits (Gebert and MacRae, 2019). Ils sont exprimés sous deux formes, la forme -3p et la forme -5p, aux cibles moléculaires différentes. Leurs rôles de levier dans la régulation de processus tels que la différenciation ou l'arrêt de la prolifération, associés à leurs capacités de passage de la barrière hémato-encéphalique, en font des candidats d'intérêt majeur dans la recherche de cibles thérapeutiques pour le système nerveux central (cf Chapitre 4, partie 1, Zhao and Zlokovic, 2017; Gebert and MacRae, 2019). L'analyse transcriptomique des populations de la ZSV ne mesure pas par nature l'expression des miRs. Cependant, elle détecte l'expression des formes longues d'ARN très immatures telles que les pri-miRs. Ainsi, par comparaison entre les stades NBi et NBm, plusieurs miRs candidats ont pu être identifiés comme étant up-régulés à cette transition (Fig. C11, A). Ces différents candidats ont été évalués, d'abord par la recherche de fonctions connues dans la littérature, puis par la recherche de leurs cibles putatives sur des bases de données de prédiction de cibles de miRs (miRBase, TargetScan, miRDB) (Non montré).

Parmi ces candidats, le miR-342 dont la forme pré-miR était surexprimée à la transition NBi/NBm, a présenté un intérêt particulier. Tout d'abord, l'expression de sa forme pré-miR au sein de nos analyses transcriptomiques (Clariom D) des populations de progéniteurs neuraux de la ZSV montrait une expression croissante au cours de la neurogenèse, avec une augmentation majeure à la transition NBi/NBm (Fig. C11, A). Le profil de transcription du miR-342 est donc cohérent avec un rôle régulateur dans la régulation de l'engagement en différenciation neuronale.

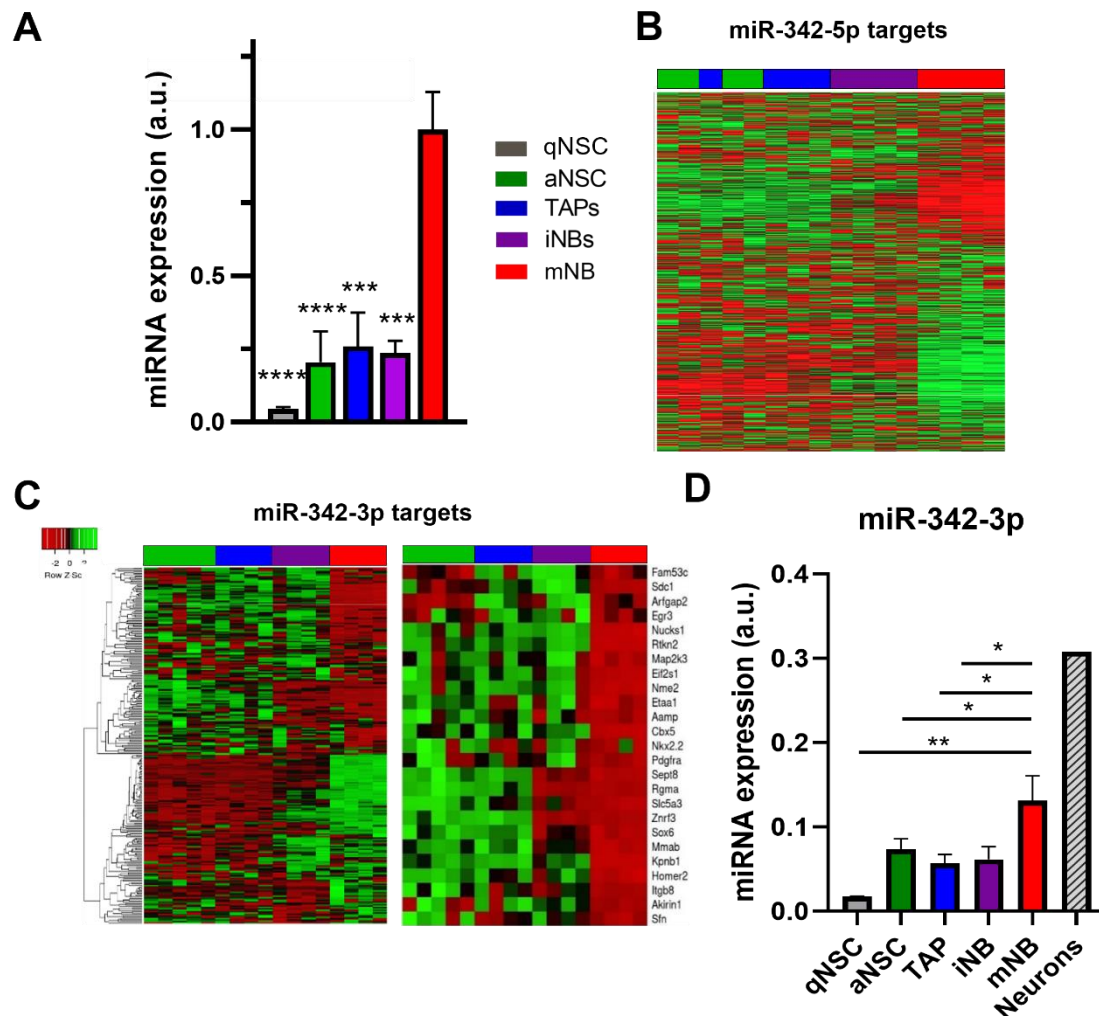


Figure C11. Le miR-342 régule l'orientation des progéniteurs neuraux. (A, B) Expression de gènes issue d'analyse transcriptomique des populations de progéniteurs neuraux par microarrays. (A) Expression du pri-miR-342 (B,C) Heatmap de l'expression de cibles prédites des formes -5p (B) et -3p (C) du miR-342, avec un zoom (droite) sur une fraction des gènes cibles du miR-342-3p. (D) RT-qPCR mesurant l'expression du miR-342-3p dans les populations de progéniteurs neuraux fraîchement isolés et progéniteurs neuronaux différenciés en neurones (n = 6). *, **, **: p < 0.05 et p < 0.01, respectivement. P-value déterminées par ANOVA one-way avec comparaisons post-hoc de Holm-Sidak. (q/a)NSC: cellules souches neurales quiescentes/activées. TAP : progéniteurs intermédiaires. iNB: neuroblastes immatures. mNB : neuroblastes matures.

Parmi plusieurs candidats dont les pré-miRs avaient des profils d'expression similaires, augmentant à la transition NBI/NBm, le miR-342 présentait un intérêt particulier : parmi les cibles prédites de sa forme -3p figurent des gènes associés à la signalisation Wnt, tels que le *Sdc1*, *Lrp8*, *Dkk1* et *Sox7*, des gènes associés au caractère souche tels que *Pax7*, *Cnmm1* et *Tcf12*, et des gènes de différenciation oligodendrocytaire tels que *Nkx2.2*, *E2F1*, *ID4* et *Pdgfra*. L'interaction directe du miR-342-3p avec *E2F1*, *ID4* et *Pdgfra* a été récemment démontrée (Lai et al., 2018; Yang and Guo, 2019; Yu et al., 2022). Ces cibles prédites suggèrent une potentielle action du miR-342-3p sur la répression de la prolifération et la différenciation oligodendrocytaire, favorisant ainsi la différenciation neuronale. De plus, le miR-342-5p a été récemment identifié *in vitro* comme un régulateur de la prolifération des cellules souches neurales embryonnaires (Gao et al., 2017). D'après cette étude, le miR-342 est réprimé par la signalisation Notch par une liaison directe d'Hes5 au promoteur du gène *Evl*, dans un intron duquel se trouve le miR-342, et le miR-342-5p inhibe la prolifération des progéniteurs neuraux embryonnaires et favorise leur progression dans la différenciation neuronale (Gao et al., 2017). Par conséquent, le miR-342 pourrait constituer un levier régulant l'arrêt de la prolifération et l'engagement dans la différenciation neuronale. Afin d'observer l'adéquation des cibles du miR-342 avec un rôle régulateur de l'orientation neuronale, l'expression des cibles prédites du miR-342-5p et du miR-342-3p au cours de la neurogenèse a été représentée sous forme de heatmaps (Fig. C11, B,C). La forme -5p comprend un panel très large de cibles potentielles.

Si l'étude de Gao et al. s'est concentrée sur la forme -5p du miR-342, les cibles prédites de la forme -3p ont semblé plus pertinentes pour notre étude. Qui plus est, plusieurs rapports ont établi une préférence de chargement du complexe Ago pour la forme d'un miR portant une adénine ou une uracyle en 5', ce qui est le cas du miR-342-3p, porteur d'une uracyle en 5' (Frank et al., 2010; Suzuki et al., 2015).

Afin d'observer l'adéquation des cibles du miR-342-3p avec un rôle régulateur de l'orientation neuronale, l'expression des cibles prédites du miR-342-3p et du miR-342-5p au cours de la neurogenèse a été représentée sous forme de heatmaps. On observe deux clusters de gènes parmi les cibles du miR-342-3p, un premier regroupant des gènes dont l'expression augmente au cours de la neurogenèse, et un second dont l'expression des gènes est diminuée au stade de NBm. Ce 2^{ème} cluster coïncide avec l'augmentation de l'expression du miR-342-3p et contient notamment les gènes associés à la prolifération comme le *Sdc1* ainsi qu'à la différenciation oligodendrocytaire, comme le *Nkx2.2* et le *Pdgfra*. L'inhibition de ces gènes par le miR-342-3p pourrait donc favoriser la différenciation neuronale. Parmi les cibles prédites du miR-342-5p, beaucoup plus nombreuses, un cluster similaire de gènes up-régulés au stade

NBm était présent. Toutefois, parmi ces gènes ne se trouvaient pas de gènes associés à la différenciation oligodendrocytaire ou à la prolifération. Nous nous sommes donc intéressés plus particulièrement au mi4-342-3p.

En cohérence avec le transcriptome, le profil d'expression du miR-342-3p mesuré spécifiquement par LNA RT-qPCR montre une augmentation de l'expression au stade NBm (Fig.C11, D). Le miR-342-3P montre donc un pattern d'expression croissante au cours de la neurogenèse, et l'augmentation de son expression pourrait présenter un rôle modulateur dans l'engagement en différenciation neuronale.

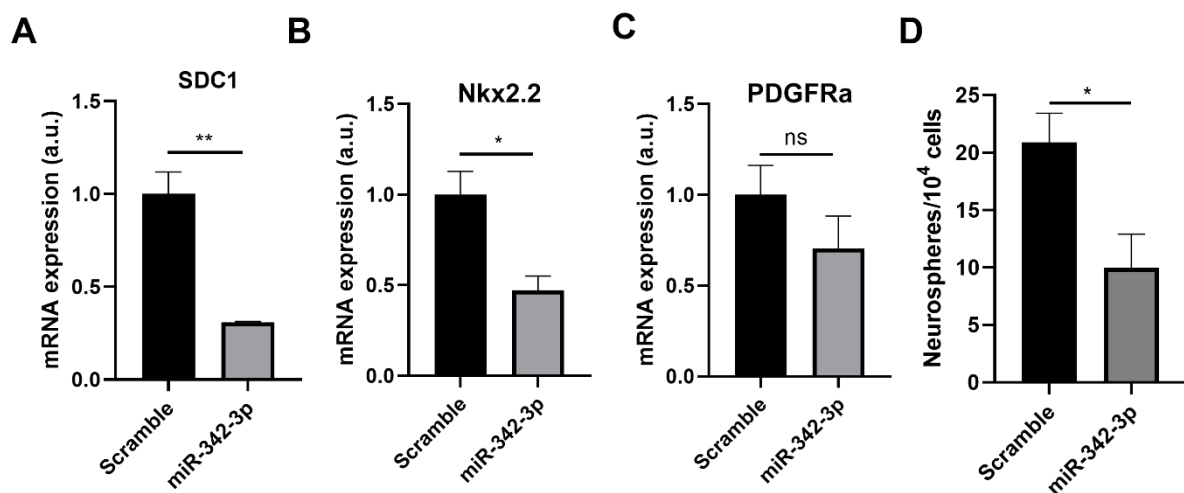


Figure C12. Le miR-342-3p régule l'orientation des progéniteurs neuraux. (A,B,C) RT-qPCR mesurant l'expression de gènes cibles du miR-342-3p 24h après transfection par un contrôle (Scramble) ou un mimic LNA du miR-342-3p (n = 8) (D) Clonogénicité 5j après transfection du mimic LNA miR-342-3p. (n = 10) *, **: p < 0.05 et p < 0.01, respectivement. P-value déterminées par comparaison de Kolmogorov-Smirnov.

Pour déterminer l'activité du miR-342 et confirmer son action sur les cibles putatives, les trois populations de progéniteurs cyclants (EGFR+) ont été triés, mis en culture pour amplification, puis transfectés par électroporation avec un mimic du miR-342-3p, confirmée par RT-qPCR (non montré). Après 24h, une diminution de l'expression des ARNm du Sdc1 et du Nkx2.2 a été observée, ainsi qu'une tendance à la baisse non significative de l'expression du Pdgfra (Fig.C12, A-C). Enfin, après 5 jours, une diminution (p < 0.05) du nombre de neurosphères formée dans les cellules transduites avec le miR-342-3p a été observée, suggérant une baisse de la prolifération (Fig.C12, D). Celle-ci ne s'est cependant pas manifestée par une baisse de la prolifération à long-terme (non montré), potentiellement par la diminution de l'activité miR-342-3p dans les cellules transfectées.

Afin d'obtenir une induction stable du miR-342, un lentivirus porteur de la séquence codante du miR-342 d'un rapporteur mCherry sous contrôle d'un promoteur CMV a été généré (ABM). Le miR-342 porté par le lentivirus étant formé par la voie de biogenèse classique des miRs, il aboutit à une expression stable des formes -3p et -5p après intégration dans le génome. La surexpression du miR-342 induit une suppression de l'expression du *Pdgfra* à 72H (Fig.C13, A). Après 2 semaines, un marquage en cytométrie a montré une perte d'expression du *SDC1* dans les cellules transduites avec le miR-342 (Fig.C13, B). Enfin, la surexpression du miR-342 a entraîné un arrêt de la prolifération, et sans doute une mortalité cellulaire, menant à une perte des cellules après 3 semaines (Fig.C13, C). Cette perte pourrait notamment être liée aux activités inhibitrices de la forme -5p sur les inhibiteurs d'apoptose *Bcl-2* et *Bcl-xL* (Veys et al., 2021).

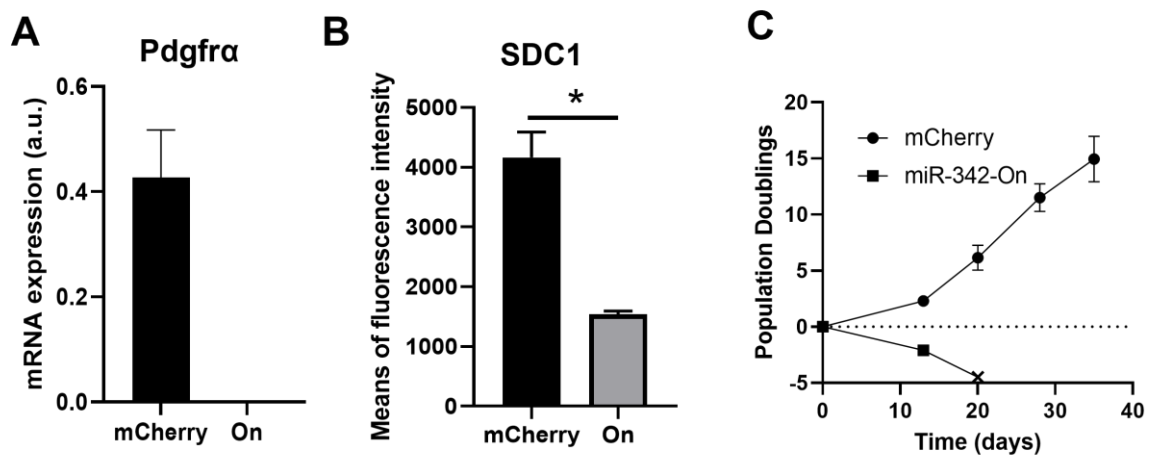


Figure C13. Le miR-342 inhibe la prolifération des progéniteurs neuraux. (A) RT-qPCR mesurant l'expression du *Pdgfra* 72H après transduction avec un lentivirus contrôle (mCherry) ou surexprimant le miR-342 (On) (n = 6). **(B)** Cytométrie en flux mesurant l'expression du *SDC1* 2 semaines après transduction du miR-342 (n = 4). **(C)** Prolifération des progéniteurs neuraux transduits après transduction du miR-342 (n = 8). *: p < 0.05. P-value déterminées par test de Mann-Whitney **(A,B)**.

Ces résultats montrent que le miR-342-3p, dont l'expression augmente au cours de la neurogenèse, et en particulier à la transition NBi/NBm, présente des cibles d'inhibition directes liées à la prolifération et à la différenciation oligodendrocytaire. Sa surexpression inhibe la prolifération ainsi que l'expression de ces gènes cibles.

L'inhibition de l'activité miR-342-3p favorise la différenciation oligodendrocytaire et inhibe la différenciation neuronale

Pour examiner l'effet d'une inhibition du miR-342-3p, une construction lentivirale porteuse d'un inhibiteur du miR-342-3p et d'un rapporteur mCherry a été générée (ABM). Des cellules EGFR+ en culture ont été transduites puis triées sur le critère mCherry 2 semaines après transduction, pour assurer une intégration stable de la construction au génome. Pour évaluer l'effet d'une inhibition du miR-342-3p sur la différenciation neuronale, les cellules transduites ont été cultivées en adhérence dans un milieu favorisant celle-ci. Nous avons observé par immunofluorescence une diminution de la proportion de cellules exprimant DCX, et B3-TUB après 5 jours de différenciation, indiquant une inhibition de la différenciation neuronale (Fig.C14, A,B). A l'inverse, en situation de différenciation oligodendrocytaire, les cellules transduites avec l'inhibiteur du mR-342-3p présentaient une proportion plus élevée de cellules pré-oligodendrocytaires NG2+O4+ et d'oligodendrocytes immatures NG2-O4+, mais une proportion similaire de précurseurs oligodendrocytaires NG2+O4- (Fig. C14, C,D, El Waly et al., 2014). Ces résultats suggèrent que l'inhibition du miR-342-3p favorise la différenciation oligodendrocytaire au détriment de la différenciation neuronale.

Dans ces travaux, nous nous sommes appuyés sur nos données d'analyse transcriptomique des populations de progéniteurs neuraux pour identifier un micro-ARN, le miR-342-3p, susceptible de jouer un rôle dans l'engagement en différenciation neuronale. Nous avons montré que son expression augmentait au moment de la perte de la multipotence des NBi, et que sa surexpression dans les progéniteurs neuraux en culture inhibait la prolifération et l'expression de gènes cibles essentiels à la différenciation oligodendrocytaire.

Nous avons ensuite montré que l'inhibition du miR-342-3p influençait l'orientation des progéniteurs neuraux *in vitro*, inhibant la différenciation neuronale et favorisant la différenciation oligodendrocytaire. Ces résultats indiquent que dans un contexte de démyélinisation, l'inhibition du miR-342-3p pourrait favoriser la formation de précurseurs oligodendrocytaires dans les progéniteurs neuraux de la ZSV.

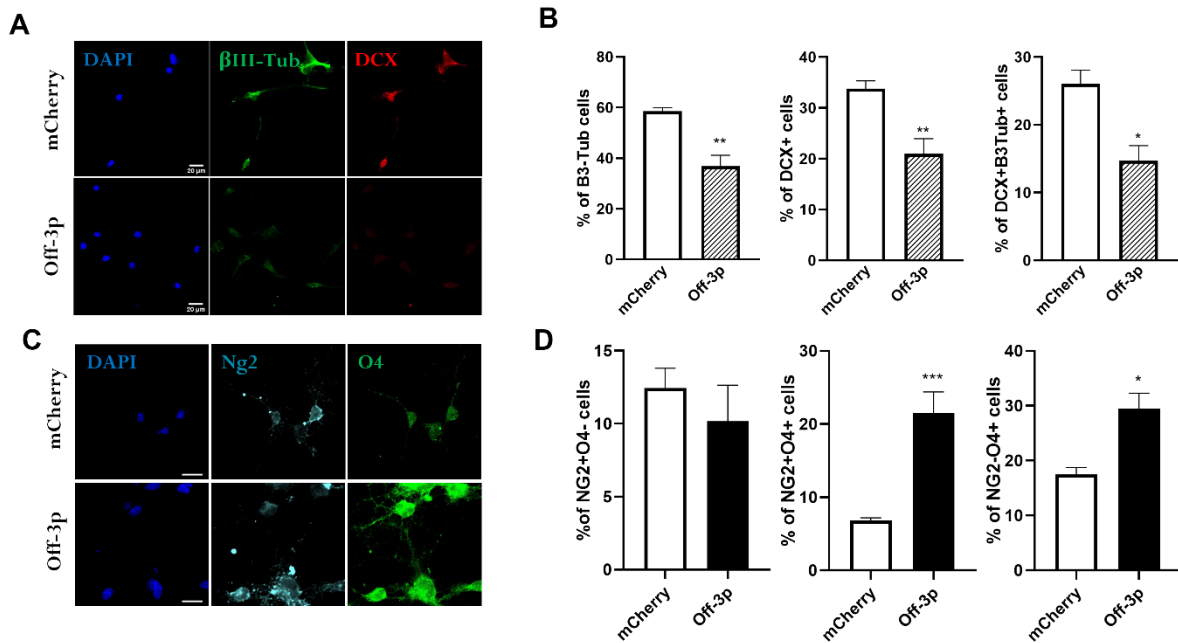


Figure C14. L'inhibition du miR-342-3p favorise la différenciation oligodendrocytaire. (A-D) Des progéniteurs neuraux cultivés ont été transduits avec un lentivirus contrôle (mCherry) ou inhibant spécifiquement le miR-342-3P (Off-3p), puis les cellules transduites ont été mises en condition de différenciation neuronale (G,H) ou oligodendrocytaire (I,J). **(A)** Immunofluorescence des progéniteurs neuraux transduits avec Off-3p après différenciation neuronale. DAPI : Bleu. βIII-Tub: vert. DCX : Rouge. **(B)** Quantification des images illustrées en (G): Pourcentage de cellules βIII-Tub+ (gauche), DCX+ (milieu), et double-positives (droite). **(C)** Immunofluorescence des progéniteurs neuraux transduits avec Off-3p après différenciation oligodendrocytaire. DAPI : Bleu. O4: vert. NG2 : cyan. **(D)** Quantification des images illustrées en (I) : Pourcentage de précurseurs oligodendrocytaires NG2+O4- (OPC, gauche), de pré-oligodendrocytes NG2+O4+ (pre-OL, milieu), et d'oligodendrocytes immatures NG2-O4+ (Imm-OL, droite). *, **, **: $p < 0.05$ et $p < 0.01$, respectivement. P-value déterminées par tests de Mann-Whitney. **(B,D)**. Dans toutes les expériences, $n = 4$ expérimentations indépendantes. Echelle (blanc) : 20 μm .

Matériel et méthodes

Culture et différenciation des progéniteurs neuraux

Les progéniteurs neuraux triés ont été cultivés en suspension dans du milieu Neurocult (StemCell, #05702) supplémenté d'EGF 20 ng/mL (Sigma, #GF144), de bFGF 10 ng/mL (ThermoFisher, #15950877) et d'héparine 2 $\mu\text{g/mL}$ (StemCell, #07980) et maintenus à 37°C en présence de CO₂ (5%) et d'O₂ (4% en hypoxie physiologique). Les cultures ont été surveillées quotidiennement et passées lorsque les neurosphères atteignaient une taille critique (~100 μm), par dissociation enzymatique avec de l'Accutase (Sigma, #A6964) puis mécanique (10-15 allers-retours). Pour les différenciations, 40000 cellules/cm² ont été déposées dans des

puits coatées avec laminin (Sigma, #L2020) et poly-D-lysine (Sigma, #P6407) dans du milieu approprié. Milieu de différenciation neuronale : DMEM-F-12 supplément Glutamax (Gibco, #10565018) et B27 supplement Minus Anti-oxydants 1X (Gibco, #10889038). Milieu de différenciation oligodendrocytaire : DMEM-F-12 supplément Glutamax (Gibco, #10565018), B27 supplement minus anti-oxydants 1X (Gibco, #10889038), N-2 Supplement 1X (Gibco, #17502001), bFGF 20ng/mL (Thermofisher, #15950877) et un mix hormonal contenant de l'apo-transférine 40mg/mL (Sigma, T-2252), de l'insuline (Sigma, I-1882), de la putrescine (Sigma, P-7505), de la progestérone (Sigma, P-6149), et du sélénite de sodium (Sigma, S-9133). Le bFGF a été retiré après 5 jours pour permettre la différenciation oligodendrocytaire. Les milieux de différenciations ont été remplacés tous les 2-3 jours, et les cellules fixées avec du paraformaldéhyde 2% après 5 jours (différenciations neuronales et astrocytaires) et 12 jours (différenciation oligodendrocytaire) pour immunofluorescence.

Transfection et transduction des progéniteurs neuraux cultivés

Les cultures de progéniteurs neuraux ont été réalisées en normoxie (20%O₂). La transfection des progéniteurs neuraux cultivés a été réalisée par électroporation avec le système Néon (Thermofisher), d'après les instructions du fabricant. Le Buffer de suspension B a été utilisé avec 3 pulses de 10 ms à 1000 volts, en utilisant le mimic LNA miR-342-3p (Qiagen) comparé à un contrôle LNA Scramble (Qiagen). Les constructions lentivirales miR-Off et miR-On modifiées pour exprimer un rapporteur mCherry (Applied Bio Systems) ont été amplifiées sur cellules Hela par la plateforme CIGEX de l'IRCM (Fontenay-aux-Roses, France). Les cellules ont été transduites avec une multiplicité d'infection de 10 sur la nuit, puis lavées et réensemencées pour amplification et mesure d'ARN (24h et 72h) ou par cytométrie en flux (2 semaines). Pour les différenciations, les cellules transduites avec l'inhibiteur du miR-342-3p et le vecteur vide ont été triées 13 jours sur l'expression de la mCherry puis réamplifiées avant ensemencement en adhérence avec le milieu de différenciation approprié.

Immunofluorescence

Les cellules ont été perméabilisées 1h en tampon de perméabilisation PBS contenant du Triton 0.3% et 1% d'albumine de sérum bovin (BSA), incubées 2h à température ambiante avec les anticorps primaires en tampon de marquage PBS contenant du Triton 0.1% et 1% BSA, lavées au PBS puis incubées 2h à température ambiante avec les anticorps secondaires en tampon de marquage, puis contre-marquées 10' au DAPI 1µg/mL. Les images ont été acquises à grossissement 20X avec un microscope Nikon A1 pour les cellules, puis visualisées et analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

Discussion

Hétérogénéité des NBi

L'identification des différentes populations de progéniteurs neuraux de la zone sous-ventriculaire adulte murine s'est historiquement appuyée sur l'expression de marqueurs cellulaires pour caractériser *in vivo* et *in vitro* les mécanismes régulant la neurogenèse (Doetsch et al., 1999; Pastrana et al., 2009; Chaker et al., 2016). Cette capacité à classer et isoler les cellules a permis l'identification d'un modèle de la neurogenèse basé sur l'existence de 4 populations : les cellules souches neurales quiescentes (CSNq), les cellules souches neurales activées (CSNa), les progéniteurs intermédiaires (PI), et les neuroblastes (Doetsch et al., 1999; Kirsten Obernier and Alvarez-Buylla, 2019). Ce modèle simple à l'échelle des populations de cellules (modèle cellulaire) a permis d'envisager la neurogenèse comme la succession de 3 étapes d'activation, d'amplification et de différenciation, et d'identifier des acteurs indispensables à la progression à travers ces différentes étapes. Néanmoins, les différents marqueurs cellulaires proposés historiquement présentent chacun des limites propres de sensibilité et de spécificité provoquant des différences dans les définitions dans les populations.

Durant la dernière décennie, deux nouvelles approches biologiques sont cependant venues bousculer ce modèle. D'une part, l'alliance de techniques de fate-mapping et de modélisation mathématique continue de redéfinir le destin des cellules souches individuelles (Ponti et al., 2013; Obernier et al., 2018; Bottes et al., 2021; Baur et al., 2022). D'autre part, les techniques d'analyse transcriptomique à l'échelle de la cellule unique révèlent une mosaïque d'expression génique complexe, et la communauté peine à réconcilier cette description détaillée à l'échelle cellulaire avec les définitions classiques des différentes populations de la ZSV (Llorens-Bobadilla et al., 2015; Mizrak et al., 2019; Dulken et al., 2019; Belenguer et al., 2020; Cebrian-Silla et al., 2021; del Águila et al., 2022).

En effet, ces approches offrent des jeux de données complexes possédant de nombreuses dimensions et portant un bruit considérable. Leur analyse repose sur des projections de ces dimensions, qui s'appuient sur l'identification des similarités de profils d'expression pour rassembler les cellules au sein de clusters (Hao et al., 2021). Cependant, le cycle cellulaire implique des changements transcriptomiques majeurs communs aux cellules en prolifération, qui vont ainsi masquer les spécificités des différentes populations. Il en résulte que dans toutes les études de cellules uniques de la ZSV parues à ce jour, les cellules cyclantes sont rassemblées algorithmiquement au sein des mêmes clusters, sans mettre en évidence la présence de populations distinctes à l'intérieur de ces clusters (Llorens-Bobadilla et al., 2015; Mizrak et al., 2019; Dulken et al., 2019; Cebrian-Silla et al., 2021; del Águila et al., 2022). La

majorité des études disponibles ont par conséquent classifié l'ensemble des cellules prolifératives observées dans une population mitotique unique, souvent identifiée aux PI, sans pouvoir distinguer la progression vers la différenciation neuronale au sein de ces populations. Ainsi, les transcriptomes de cellules uniques fournissent actuellement un modèle moléculaire très différent du modèle cellulaire classique, récemment illustré poétiquement comme un oiseau neurogénique, dans lequel les CSN et PI non prolifératifs donnent naissance à une population indistincte de cellules mitotiques, qui génère à son tour des neuroblastes (Cebrian-Silla et al., 2021).

Nous avons donc cherché à réconcilier ces deux définitions, cellulaires et moléculaire, et à distinguer la progression de la différenciation neuronale au cours du cycle cellulaire. Nous nous sommes appuyés sur les analyses précédentes du laboratoire, qui montraient une prolifération importante des populations de PI et de NBI, ainsi que sur nos données d'analyses transcriptomiques, qui ont montré que les NBI représentaient une population dans lesquelles les gènes du cycle cellulaire étaient très fortement exprimés, et qui présentait une expression de gènes liés à la différenciation neuronale plus importante que les PI.

Nous avons ensuite cherché à mettre en évidence la population de NBI dans notre analyse transcriptomique de cellules uniques. Pour cela, une approche possible était d'utiliser un modèle où la représentation des différentes populations variait, afin de pouvoir s'appuyer sur une différence d'ordre cellulaire qui permettrait d'informer l'analyse moléculaire. Nous avons donc utilisé un modèle d'irradiation localisée de la ZSV à dose modérée (4 Gy), qui provoque une déplétion des populations cyclantes de la niche neurogénique (Shinohara et al., 1997; Chevalier et al., 2012). Notre laboratoire a précédemment montré que dans ce modèle, la déplétion des neuroblastes, sécréteurs de GABA_A, inhibe la signalisation GABAAR dans les CSNq, provoquant leur sortie de quiescence (Daynac et al., 2013). Celles-ci donnent ensuite séquentiellement naissance aux populations successives de progéniteurs neuraux. Ces données nous ont permis de choisir un temps d'observation à 5 jours post-irradiation, qui coïncide avec une réapparition d'environ 80% des NBI et l'absence de NBm néoformés, résultant en un enrichissement important des populations de CSNa, PI et NBI (Daynac et al., 2013).

Il est important de noter que des dommages substantiels sont infligés au microenvironnement de la ZSV après son irradiation à forte dose (Lazarini et al., 2009; Jose R. Pineda et al., 2013). Notre modèle utilise une dose modérée, mais induit vraisemblablement des altérations substantielles du micro-environnement, qui provoquent un changement du phénotype moléculaire des progéniteurs neuraux qui repeuplent la ZSV déplétée. Toutefois, dans notre analyse, nous avons considéré les échantillons irradiés et non-irradiés comme produisant des cellules appartenant aux mêmes populations. En effet, l'intégration commune des données des échantillons irradiés et non-irradiés n'a pas révélé de population cellulaire unique aux échantillons irradiés, mais a produit des clusters sur- ou sous-représentés en cellules irradiés, confirmant une proximité importante des profils transcriptomiques des cellules des deux conditions. Nous reviendrons sur ce point plus en détail par la suite.

En utilisant la signature déterminée par l'analyse transcriptomique des populations triées dans ces analyses à l'échelle cellulaire, nous avons retrouvé les différentes populations triées sur le critère de nos marqueurs, identifiant au sein des cellules cyclantes les populations de PI et de NBi. Nous avons ainsi établi un lien direct entre les populations définies à l'échelle cellulaire par les marqueurs CD15, EGFR et CD24 et les populations décrites à l'échelle moléculaire dans les analyses transcriptomiques de cellules uniques. Puis, en comparant l'expression des gènes au sein de nos échantillons irradiés et non-irradiés, nous avons établi les premières signatures géniques permettant de déterminer la progression vers la différenciation neuronale parmi les cellules cyclantes de la ZSV. Ces signatures ont permis, d'une part, de retrouver nos populations définies par les signatures des PI et NBi, et ont également fourni la première confirmation à l'échelle moléculaire de la pertinence de plusieurs gènes associés à la différenciation neuronale, dont le *Dcx*, pour définir le stade d'avancement dans la différenciation neuronale indépendamment du statut prolifératif. Ces signatures semblent d'autant plus pertinentes qu'elles permettent de distinguer les NBi *Dcx*⁺ des NBm prolifératifs. En effet, le cluster 19 semble regrouper une fraction de NBm cyclants, exprimant à des niveaux élevés les gènes up-régulés dans les NBi. Leur représentation semble cohérente avec l'existence d'une fraction de NBm en phase G2/M observée dans le modèle FUCCI-Red.

Nous proposons donc, sur la base de ces analyses, un nouveau modèle intégratif de la neurogenèse, conciliant les modèles cellulaires et moléculaires de la neurogenèse adulte. Dans ce modèle, les CSN entrent dans un état d'activation intermédiaire non mitotique, puis donne naissance à des PI prolifératifs. Ces PI donnent à leur tour naissance aux NBi D1, qui conservent clonogénicité, multipotence et plasticité. Ces NBi D1 génèrent ensuite des NBi D2 qui ont perdu une partie de la plasticité des NBi D1. Ceux-ci génèrent enfin les NBm, qui sont engagés dans la différenciation neuronale et non clonogéniques.

Caractérisation du cycle cellulaire à l'échelle de la cellule unique

L'approche développée ici a permis de fournir des signatures qui distinguent les progéniteurs neuraux précoces ou tardifs parmi les cellules cyclantes. Néanmoins, les difficultés considérables entravant l'observation moléculaire des étapes accompagnant l'amplification des progéniteurs neuraux sont loin d'être résolues. En effet, une étude majeure de Ponti et collaborateurs, Pourtant, à notre connaissance, aucune étude n'a réussi à distinguer ces cycles cellulaires successifs dans des transcriptomes de cellules uniques.

Deux difficultés semblent expliquer cette incapacité à décrire la succession des cycles cellulaires. La première difficulté est liée à la représentativité des cellules. En effet, le processus d'amplification induit nécessairement une surreprésentation des cellules résultant d'un nombre de cycles élevés. Le modèle de Ponti et collaborateurs propose ainsi entre 5 et 7 divisions séparant les CSN des neuroblastes post-mitotiques, soit une estimation d'un rapport minimum de 16 neuroblastes en division finale pour une CSNa en division initiale. L'autre difficulté majeure dans l'étude en cellules uniques de cycles cellulaires successifs est que, par nature, la description de l'état transcriptomique des cellules n'informe pas sur les dynamiques entre les différents états cellulaires identifiés. Si des analyses bioinformatiques telles que la pseudo-temporalité ou la vélocité RNA ont été créées pour pallier cette difficulté, ces analyses s'appuient sur l'assomption d'une progression entre les types cellulaires. Elles ne peuvent donc que définir un rapport entre deux états cellulaires, mais pas un sens « de circulation » entre ceux-ci. De même, si une cellule complétant un cycle cellulaire produit au moins une cellule-fille moléculairement très proche de son état initial, la transcriptomique ne permettra pas de distinguer les cellules-mères des cellules-filles.

Dans les travaux présentés ici, nous apportons une première distinction entre les stades précoces (PI), intermédiaires (NBi Dcx-), et avancés (NBi Dcx+) parmi les cellules cyclantes. En comparaison, l'étude de Ponti et collaborateurs suggère que les cellules exprimant la GFAP effectuent une division initiale, suivie de 3 à 4 divisions supplémentaires par les cellules exprimant l'ASCL1, donnant lieu à 1 à 2 divisions finales des cellules exprimant la DCX avant de quitter la ZSV (Ponti et al., 2013). Dans notre analyse, les cellules *Asc1+* comprennent une fraction des CSNa, les PI et des cellules de 4 parmi nos 5 clusters de NBi. Plus particulièrement, parmi les NBi, ces cellules correspondent principalement à la fraction Dcx- des NBi, malgré un recouvrement (14,5% des NBi) dans les expressions géniques (Ponti et al., 2013), suggérant que notre modèle ne parvient pas à capturer la succession des divisions cellulaires des progéniteurs neuraux. Cette observation suggère que la division cellulaire a une influence faible sur l'état transcriptomique des cellule-filles, qui auraient donc un état moléculaire très similaire à celui de leur cellule-mère avant entrée dans le cycle. Cette notion implique que pour observer les changements intervenant à travers les divisions cellulaires des

progéniteurs neuraux, les analyses bioinformatiques de pseudo-temporalité ou de vélocité RNA auraient un pouvoir explicatif très limité par la proximité des profils d'expression génique.

Pour mettre en évidence ces différentes étapes du cycle cellulaire, il serait donc nécessaire de concevoir des protocoles permettant de suivre ou d'extrapoler le nombre de cycles effectués par une cellule ou une population donnée. Cependant, les techniques classiques de marquage de l'ADN au BrdU, par exemple, nécessitent généralement des manipulations importantes sur le tissu fixé qui semblent *a priori* incompatibles avec l'analyse transcriptomique. Alternativement, des expériences similaires à celle présentée ici, utilisant une déplétion des cellules cyclantes par irradiation, ou utilisation d'un agent chimique, et observée à des temps précis permettant d'extrapoler le nombre de cycles cellulaires effectués par les progéniteurs, pourraient permettre d'étudier l'influence des cycles cellulaires uniques sur l'état transcriptomique.

Influence du microenvironnement sur la progression vers la différenciation

Les résultats présentés ici sur l'analyse différentielle des populations de cellules irradiées et non-irradiées se fondent sur une assumption importante : celle que les altérations induites par l'irradiation ne changent pas l'identité des populations qui réapparaissent successivement. Cet axiome nous a permis d'utiliser la dynamique de réapparition des populations pour distinguer les progéniteurs neuraux plus ou moins avancés dans la différenciation neuronale. Cependant, l'irradiation à 4Gy pourrait causer des altérations du microenvironnement : en effet, l'irradiation à forte dose provoque des changements majeurs dans la composition des populations de la ZSV, tels que l'altération du réseau de capillaires sanguins dans le domaine basal de la ZSV ou l'activation de la microglie (Panagiotakos et al., 2007; Kalm et al., 2009; Lazarini et al., 2009). Si l'irradiation à 4 Gy présente des effets bien moins drastiques, et permet une reprise de la neurogenèse, des modifications substantielles du microenvironnement ne sont pas exclues. Par ailleurs, la déplétion la population des progéniteurs neuraux modifie vraisemblablement les dynamiques neurogéniques. En effet, la description précédente de ce modèle a mis en évidence qu'après la déplétion des populations cyclantes, les populations de CSNa et PI non seulement réapparaissaient, mais se trouvaient enrichies après leur réapparition. Cette observation suggère que la déplétion des populations de progéniteurs neuraux lève des régulations paracrines exercées par celle-ci. La sortie de quiescence des CSN suivant la levée de l'inhibition de leur prolifération par le GABA sécrété par les neuroblastes est un exemple, mais d'autres régulations pourraient entrer en jeu, comme l'expression de ligands des récepteurs Notch, Dll1 et Jagged1, par les cellules Ascl1+ (Castro et al., 2006; Daynac et al., 2013). Enfin, il est possible que ces régulations affectent significativement le parcours de production des NBm : en effet, la durée ou le nombre de cycles réalisés par les progéniteurs neuraux pourrait être altérée. Si la réapparition progressive des

populations suggère qu'il ne s'agisse pas d'un phénomène massif, elle n'exclut pas un arrêt prématuré de la prolifération dans une fraction des progéniteurs cyclants. Pour examiner l'effet de ces altérations du microenvironnement, une piste possible serait de réaliser une nouvelle analyse de notre jeu de données, sous un angle différent : celui d'analyser exclusivement les échantillons non-irradiés, puis d'y projeter les cellules des échantillons irradiés. Cette analyse permettrait de comparer plus finement les niveaux d'expression de gènes entre les populations irradiées et non-irradiées, et pourrait fournir des informations supplémentaires sur les conséquences d'une irradiation à faible dose de la ZSV, en particulier sur le maintien des dynamiques de prolifération des différentes populations de progéniteurs neuraux.

Rôle des protéines d'épissage dans la neurogenèse

Notre étude de l'identité des NBi a permis de caractériser pour la première fois les événements d'épissage et la modulation de l'expression des gènes régulateurs de l'épissage ARN (REA) intervenant au cours de la progression des progéniteurs neuraux vers la différenciation neuronale. Ces modulations post-transcriptionnelles de l'expression géniques sont connues pour jouer des rôles clés dans la différenciation neuronale, la migration neuronale, et le développement cérébral (Yano et al., 2010; Grabowski, 2011; Chan et al., 2022). Nous avons observé ici une augmentation drastique des événements d'épissage à la transition NBi/NBm, corrélée à une altération majeure de l'expression des principaux REA impliqués dans la neurogenèse qui semble initiée au stade de NBi. Nous avons ainsi distingué plusieurs groupes de REA présentant des patterns d'expression spécifiques parmi nos populations neurogéniques. Ainsi, certains groupes montraient une expression décroissante au cours de la neurogenèse, comme *Msi1* et *Msi2*, surexprimés dans les CSNa et les PI, en accord avec leur rôle dans la maintenance et la prolifération des cellules souches (Sakakibara et al., 2001; Ratti et al., 2006; Velasco et al., 2019). A l'inverse, d'autres REA montraient une expression croissante avec une surexpression dans les NBi et NBm, dont *Elavl3/4*, qui sont des régulateurs positifs de la différenciation neuronale (F. Wang et al., 2015; Yano et al., 2016). Curieusement, les deux groupes étaient surexprimés dans les NBi, soulignant le rôle clé de ce stade dans la régulation des événements d'épissage. Dans nos analyses transcriptomiques, nous avons montré que cette régulation d'*Elavl4* apparaissait séquentiellement, avec une expression dans les NBi Dcx- renforcée dans les Dcx+. A l'inverse, le répresseur d'épissage *Ptbp1* a été décrit comme un répresseur de la différenciation neuronale, et montre un pattern séquentiel contraire à celui d'*Elavl3/4*, avec une diminution d'expression dans les cellules D2 (Grammatikakis and Gorospe, 2016). Le stade D2 apparaît donc comme clé dans la régulation des événements d'épissage liés à l'engagement dans la différenciation neuronale.

L'expression de *Rbfox3*, précédemment connu comme NeuN, montre une expression croissante jusqu'au stade NBI, puis une diminution abrupte à la transition NBI/NBm. Ce profil d'expression est d'autant plus étonnant que ce gène marque les neurones différenciés et est nécessaire à la maturation neuronale, et en particulier dans le développement des synapses (Lin et al., 2016). De manière étonnante, ce gène présentait un indice d'épissage particulièrement élevé dans aux transitions PI/NBI et NBI/NBm, suggérant un remaniement d'épissage spécifique au stade de NBI. Malheureusement, son expression ne semble pas suffisamment forte pour être détectée dans notre analyse en cellule unique.

Potentiel de régénération *in vivo*

Le modèle de transplantation en 3 points dans la ZSV utilisé dans ces travaux a été développé pour reproduire autour des cellules injectées le micro-environnement de la niche neurogénique, tout en permettant la migration des progéniteurs neuronaux à travers le FMR jusqu'au BO (Codega et al., 2014). Les trois points sont en effet localisés dans la section dorsolatérale de la ZSV, qui comprend les neuroblastes migrant en chaîne pour rejoindre le FMR. La présence d'une fraction de NBI dans la ZSV et leur expression de la GFAP après transplantation suggère une dédifférenciation des NBI, une réversion phénotypique de neuroblastes qui n'a, à notre connaissance, jamais été rapportée en contexte physiologique. Trois hypothèses pourraient expliquer cette réversion : la première est celle d'un artefact lié au modèle de transplantation, la seconde celle d'une expression transitoire du CD24 dans une population de cellules capable de réverser son phénotype, et la troisième celle d'une expression de la DCX reflétant une migration plutôt qu'une différenciation neuronale.

Le modèle tente de se rapprocher des conditions physiologiques, mais l'injection des cellules dans la ZSV demeure une forme de lésion, comme en témoigne la présence de cellules différenciées dans les trois lignages le long de la trajectoire d'injection : nous parlerons ici d'un modèle quasi-physiologique. Cette injection et l'inflammation qu'elle provoque sont susceptibles d'altérer substantiellement le microenvironnement d'injection. En effet, la lésion des tissus cérébraux de l'encéphale antérieure provoque un recrutement de progéniteurs neuronaux indifférenciés et de neuroblastes de la ZSV, qui migrent jusqu'au site de lésion. Or, en condition physiologiques, les cellules en migration dans la ZSV sont soit des neuroblastes rejoignant la région dorsolatérale ou migrant à travers celle-ci pour rejoindre le FMR, soit des progéniteurs oligodendrocytaires migrant vers le CC (Capilla-Gonzalez et al., 2013). Cela suggère qu'en réponse aux lésions de l'encéphale, deux phénomènes conjoints permettent la migration des progéniteurs neuronaux vers le site de lésion : d'une part, la stimulation des

capacités migratoires des progéniteurs neuraux, et d'autre part, une chimioattraction guidant les cellules migrantes vers le site de lésion. L'inflammation induite par l'injection pourrait ainsi induire une stimulation des capacités migratoires des cellules injectées. La présence de trois points d'injection peut alors apparaître comme un point limitant du modèle : répartis le long de la ZSV, il est possible que les signaux pro-migratoires originaires de plusieurs lésions soient reçues par les mêmes cellules. On peut alors imaginer que la réception de signaux ayant le même effet pro-migratoire mais des directions d'attraction différentes perturbent la directionnalité de la migration cellulaire. Dans cette hypothèse, il semblerait toutefois peu probable que cette directionnalité multiple résulte en un détournement de la cellule des zones lésées. Cependant, dans nos expériences de transplantation de cellules cultivées utilisant le modèle d'injection striatale, on observe un tropisme des NBI reprogrammés en culture, qui migrent vers la ZSV et expriment la GFAP. Cette observation est cohérente avec des rapports précédents montrant des propriétés chimioattractives de la ZSV, liées à la signalisation Shh (Angot et al., 2008). Par conséquent, ce signal attractant pourrait être responsable du tropisme pour la ZSV des NBI transplantés dans le modèle ZSV, et suggère que les NBI puissent être sensibles à la signalisation Shh.

La seconde hypothèse pouvant expliquer la présence de cellules issues des NBI dans la ZSV après transplantation repose sur une expression ectopique du CD24 par une sous-population de cellules cyclantes qui ne progresserait pas vers la différenciation neuronale. Or, nous avons également observé, dans nos expériences de tri des progéniteurs neuraux issus de souris *Dcx-Cre* traitées au tamoxifène, qu'il existe une faible proportion de PI EGFR+CD24-recombinés, qui conservent des capacités clonogéniques et multipotentes *in vivo* (non montré). La présence de ces PI recombinés et donc passés par le stade *Dcx+* suggère qu'une réversion phénotypique puisse arriver dans une fraction des NBI *Dcx+*, qui perdraient leur expression du CD24, retrouvant un phénotype moins différencié dans la ZSV physiologique. Alternativement, ces PI recombinés pourraient correspondre aux progéniteurs neuraux indifférenciés qui migrent à travers le FMR sans être engagés dans la différenciation neuronale. En effet, il subsiste dans le FMR une fraction de cellules capable de migrer et de se différencier en oligodendrocytes (Brousse et al., 2015; Deboux et al., 2020; Cayre et al., 2021). Ces résultats suggèrent donc que les NBI forment une population hétérogène dont une fraction semble capable de revenir à des stades plus précoces de la neurogenèse.

La troisième hypothèse, peut-être la plus intéressante, remet en cause l'expression de la DCX comme marqueur spécifique de la différenciation neuronale, et mérite sa propre section.

DCX et progéniteurs neuraux

La doublecortine constitue l'un des plus anciens marqueurs utilisés pour identifier les neuroblastes (Gleeson et al., 1999; Rao and Shetty, 2004). Pourtant, la question de la spécificité de son expression a été récemment remise en question, dans deux contextes : d'une part, la controverse sur l'existence de la neurogenèse humaine dans le cerveau âgé (cf III.2.b, Moreno-Jiménez et al., 2021; Sorrells et al., 2021), mais également par la publication d'une étude montrant une faible expression de la Dcx au sein des précurseurs oligodendrocytaires murins (Boulangier and Messier, 2017). Cette dernière fait suite à différents rapports de faibles expressions de la Dcx dans des progéniteurs oligodendrocytaires, et argumente que l'expression du gène Dcx est associée à la migration des progéniteurs neuraux plutôt qu'à la seule différenciation neuronale. Nous avons également observé dans des cerveaux de souris Dcx-Cre fixés 2 jours après arrêt du traitement tamoxifène, la présence ectopique de cellules eGFP+ à morphologie oligodendrocytaire dans le CC (non montré).

Ainsi, une expression transitoire de *Dcx* liée au statut migratoire fournirait une explication crédible à la présence de cellules eGFP+GFAP+DCX+ issues de NBi transplantés dans le mur latéral de la ZSV.

Cette hypothèse amène à remettre en perspective une autre considération majeure : celle de la participation des neuroblastes à la régénération des tissus lésés. La participation des progéniteurs neuraux de la ZSV à la régénération de la myéline dans un cadre pathologique est désormais bien établie, et la mobilisation des progéniteurs neuraux de la ZSV constitue un espoir thérapeutique pour favoriser la régénération de la myéline (Brousse et al., 2015; Xiao et al., 2018; Cayre et al., 2021; Butt et al., 2022). Deux rapports, dont l'un très récent, proposent également des éléments de démonstration d'une contribution de neuroblastes GAD65+ ou DCX+ à la régénération des zones démyélinisées (Jablonska et al., 2010; El Waly et al., 2022). Cependant, les observations rapportées ici sur l'expression de la DCX par des progéniteurs neuraux GFAP+ indifférenciés, ainsi que par des précurseurs oligodendrocytaires, questionnent ces conclusions. En effet, non seulement la DCX est exprimée par des progéniteurs oligodendrocytaires (Boulangier and Messier, 2017), mais de manière similaire, un rapport récent montre *in vitro* dans les PO et les oligodendrocytes, une expression des gènes *Glutamate decarboxylase Gad1* et *Gad2*, codant respectivement pour GAD67 et GAD65 (Serrano-Regal et al., 2020). Dans notre analyse de single-cell, *Gad1* et *Gad2* montrent des dynamiques d'expression similaires à celle du Dcx parmi les NBi (non montré). Si les deux études ne présentent pas d'éléments permettant d'exclure totalement la possibilité d'une acquisition transitoire de l'expression de la Dcx et/ou du GAD65 par des progéniteurs neuraux Dcx- pendant leur migration, l'étude de Jablonska et collaborateurs met

en évidence un recrutement *in vitro* des neuroblastes par la chordine, et montre que cette chordine est sécrétée en réponse à la lésion, et rend crédible l'hypothèse d'un recrutement des neuroblaste (Jablonska et al., 2010). L'étude d'El Waly et collaborateurs montre quant à elle une diminution de la proportion de cellules GAD67+ dans la ZSV 6 jours après lésion démyélinisante, qui semble favoriser l'hypothèse d'un recrutement direct de cette population (El Waly et al., 2022). Dans les deux cas, l'hypothèse d'un recrutement direct des neuroblastes n'exclut cependant pas l'acquisition de l'expression GAD65 ou de DCX par des progéniteurs neuraux recrutés par la lésion démyélinisante.

A l'inverse de la DCX et du GAD65/67, à notre connaissance, aucune étude n'a observé d'expression du Cd24 dans des progéniteurs oligodendrocytaires depuis sa caractérisation initiale, qui décrivait notamment l'extinction de son expression dans le CC adulte après P20 (Calaora et al., 1996). Il est cependant fortement exprimé dans les cellules épendymaires, et est exprimé par les astrocytes GFAP-positifs parenchymaux dans un modèle d'EAE, qui pourrait donner lieu à des astrocytes réactifs (Calaora et al., 1996; Liu et al., 2007).

Pourtant, nous avons rapporté ici que, malgré plusieurs tentatives de greffes de NBI eGFP+ issus du modèle DCX-Cre, nous n'avons retrouvé aucune cellule le long des trajectoires d'injection ou dans le CC (Cf article). Ces résultats semblent indiquer que la fraction Dcx+ des NBI, que nous identifions comme la fraction la plus immature des cellules Dcx+, a perdu cette capacité oligodendrogénique, bien qu'elle conserve des capacités clonogéniques et multipotentes *in vitro*. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer ces différences observées entre les modèles de recrutement après lésion et notre modèle de transplantation, liées aux différences de protocole. En effet, les études citées ici confirment leurs résultats en utilisant notamment un modèle proche de recrutement des cellules recombinées endogènes, dans lequel une lésion démyélinisante est directement appliquée aux souris dans lesquelles la recombinaison est induite. Les protocoles sont ainsi différents à la fois sur le traitement des cellules et sur le timing. En effet, notre protocole implique la sélection sur deux critères : l'expression de la Dcx au moment de la recombinaison, et l'expression du CD24+ et de l'EGFR+ au moment du tri cellulaire. Il exclue donc la faible proportion de CD24-EGFR+ parmi les cellules recombinées, qui pourrait résulter d'une réversion phénotypique de progéniteurs plus avancés. Cette sélection n'est pas réalisée dans les modèles *in vivo*, et l'hypothèse d'un recrutement par les lésions démyélinisantes de cellules ayant réversé leur phénotype des stades NBI à PI, plutôt que de NBI Dcx+, ne peut pas être exclue. D'autre part, si les protocoles de traitement tamoxifène prennent place sur 5 jours à la fois dans l'étude El Waly et la nôtre, cette étude fait intervenir ce traitement pendant le traitement cuprizone, tandis que notre tri cellulaire intervient 2 jours après l'arrêt du traitement tamoxifène. Il est donc possible que notre protocole mène à la sélection d'une fraction plus mature des NBI Dcx+, ayant perdu leur

plasticité. Enfin, notre protocole nécessite une étape de dissociation mécanique, qui 1) brise les jonctions cellulaires directes avec la matrice extracellulaire et les cellules voisines, 2) est susceptible de cliver des molécules présentes à la surface des cellules, 3) altère la morphologie cellulaire et pourrait désorganiser les domaines protéiques présents à la surface de la membrane plasmique. Le tri cellulaire résulte ainsi en un stress cellulaire important, qui pourrait altérer les capacités plastiques des cellules injectées, et leur capacité à survivre dans le microenvironnement inflammatoire résultant de la transplantation. En somme, les modèles de démyélinisation observant la réorientation des neuroblastes *in vivo* sont limités par la spécificité des rapporteurs observés, tandis que les modèles de transplantation permettent d'être plus stringents dans l'identification des cellules d'intérêt, peut-être au détriment des capacités cellulaires.

El Waly et collaborateurs ont cependant fait une description des changements moléculaires des cellules GAD67+ en réponse à une lésion démyélinisante, montrant une perte de l'expression de gènes associés à la différenciation neuronale et une augmentation de l'expression de gènes associés à la différenciation oligodendrocytaire. Curieusement, cette transition moléculaire semblait partielle y compris dans les cellules Gad65+ n'exprimant pas l'Olig2, suggérant que les neuroblastes non recrutés subissent également des changements moléculaires après une lésion démyélinisante. Ils ont en particulier montré une transition métabolique qui semble nécessaire à la différenciation oligodendrocytaire des cellules GAD67.

Influence de la culture sur le potentiel des NBI

Réorientation des NBI en culture

Dans cette première partie des résultats complémentaires, nous avons cherché à caractériser l'identité des NBI, et leur changement d'orientation après culture en hypoxie physiologique.

Tout d'abord, l'observation d'une absence de précurseurs oligodendrocytaires au sein des populations de progéniteurs neuraux triés confirme que les propriétés multipotentes et plastiques observées dans les NBI proviennent bien d'une population de neuroblastes, et pas d'une fraction de précurseurs oligodendrocytaires. Ensuite, l'utilisation du modèle FUCCI-Red a mis en évidence que les NBI ne sont pas engagées dans la différenciation neuronale, contrairement aux NBm.

Ces expériences confirment les résultats observés dans notre article précédent, où les analyses transcriptomiques à la fois sur populations triées et sur cellule unique montraient une forte activité proliférative dans la population de NBi, contrairement à la population de NBm. Ponti et al. avaient déterminé que dans la ZSV, les PI ASCL1-positives accomplissaient environ 3 cycles cellulaires, tandis les cellules DCX-positives se divisaient 1 à 2 fois. Cette dernière catégorie regroupe cependant environ 50% de nos NBi, mais également nos NBm. Nos résultats suggèrent que la fraction Dcx+ des NBi serait donc majoritairement responsable de l'activité proliférative décrite. Cela semble cohérent avec des rapports montrant des neuroblastes conservant des capacités prolifératives, y compris dans le RMS (Daynac et al., 2013; Khodosevich et al., 2013).

Nous avons ensuite montré que la culture en hypoxie physiologique conservait la multipotence des NBi comme celle des CSNa et des PI, malgré une réorientation vers un phénotype de progéniteurs oligodendrocytaires. En effet, dans ces conditions de culture, les cellules dérivées des NBi perdent l'expression de marqueurs du lignage neuronal, et les cellules issues des 3 populations acquièrent l'expression de marqueurs du lignage oligodendrocytaire, montrant une orientation oligodendrocytaire malgré la conservation de la multipotence. De manière intéressante, les PI-4% et les NBi-4% ont semblé converger vers un même phénotype, transcriptionnellement distinct de celui des CSNa-4%, qui ne résulte cependant pas en une différence de potentiel de différenciation.

Influence de la culture sur la plasticité des NBi

La plasticité des NBi en culture est influencée par les conditions de culture. La présence de facteurs mitogènes, nécessaire à cette culture pourrait en effet avoir une influence importante sur l'orientation des neuroblastes.

La surstimulation de la voie EGF favorise en effet la prolifération des progéniteurs neuraux de la ZSV, ainsi que leur production de précurseurs oligodendrocytaires (Gonzalez-Perez and Alvarez-Buylla, 2011). Dans les progéniteurs neuraux, la signalisation EGFR interagit en effet avec la voie Notch pour favoriser l'orientation oligodendrocytaire, et un traitement par injection d'EGF a provoqué une augmentation massive de la production de progéniteurs oligodendrocytaires (Aguirre et al., 2007, 2010; Gonzalez-Perez et al., 2009).

La signalisation FGF favorise quant à elle non seulement l'auto-renouvellement des CSN et leur maintien dans un état indifférencié, mais promeut également l'orientation gliale des progéniteurs neuraux au détriment de la différenciation oligodendrocytaire en favorisant l'expression d'Olig2 (McKinnon et al., 1990; Azim et al., 2016; Farreny et al., 2018). Cependant, cette signalisation semble associée négativement à la remyélinisation après lésion démyélinisante, vraisemblablement par inhibition de la différenciation terminale des oligodendrocytes myélinisants (Rajendran et al., 2021).

Enfin, le taux d'oxygène influe non seulement sur la prolifération *in vitro* (cf article), mais régule également plusieurs stades de la neurogenèse (Zhang et al., 2014; Khuu et al., 2021). De manière intéressante, la forme activée du facteur de transcription Hypoxia-Inducible Factor 1 α (HIF1), principal senseur de l'hypoxie cellulaire, interagit avec Olig2 pour inhiber la différenciation des précurseurs oligodendrocytaires (Allan et al., 2021). L'hypoxie physiologique pourrait ainsi participer au maintien des NBi-4% dans un état indifférencié mais orienté vers le lignage oligodendrocytaire.

Une autre hypothèse serait une hétérogénéité plus importante des PI/NBi-4% par rapport aux CSNa-4%. En effet, à chaque passage, la culture en neurosphères produit à la fois des cellules indifférenciées et des cellules plus différenciées. Or, nos analyses transcriptomiques ont montré des différences moléculaires entre les populations de PI/NBi-4% et la population de CSNa-4%. Ainsi, la prolifération des CSNa *in vivo* produit des cellules indifférenciées, tandis que celle des PI et NBi produit des cellules plus avancées dans la neurogenèse. La fraction la plus différenciée produite par les PI/NBi-4% pourrait, de la même façon, être plus avancée dans la différenciation, ou bien être exclue de l'orientation oligodendrocytaire.

Le rôle du micro-environnement sur le tropisme est mis en exergue par la transplantation des NBi-4% dans le modèle STR, qui résulte non seulement en la migration au site d'injection, mais également en une migration vers le BO par le biais du FMR, démontrant que le micro-environnement de la ZSV influe sur le tropisme des cellules réorientées vers le lignage oligodendrocytaire, qui conservent donc une plasticité. Ces résultats suggèrent également une hétérogénéité importante des NBi-4%, qui pourraient répondre différemment aux mêmes signaux du microenvironnement. Enfin, la migration inattendue de cellules eGFP+ jusqu'à la ZSV montre également un tropisme pour un état indifférencié qui semble indépendant des signaux du micro-environnement de la ZSV, ou alternativement dû à des signaux également présents dans le striatum.

Nous avons ensuite reproduit ces expériences de multipotence *in vitro* sur la fraction Dcx+ des NBI décrite dans notre article précédent et isolée à partir du modèle Dcx-Cre. Puis, des NBI-4% recombinants ont été transplantés dans le modèle SVZ-3. Nous avons montré la multipotence des NBI-Dcx+ *in vitro*, ainsi qu'un tropisme pour le CC après culture en hypoxie, confirmant que la réorientation des NBI Dcx+ en culture induit un tropisme comparable à celui des NBI-Dcx- en culture, et suggérant que les NBI Dcx+ pourraient être réorientés *in vivo*.

Rôle du miR-342 dans la neurogenèse

La caractérisation des progéniteurs *ex vivo* et cultivés montre qu'*in vitro*, les cellules dérivées des CSNa, PI et NBI acquièrent des phénotypes similaires de progéniteurs oligodendrocytaires. Dans les NBI-4%, ces changements s'accompagnent d'une réorientation de ces cellules d'un programme neuronal vers un programme oligodendrocytaire, sans toutefois induire de perte de la multipotence. Ce type de régulations ayant des effets différentiels à plusieurs stades de l'oligodendrogenèse suggère qu'il peut être avantageux, dans une perspective thérapeutique, de ne pas chercher à favoriser seulement l'orientation oligodendrocytaire, mais également d'empêcher l'engagement définitif vers la différenciation neuronale.

A cette fin, nous avons recherché parmi nos analyses transcriptomiques des acteurs permettant d'agir sur cet engagement neuronal. Nous avons identifié le miR-342-3p comme un micro-ARN promouvant la différenciation neuronale et inhibant la différenciation oligodendrocytaire, et dont à l'inverse l'inhibition favorisait le lignage oligodendrocytaire. De nombreuses études ont caractérisé sa down-régulation dans le contexte de différents cancers, où sa surexpression provoque une suppression tumorale par le biais de sa cible Bcl-2, un inhibiteur de l'apoptose (Komoll et al., 2021; Yao et al., 2022).

Ce miR-342-3p, par ses cibles géniques, pourrait jouer un rôle modulateur important dans la différenciation neuronale, et plus particulièrement dans l'engagement en différenciation. Ses cibles prédites, ainsi que ses cibles directes publiées, suggèrent que ce miR agisse à l'encontre de la différenciation oligodendrocytaire et de la prolifération pour permettre l'engagement dans le lignage neuronal.

Pour déterminer ses mécanismes d'action physiologiques, il sera à l'avenir essentiel d'identifier l'intégralité de ses cibles directes parmi celles prédites par analyses bioinformatiques. Plusieurs ont déjà été identifiées dans différents contextes : le *Pdgfra*, l'*E2F1* et l'*ID4*, tous trois acteurs de la différenciation oligodendrocytaire (Cooper-Kuhn et al., 2002; Magri et al., 2014; Lai et al., 2018; Yang and Guo, 2019; Yu et al., 2022; Huang et al., 2022). Les résultats présentés ici sont cohérents avec ces éléments de la littérature, et suggèrent que le miR-342-3p pourrait être un effecteur de la différenciation neuronale agissant par inhibition de gènes de la différenciation oligodendrocytaire.

Conclusion et perspectives

Caractérisation des NBI D2

Nous avons identifié dans ces travaux les caractéristiques cellulaires et moléculaires d'une nouvelle population intermédiaire de progéniteurs neuronaux, les neuroblastes immatures (NBI), ou cellules D, qui viennent compléter le modèle cellulaire usuel de la neurogenèse. Nous avons montré que les NBI forment une population hautement proliférative mais hétérogène, parmi laquelle deux sous-populations peuvent être distinguées sur la base de l'expression du gène *Dcx* : l'une n'exprimant pas le *Dcx* (D1) et l'autre l'exprimant (D2). Nous avons ainsi établi une signature moléculaire de ces deux populations, comprenant des marqueurs permettant de les distinguer. Ces marqueurs pourraient être combinés à des marqueurs spécifiques des NBm et des PI pour étudier la distribution de ces deux populations dans la ZSV, d'une part au niveau ARN par hybridation *in situ*, puis au niveau protéique.

Nous avons observé un potentiel clonogénique et une multipotence similaire dans ces deux populations *in vitro*, mais une plasticité différente *in vivo* dans des modèles de transplantation : les cellules D1 montraient une plasticité insoupçonnée, et une capacité à réverser leur phénotype et coloniser la niche neurogénique, que nous n'avons pas observée pour les cellules D2.

Nous avons mis en évidence des altérations majeures de l'expression des régulateurs de l'épissage ARN (REA) entre les populations neurogéniques successives, en particulier à la transition NBI/NBm. Ayant montré l'existence des populations D1 et D2 parmi les NBI, il serait pertinent de reproduire notre analyse du transcriptome des populations en s'appuyant sur notre modèle *Dcx-Cre* pour distinguer les NBI D1 et D2, et ainsi observer la régulation des REA à cette étape de perte de la plasticité. Les marqueurs ARN confirmés précédemment pourraient également être utilisés pour observer par hybridation *in situ* la prévalence des différents isoformes des REA et de leurs cibles d'épissage parmi les populations, en conditions physiologiques puis dans un modèle LPC.

Une perspective intéressante pour l'analyse des jeux de données de transcriptome en cellule unique est le développement récent d'un protocole d'analyse bioinformatiques permettant de combiner des techniques différentes de transcriptomique au sein d'une même analyse (Hao et al., 2021). Cette possibilité de concilier des jeux de données reposant sur une technologie différente nous permettrait de déterminer s'il existe des NBI dans le mur médial de la ZSV, qui n'est pas intégré à nos analyses. La conciliation de nos données avec celles de

Mizrak et collaborateurs, qui ont effectué une étude comparant les murs latéral et septal, ainsi que les différences entre les sexes, nous permettrait de déterminer si les NBI sont une population présente dans le mur septal (Mizrak et al., 2019).

Théoriquement, il serait également possible de rassembler les différents jeux de données publiés dans la littérature au sein d'une méta-analyse qui fournirait une description très résolutive de la neurogenèse subventriculaire, et pourrait permettre de distinguer les populations du modèle cellulaire parmi les cellules prolifératives. Il pourrait également être utilisé comme un atlas par l'ensemble de la communauté pour projeter les transcriptomes issus de nouvelles expériences parmi l'ensemble des populations déjà décrites.

Pour tenter de décrire la progression dans la différenciation neuronale parmi les cellules cyclantes à l'échelle moléculaire, nous avons ici utilisé un modèle d'irradiation modérée de la ZSV (4Gy), qui conduit à une déplétion des cellules cyclantes de la niche. Comme discuté précédemment, nous avons ici ignoré les altérations éventuelles du transcriptome des populations pour se concentrer sur la comparaison de la représentation des différents clusters entre les échantillons irradiés et non-irradiés. Cependant, ces altérations et les changements transcriptomiques induits par l'irradiation sur l'ensemble des types cellulaires de la niche pourrait être étudié à partir de ce jeu de données, à l'aide d'une approche d'analyse différentielle : En analysant d'abord les échantillons non-irradiés puis en projetant les échantillons irradiés sur la représentation des échantillons contrôle, une comparaison formelle des populations serait possible, et pourrait révéler des altérations de l'expression génique au sein des différentes populations en réponse à l'irradiation. En particulier, l'analyse des changements induits dans la population microgliale pourrait mettre en lumière les mécanismes de l'activation microgliale dans la niche neurogénique. Cette microglie étant physiologiquement présente dans un état plus activé que dans le parenchyme (Goings et al., 2006), il serait également intéressant d'analyser le transcriptome de la microglie parenchymale et d'observer les différences entre ces types microgliaux.

Intérêt thérapeutique des progéniteurs subventriculaires

La capacité des neuroblastes à se transdifférencier et produire des oligodendrocytes après lésion démyélinisante a été décrite dans la littérature. Afin de déterminer si les cellules D2 conservent cette capacité, un protocole alliant la transplantation de cellules D2 traçables à un modèle de lésion démyélinisante basée sur le LPC pourrait permettre d'observer le destin des cellules D2.

L'étude très récente d'El Waly et collaborateurs a notamment effectué une première description des changements transcriptomiques induits par la réorientation des neuroblastes vers le lignage oligodendrocytaire en réponse à une lésion démyélinisante (El Waly et al.,

2022). Elle porte cependant sur un nombre de cellules limitées, ce qui entrave l'analyse. En combinant notre modèle de souris Dcx-Cre et un modèle de lésion démyélinisante comme l'injection de LPC dans le CC, il serait possible d'enrichir artificiellement la fraction de progéniteurs oligodendrocytaires issus des neuroblastes, et d'ainsi générer un jeu de données de transcriptomes de cellules uniques analysant la réorientation des différentes populations de progéniteurs neuraux, mais capable de décrire précisément les états moléculaires de la fraction la plus avancée.

Alternativement, pour enrichir de façon globale la quantité de progéniteurs oligodendrocytaires issus de la ZSV après lésion démyélinisante, un modèle de cellules Glast-Cre^{ERT2}::Rosa26-eGFP^{fl/fl} pourrait être utilisé. La recombinaison des cellules souches Glast+ pourrait ainsi être induite pour obtenir des cellules eGFP+ à tous les stades de la neurogenèse quelques semaines à un mois après. Puis, en utilisant le modèle de démyélinisation LPC sur ces souris, le tri cellulaire des cellules eGFP+ de la ZSV et du site de lésion pourrait permettre d'enrichir des échantillons en progéniteurs neuraux réorientés ou non-réorientés vers la différenciation oligodendrocytaire, et, combiné avec une analyse du transcriptome de cellules uniques, d'obtenir une description moléculaire détaillée de la réorientation des progéniteurs oligodendrocytaires après lésion démyélinisante.

A une échelle plus globale, l'intérêt de l'étude de la transdifférenciation des neuroblastes vient de leur nombre. En effet, en réponse à la démyélinisation, on observe une mobilisation des PCO parenchymaux et des progéniteurs neuraux de la ZSV, qui remyélinisent les zones lésées. Cependant, ces capacités de remyélinisation du cerveau sont limitées, et diminuent d'une part avec l'âge, et d'autre part avec le temps dans le contexte de pathologies démyélinisantes chroniques (Butt et al., 2022). Ainsi, les PCO parenchymaux acquièrent un phénotype plus quiescent et réagissent moins positivement aux signaux pro-différenciation, tandis que les progéniteurs subventriculaires indifférenciés se raréfient. Dans ce contexte, les neuroblastes, qui sont plus abondants que les CSNa et PI réunis, et dont le nombre est proportionnellement moins affectés par le vieillissement que les CSN, représentent une population inexploitée. La stimulation de leur réorientation en oligodendrocytes présente donc un intérêt thérapeutique majeur. El Waly et collaborateurs, en 2018, ont montré qu'une telle transdifférenciation était possible, en surexprimant conjointement l'Olig2 et Sox10, ouvrant ainsi la voie à l'identification de cibles thérapeutiques stimulant cette réorientation.

La mobilisation d'une fraction supplémentaire de progéniteurs neuraux pourrait non seulement contribuer à la production d'oligodendrocyte, mais aussi au changement de l'environnement inflammatoire des lésions démyélinisations. En effet, les CSN communiquent avec la microglie, et sont capables d'altérer le sécrétome microglial, qui devient alors plus

neuroprotecteur. Il serait intéressant d'évaluer par les mêmes protocoles l'effet de neuroblastes réorientés sur cette microglie activée. Dans ce contexte, si les neuroblastes réorientés montraient la même influence neuroprotectrice sur la microglie que les CSN, alors la mobilisation d'une population supplémentaire de progéniteurs neuraux revêtait un intérêt thérapeutique encore supérieur.

miR-342-3p

Pour parvenir à stimuler cette réorientation, la piste que nous avons explorée ici concerne les acteurs de l'engagement en différenciation neuronale, dont l'inhibition pourrait favoriser la plasticité des neuroblastes. Nous avons donc évalué des candidats et identifié le miR-342-3p comme l'un de ces acteurs, qui favorise la différenciation neuronale au détriment de la différenciation oligodendrocytaire, et dont l'inhibition pourrait donc stimuler la réorientation des neuroblastes en réponse à une lésion démyélinisante.

D'une part, la construction lentivirale utilisée ici pour l'inhibition du miR-342 peut également être utilisée pour tester des interactions de ce miR avec des gènes cibles : l'inhibiteur du miR-342 et le rapporteur mCherry sont situés sous le contrôle de promoteurs différents, et le rapporteur mCherry pourrait ainsi être fusionnée avec une protéine d'intérêt pour évaluer l'inhibition en présence ou non du miR-342. Un criblage pourrait ainsi être réalisé pour visualiser directement l'inhibition des cibles prédites par le miR-342 en l'absence de son inhibiteur.

D'autre part, les effets observés *in vitro* de l'inhibition du miR-342-3p sur la différenciation neuronale ou oligodendrocytaire doivent être évalués *in vivo*, dans un modèle de remyélinisation tel que le modèle LPC. Pour cela, le modèle Dcx-Cre pourrait être mis à profit, pour comparer la contribution directe des neuroblastes Dcx+ à la remyélinisation avec ou sans inhibition du miR-342-3p. Le modèle LPC appliqué à des souris GAD67-GFP ou DCX-GFP pourrait également être combiné à la déplétion de la niche par irradiation, avec le même timing utilisé dans notre analyse transcriptomique, pour observer spécifiquement les effets de l'inhibition du miR-342-3p sur la contribution des NBi à la régénération de la zone démyélinisée.

Il peut également être intéressant de réfléchir à la méthode de délivrance de l'inhibiteur du miR-342-3p. En effet, les neuroblastes sont contenus dans une niche neurogénique à l'environnement finement régulé, et protégé par la barrière hémato-encéphalique. La petite taille des miRs et de leurs inhibiteurs peut, en ce sens, être un avantage : les cellules

endothéliales qui constituent cette barrière sont en effet plus perméables aux petits ARNs qu'aux macromolécules (Zhao and Zlokovic, 2017). Il peut également être envisagé d'administrer l'inhibiteur par la voie intranasale, non-invasive, et qui facilite le passage de la barrière hématoencéphalique (Ahmad et al., 2017).

Bibliographie

- Aguirre, A., Dupree, J.L., Mangin, J.M., Gallo, V., 2007. A functional role for EGFR signaling in myelination and remyelination. *Nat Neurosci* 10, 990–1002. <https://doi.org/10.1038/nn1938>
- Aguirre, A., Rubio, M.E., Gallo, V., 2010. Notch and EGFR pathway interaction regulates neural stem cell number and self-renewal. *Nature* 467, 323–327. <https://doi.org/10.1038/nature09347>
- Ahmad, E., Feng, Y., Qi, J., Fan, W., Ma, Y., He, H., Xia, F., Dong, X., Zhao, W., Lu, Y., Wu, W., 2017. Evidence of nose-to-brain delivery of nanoemulsions: cargoes but not vehicles. *Nanoscale* 9, 1174–1183. <https://doi.org/10.1039/C6NR07581A>
- Ahn, S., Joyner, A.L., 2005. *In vivo* analysis of quiescent adult neural stem cells responding to Sonic hedgehog. *Nature* 437, 894–897. <https://doi.org/10.1038/nature03994>
- Akerblom, M., Sachdeva, R., Barde, I., Verp, S., Gentner, B., Trono, D., Jakobsson, J., 2012. MicroRNA-124 Is a Subventricular Zone Neuronal Fate Determinant. *Journal of Neuroscience* 32, 8879–8889. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0558-12.2012>
- Akers, K.G., Martinez-Canabal, A., Restivo, L., Yiu, A.P., De Cristofaro, A., Hsiang, H.-L. (Liz), Wheeler, A.L., Guskjolen, A., Niibori, Y., Shoji, H., Ohira, K., Richards, B.A., Miyakawa, T., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., 2014. Hippocampal Neurogenesis Regulates Forgetting During Adulthood and Infancy. *Science* 344, 598–602. <https://doi.org/10.1126/science.1248903>
- Alfonso, J., Le Magueresse, C., Zuccotti, A., Khodosevich, K., Monyer, H., 2012. Diazepam Binding Inhibitor Promotes Progenitor Proliferation in the Postnatal SVZ by Reducing GABA Signaling. *Cell Stem Cell* 10, 76–87. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.11.011>
- Allan, K.C., Hu, L.R., Scavuzzo, M.A., Morton, A.R., Gevorgyan, A.S., Cohn, E.F., Clayton, B.L.L., Bederman, I.R., Hung, S., Bartels, C.F., Madhavan, M., Tesar, P.J., 2021. Non-canonical Targets of HIF1a Impair Oligodendrocyte Progenitor Cell Function. *Cell Stem Cell* 28, 257-272.e11. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.019>
- Alonso, M., Lepousez, G., Wagner, S., Bardy, C., Gabellec, M.-M., Torquet, N., Lledo, P.-M., 2012. Activation of adult-born neurons facilitates learning and memory. *Nat Neurosci* 15, 897–904. <https://doi.org/10.1038/nn.3108>
- Altman, J., 2011. The Discovery of Adult Mammalian Neurogenesis, in: Seki, T., Sawamoto, K., Parent, J.M., Alvarez-Buylla, A. (Eds.), *Neurogenesis in the Adult Brain I: Neurobiology*. Springer Japan, Tokyo, pp. 3–46. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53933-9_1
- Altman, J., 1969. Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb. *Journal of Comparative Neurology* 137, 433–457. <https://doi.org/10.1002/cne.901370404>

Altman, J., 1963. Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats. *The Anatomical Record* 145, 573–591. <https://doi.org/10.1002/ar.1091450409>

Altman, J., 1962. Are New Neurons Formed in the Brains of Adult Mammals? [WWW Document]. <https://doi.org/10.1126/science.135.3509.1127>

Altman, J., Das, G.D., 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124, 319–335. <https://doi.org/10.1002/cne.901240303>

Alvarez-Buylla, A., Theelen, M., Nottebohm, F., 1990. Proliferation “hot spots” in adult avian ventricular zone reveal radial cell division. *Neuron* 5, 101–109. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(90\)90038-H](https://doi.org/10.1016/0896-6273(90)90038-H)

Andreatta, M., Carmona, S.J., 2021. UCell: Robust and scalable single-cell gene signature scoring. *Comput Struct Biotechnol J* 19, 3796–3798. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.06.043>

Angot, E., Loulier, K., Nguyen-Ba-Charvet, K.T., Gadeau, A.-P., Ruat, M., Traiffort, E., 2008. Chemoattractive Activity of Sonic Hedgehog in the Adult Subventricular Zone Modulates the Number of Neural Precursors Reaching the Olfactory Bulb. *Stem Cells* 26, 2311–2320. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2008-0297>

Anthony, T.E., Klein, C., Fishell, G., Heintz, N., 2004. Radial Glia Serve as Neuronal Progenitors in All Regions of the Central Nervous System. *Neuron* 41, 881–890. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(04\)00140-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(04)00140-0)

Apple, D.M., Solano-Fonseca, R., Kokovay, E., 2017. Neurogenesis in the aging brain. *Biochemical Pharmacology, Pharmacology of Neurogenesis* 141, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.06.116>

Azim, K., Berninger, B., Raineteau, O., 2016. Mosaic Subventricular Origins of Forebrain Oligodendrogenesis. *Frontiers in Neuroscience* 10.

Babcock, K.R., Page, J.S., Fallon, J.R., Webb, A.E., 2021. Adult Hippocampal Neurogenesis in Aging and Alzheimer’s Disease. *Stem Cell Reports* 16, 681–693. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.01.019>

Babicki, S., Arndt, D., Marcu, A., Liang, Y., Grant, J.R., Maciejewski, A., Wishart, D.S., 2016. Heatmapper: web-enabled heat mapping for all. *Nucleic Acids Research* 44, W147–W153. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw419>

Bai, C.B., Auerbach, W., Lee, J.S., Stephen, D., Joyner, A.L., 2002. Gli2, but not Gli1, is required for initial Shh signaling and ectopic activation of the Shh pathway. *Development* 129, 4753–4761. <https://doi.org/10.1242/dev.129.20.4753>

Bain, J.M., Moore, L., Ren, Z., Simonishvili, S., Levison, S.W., 2013. Vascular endothelial growth factors A and C are induced in the SVZ following neonatal hypoxia-ischemia and exert different effects on neonatal glial progenitors. *Transl Stroke Res* 4, 158–170. <https://doi.org/10.1007/s12975-012-0213-6>

- Baker, S.A., Baker, K.A., Hagg, T., 2004. Dopaminergic nigrostriatal projections regulate neural precursor proliferation in the adult mouse subventricular zone. *European Journal of Neuroscience* 20, 575–579. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03486.x>
- Baralle, F.E., Giudice, J., 2017. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18, 437–451. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.27>
- Basak, O., Giachino, C., Fiorini, E., MacDonald, H.R., Taylor, V., 2012. Neurogenic Subventricular Zone Stem/Progenitor Cells Are Notch1-Dependent in Their Active But Not Quiescent State. *J Neurosci* 32, 5654–5666. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0455-12.2012>
- Basak, O., Krieger, T.G., Muraro, M.J., Wiebrands, K., Stange, D.E., Frias-Aldeguer, J., Rivron, N.C., van de Wetering, M., van Es, J.H., van Oudenaarden, A., Simons, B.D., Clevers, H., 2018. Troy+ brain stem cells cycle through quiescence and regulate their number by sensing niche occupancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, E610–E619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715911114>
- Batailler, M., Droguerre, M., Baroncini, M., Fontaine, C., Prevot, V., Migaud, M., 2014. DCX-expressing cells in the vicinity of the hypothalamic neurogenic niche: A comparative study between mouse, sheep, and human tissues. *Journal of Comparative Neurology* 522, 1966–1985. <https://doi.org/10.1002/cne.23514>
- Bauer, S., Hay, M., Amilhon, B., Jean, A., Moysé, E., 2005. *In vivo* neurogenesis in the dorsal vagal complex of the adult rat brainstem. *Neuroscience* 130, 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.047>
- Baur, K., Abdullah, Y., Mandl, C., Hölzl-Wenig, G., Shi, Y., Edelkraut, U., Khatri, P., Hagenston, A.M., Irmeler, M., Beckers, J., Ciccolini, F., 2022. A novel stem cell type at the basal side of the subventricular zone maintains adult neurogenesis. *EMBO reports* 23, e54078. <https://doi.org/10.15252/embr.202154078>
- Bayer, S.A., 1982. Changes in the total number of dentate granule cells in juvenile and adult rats: A correlated volumetric and 3H-thymidine autoradiographic study. *Exp Brain Res* 46, 315–323. <https://doi.org/10.1007/BF00238626>
- Bayer, S.A., Yackel, J.W., Puri, P.S., 1982. Neurons in the Rat Dentate Gyrus Granular Layer Substantially Increase During Juvenile and Adult Life. *Science* 216, 890–892. <https://doi.org/10.1126/science.7079742>
- Beckervordersandforth, R., Tripathi, P., Ninkovic, J., Bayam, E., Lepier, A., Stempfhuber, B., Kirchhoff, F., Hirrlinger, J., Haslinger, A., Lie, D.C., Beckers, J., Yoder, B., Irmeler, M., Götz, M., 2010. *In vivo* fate mapping and expression analysis reveals molecular hallmarks of prospectively isolated adult neural stem cells. *Cell Stem Cell* 7, 744–758. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.11.017>
- Belenguer, G., Duart-Abadia, P., Jordán-Pla, A., Domingo-Muelas, A., Blasco-Chamarro, L., Ferrón, S.R., Morante-Redolat, J.M., Fariñas, I., 2021. Adult Neural Stem Cells Are Alerted by

- Systemic Inflammation through TNF- α Receptor Signaling. *Cell Stem Cell* 28, 285-299.e9. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.016>
- Belenguer, G., Duart-Abadia, P., Jordán-Pla, A., Domingo-Muelas, A., Blasco-Chamarro, L., Ferrón, S.R., Morante-Redolat, J.M., Fariñas, I., 2020. Adult Neural Stem Cells Are Alerted by Systemic Inflammation through TNF- α Receptor Signaling. *Cell Stem Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.016>
- Bénardais, K., Kotsiari, A., Škuljec, J., Koutsoudaki, P.N., Gudi, V., Singh, V., Vulinović, F., Skripuletz, T., Stangel, M., 2013. Cuprizone [Bis(Cyclohexylidenehydrazide)] is Selectively Toxic for Mature Oligodendrocytes. *Neurotox Res* 24, 244–250. <https://doi.org/10.1007/s12640-013-9380-9>
- Berard, J.L., Wolak, K., Fournier, S., David, S., 2010. Characterization of relapsing–remitting and chronic forms of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *Glia* 58, 434–445. <https://doi.org/10.1002/glia.20935>
- Berezikov, E., 2011. Evolution of microRNA diversity and regulation in animals. *Nat Rev Genet* 12, 846–860. <https://doi.org/10.1038/nrg3079>
- Bernier, P.J., Bédard, A., Vinet, J., Lévesque, M., Parent, A., 2002. Newly generated neurons in the amygdala and adjoining cortex of adult primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 11464–11469. <https://doi.org/10.1073/pnas.172403999>
- Bessa, J.M., Ferreira, D., Melo, I., Marques, F., Cerqueira, J.J., Palha, J.A., Almeida, O.F.X., Sousa, N., 2009. Hippocampal neurogenesis induced by antidepressant drugs: an epiphenomenon in their mood-improving actions. *Mol Psychiatry* 14, 739–739. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.75>
- Bieber, A.J., Kerr, S., Rodriguez, M., 2003. Efficient central nervous system remyelination requires T cells. *Annals of Neurology* 53, 680–684. <https://doi.org/10.1002/ana.10578>
- Bird, A., 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 16, 6–21. <https://doi.org/10.1101/gad.947102>
- Boldrini, M., Fulmore, C.A., Tartt, A.N., Simeon, L.R., Pavlova, I., Poposka, V., Rosoklija, G.B., Stankov, A., Arango, V., Dwork, A.J., Hen, R., Mann, J.J., 2018. Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell* 22, 589-599.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.03.015>
- Bonaguidi, M.A., Wheeler, M.A., Shapiro, J.S., Stadel, R.P., Sun, G.J., Ming, G., Song, H., 2011. *In vivo* Clonal Analysis Reveals Self-Renewing and Multipotent Adult Neural Stem Cell Characteristics. *Cell* 145, 1142–1155. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.05.024>
- Bottes, S., Jaeger, B.N., Pilz, G.-A., Jörg, D.J., Cole, J.D., Kruse, M., Harris, L., Korobeynyk, V.I., Mallona, I., Helmchen, F., Guillemot, F., Simons, B.D., Jessberger, S., 2021. Long-term self-renewing stem cells in the adult mouse hippocampus identified by intravital imaging. *Nat Neurosci* 24, 225–233. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00759-4>

- Boulanger, J.J., Messier, C., 2017. Doublecortin in Oligodendrocyte Precursor Cells in the Adult Mouse Brain. *Frontiers in Neuroscience* 11.
- Breton-Provencher, V., Lemasson, M., Peralta, M.R., Saghatelian, A., 2009. Interneurons Produced in Adulthood Are Required for the Normal Functioning of the Olfactory Bulb Network and for the Execution of Selected Olfactory Behaviors. *J. Neurosci.* 29, 15245–15257. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3606-09.2009>
- Brett, J.O., Renault, V.M., Rafalski, V.A., Webb, A.E., Brunet, A., 2011. The microRNA cluster miR-106b~25 regulates adult neural stem/progenitor cell proliferation and neuronal differentiation. *Aging* 3, 108–124. <https://doi.org/10.18632/aging.100285>
- Breunig, J.J., Arellano, J.I., Macklis, J.D., Rakic, P., 2007. Everything that Glitters Isn't Gold: A Critical Review of Postnatal Neural Precursor Analyses. *Cell Stem Cell* 1, 612–627. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.11.008>
- Brightman, M.W., 2002. The brain's interstitial clefts and their glial walls. *J Neurocytol* 31, 595–603. <https://doi.org/10.1023/A:1025783326667>
- Brill, M.S., Snappyan, M., Wohlfrom, H., Ninkovic, J., Jawerka, M., Mastick, G.S., Ashery-Padan, R., Saghatelian, A., Berninger, B., Götz, M., 2008. A Dlx2- and Pax6-Dependent Transcriptional Code for Periglomerular Neuron Specification in the Adult Olfactory Bulb. *J. Neurosci.* 28, 6439–6452. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0700-08.2008>
- Bronicki, L.M., Jasmin, B.J., 2013. Emerging complexity of the HuD/ELAVI4 gene; implications for neuronal development, function, and dysfunction. *RNA* 19, 1019–1037. <https://doi.org/10.1261/rna.039164.113>
- Brousse, B., Magalon, K., Durbec, P., Cayre, M., 2015. Region and dynamic specificities of adult neural stem cells and oligodendrocyte precursors in myelin regeneration in the mouse brain. *Biology Open* 4, 980–992. <https://doi.org/10.1242/bio.012773>
- Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., Rampon, C., 2005. New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *European Journal of Neuroscience* 21, 513–521. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.03875.x>
- Butt, A.M., Rivera, A.D., Fulton, D., Azim, K., 2022. Targeting the Subventricular Zone to Promote Myelin Repair in the Aging Brain. *Cells* 11, 1809. <https://doi.org/10.3390/cells11111809>
- Calaora, V., Chazal, G., Nielsen, P.J., Rougon, G., Moreau, H., 1996. mCD24 expression in the developing mouse brain and in zones of secondary neurogenesis in the adult. *Neuroscience* 73, 581–594. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00042-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00042-5)
- Cantarella, C., Cayre, M., Magalon, K., Pascale, D., 2008. Intranasal HB-EGF administration favors adult SVZ cell mobilization to demyelinated lesions in mouse corpus callosum. *Developmental Neurobiology* 68, 223–236. <https://doi.org/10.1002/dneu.20588>

- Capilla-Gonzalez, V., Cebrian-Silla, A., Guerrero-Cazares, H., Garcia-Verdugo, J.M., Quinones-Hinojosa, A., 2013. The generation of oligodendroglial cells is preserved in the rostral migratory stream during aging. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7.
- Carballo, G.B., Honorato, J.R., de Lopes, G.P.F., Spohr, T.C.L. de S. e, 2018. A highlight on Sonic hedgehog pathway. *Cell Commun Signal* 16, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0220-7>
- Cardona, A.E., Piro, E.P., Sasse, M.E., Kostenko, V., Cardona, S.M., Dijkstra, I.M., Huang, D., Kidd, G., Dombrowski, S., Dutta, R., Lee, J.-C., Cook, D.N., Jung, S., Lira, S.A., Littman, D.R., Ransohoff, R.M., 2006. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat Neurosci* 9, 917–924. <https://doi.org/10.1038/nn1715>
- Castro, D.S., Skowronska-Krawczyk, D., Armant, O., Donaldson, I.J., Parras, C., Hunt, C., Critchley, J.A., Nguyen, L., Gossler, A., Göttgens, B., Matter, J.-M., Guillemot, F., 2006. Proneural bHLH and Brn Proteins Coregulate a Neurogenic Program through Cooperative Binding to a Conserved DNA Motif. *Developmental Cell* 11, 831–844. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.10.006>
- Cate, H.S., Sabo, J.K., Merlo, D., Kemper, D., Aumann, T.D., Robinson, J., Merson, T.D., Emery, B., Perreau, V.M., Kilpatrick, T.J., 2010. Modulation of bone morphogenic protein signalling alters numbers of astrocytes and oligodendroglia in the subventricular zone during cuprizone-induced demyelination. *Journal of Neurochemistry* 115, 11–22. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06660.x>
- Cayre, M., Falque, M., Mercier, O., Magalon, K., Durbec, P., 2021. Myelin Repair: From Animal Models to Humans. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15.
- Ceanga, M., Dahab, M., Witte, O.W., Keiner, S., 2021. Adult Neurogenesis and Stroke: A Tale of Two Neurogenic Niches. *Frontiers in Neuroscience* 15.
- Cebrian-Silla, A., Nascimento, M.A., Redmond, S.A., Mansky, B., Wu, D., Obernier, K., Romero Rodriguez, R., Gonzalez-Granero, S., García-Verdugo, J.M., Lim, D.A., Álvarez-Buylla, A., 2021a. Single-cell analysis of the ventricular-subventricular zone reveals signatures of dorsal and ventral adult neurogenesis. *eLife* 10, e67436. <https://doi.org/10.7554/eLife.67436>
- Chaker, Z., Codega, P., Doetsch, F., 2016. A mosaic world: puzzles revealed by adult neural stem cell heterogeneity. *WIREs Developmental Biology* 5, 640–658. <https://doi.org/10.1002/wdev.248>
- Chan, J.N.-M., Sánchez-Vidaña, D.I., Anoopkumar-Dukie, S., Li, Y., Benson Wui-Man, L., 2022. RNA-binding protein signaling in adult neurogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10.
- Chen, H., Thiagalingam, A., Chopra, H., Borges, M.W., Feder, J.N., Nelkin, B.D., Baylin, S.B., Ball, D.W., 1997. Conservation of the *Drosophila* lateral inhibition pathway in human lung cancer: A hairy-related protein (HES-1) directly represses achaete-scute homolog-1 expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 5355–5360. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.10.5355>

- Cheng, L.-C., Pastrana, E., Tavazoie, M., Doetsch, F., 2009. miR-124 regulates adult neurogenesis in the SVZ stem cell niche. *Nat Neurosci* 12, 399–408. <https://doi.org/10.1038/nn.2294>
- Chevalier, F., Chicheportiche, A., Daynac, M., Depagne, J., Bertrand, P., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., Chevalier, F., Chicheportiche, A., Daynac, M., Depagne, J., Bertrand, P., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2012. Identification of Factors Involved in Neurogenesis Recovery After Irradiation of the Adult Mouse Subventricular Zone: A Preliminary Study, *Proteomics - Human Diseases and Protein Functions*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/28627>
- Chmielnicki, E., Benraiss, A., Economides, A.N., Goldman, S.A., 2004. Adenovirally Expressed Noggin and Brain-Derived Neurotrophic Factor Cooperate to Induce New Medium Spiny Neurons from Resident Progenitor Cells in the Adult Striatal Ventricular Zone. *J. Neurosci.* 24, 2133–2142. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1554-03.2004>
- Cipriani, S., Ferrer, I., Aronica, E., Kovacs, G.G., Verney, C., Nardelli, J., Khung, S., Delezoide, A.-L., Milenkovic, I., Rasika, S., Manivet, P., Benifla, J.-L., Deriot, N., Gressens, P., Adle-Biassette, H., 2018. Hippocampal Radial Glial Subtypes and Their Neurogenic Potential in Human Fetuses and Healthy and Alzheimer's Disease Adults. *Cerebral Cortex* 28, 2458–2478. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy096>
- Codega, P., Silva-Vargas, V., Paul, A., Maldonado-Soto, A.R., Deleo, A.M., Pastrana, E., Doetsch, F., 2014. Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their *in vivo* niche. *Neuron* 82, 545–559. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.039>
- Colak, D., Mori, T., Brill, M.S., Pfeifer, A., Falk, S., Deng, C., Monteiro, R., Mummery, C., Sommer, L., Götz, M., 2008. Adult Neurogenesis Requires Smad4-Mediated Bone Morphogenic Protein Signaling in Stem Cells. *J. Neurosci.* 28, 434–446. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4374-07.2008>
- Conaco, C., Otto, S., Han, J.-J., Mandel, G., 2006. Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 2422–2427. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511041103>
- Cooper-Kuhn, C.M., Vroemen, M., Brown, J., Ye, H., Thompson, M.A., Winkler, J., Kuhn, H.G., 2002. Impaired Adult Neurogenesis in Mice Lacking the Transcription Factor E2F1. *Molecular and Cellular Neuroscience* 21, 312–323. <https://doi.org/10.1006/mcne.2002.1176>
- Creer, D.J., Romberg, C., Saksida, L.M., van Praag, H., Bussey, T.J., 2010. Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 2367–2372. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911725107>
- Cunniffe, N., Coles, A., 2021. Promoting remyelination in multiple sclerosis. *J Neurol* 268, 30–44. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09421-x>

- Curtis, M.A., Low, V.F., Faull, R.L.M., 2012. Neurogenesis and progenitor cells in the adult human brain: A comparison between hippocampal and subventricular progenitor proliferation. *Developmental Neurobiology* 72, 990–1005. <https://doi.org/10.1002/dneu.22028>
- Cutler, R.R., Kokovay, E., 2020. Rejuvenating subventricular zone neurogenesis in the aging brain. *Current Opinion in Pharmacology, Neurosciences: Neurogenesis* 50, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.10.005>
- David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guiard, B.P., Guilloux, J.-P., Artymyshyn, R.P., Gardier, A.M., Gerald, C., Antonijevic, I.A., Leonardo, E.D., Hen, R., 2009. Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron* 62, 479–493. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.04.017>
- Dayer, A.G., Cleaver, K.M., Abouantoun, T., Cameron, H.A., 2005. New GABAergic interneurons in the adult neocortex and striatum are generated from different precursors. *Journal of Cell Biology* 168, 415–427. <https://doi.org/10.1083/jcb.200407053>
- Daynac, M., Chicheportiche, A., Pineda, J.R., Gauthier, L.R., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2013. Quiescent neural stem cells exit dormancy upon alteration of GABAAR signaling following radiation damage. *Stem Cell Research* 11, 516–528. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.02.008>
- Daynac, M., Morizur, L., Chicheportiche, A., Mouthon, M.-A., Boussin, F.D., 2016. Age-related neurogenesis decline in the subventricular zone is associated with specific cell cycle regulation changes in activated neural stem cells. *Scientific Reports* 6, 21505. <https://doi.org/10.1038/srep21505>
- Daynac, M., Morizur, L., Kortulewski, T., Gauthier, L.R., Ruat, M., Mouthon, M.-A., Boussin, F.D., 2015. Cell Sorting of Neural Stem and Progenitor Cells from the Adult Mouse Subventricular Zone and Live-imaging of their Cell Cycle Dynamics. *J Vis Exp*. <https://doi.org/10.3791/53247>
- Daynac, M., Pineda, J.R., Chicheportiche, A., Gauthier, L.R., Morizur, L., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2014. TGF β Lengthens the G1 Phase of Stem Cells in Aged Mouse Brain. *Stem Cells* 32, 3257–3265. <https://doi.org/10.1002/stem.1815>
- Daynac, M., Tirou, L., Faure, H., Mouthon, M.-A., Gauthier, L.R., Hahn, H., Boussin, F.D., Ruat, M., 2016c. Hedgehog Controls Quiescence and Activation of Neural Stem Cells in the Adult Ventricular-Subventricular Zone. *Stem Cell Reports* 7, 735–748. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.08.016>
- Deboux, C., Spigoni, G., Caillava, C., Garcia-Diaz, B., Ypsilanti, A., Sarrazin, N., Bachelin, C., Chédotal, A., Baron-Van Evercooren, A., 2020. Slit1 Protein Regulates SVZ-Derived Precursor Mobilization in the Adult Demyelinated CNS. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 14.
- del Águila, Á., Adam, M., Ullom, K., Shaw, N., Qin, S., Ehrman, J., Nardini, D., Salomone, J., Gebelein, B., Lu, Q.R., Potter, S.S., Waclaw, R., Campbell, K., Nakafuku, M., 2022. Olig2 defines a subset of neural stem cells that produce specific olfactory bulb interneuron subtypes

in the subventricular zone of adult mice. *Development* 149, dev200028. <https://doi.org/10.1242/dev.200028>

Delgado, R.N., Lim, D.A., 2015. Embryonic Nkx2.1-expressing neural precursor cells contribute to the regional heterogeneity of adult V–SVZ neural stem cells. *Developmental Biology* 407, 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.09.008>

Dennis, C.V., Suh, L.S., Rodriguez, M.L., Kril, J.J., Sutherland, G.T., 2016. Human adult neurogenesis across the ages: An immunohistochemical study. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 42, 621–638. <https://doi.org/10.1111/nan.12337>

Dimou, L., Simon, C., Kirchhoff, F., Takebayashi, H., Götz, M., 2008. Progeny of Olig2-Expressing Progenitors in the Gray and White Matter of the Adult Mouse Cerebral Cortex. *J. Neurosci.* 28, 10434–10442. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2831-08.2008>

Dings, J., Meixensberger, J., Jäger, A., Roosen, K., 1998. Clinical Experience with 118 Brain Tissue Oxygen Partial Pressure Catheter Probes. *Neurosurgery* 43, 1082–1094.

Dobson, R., Giovannoni, G., 2019. Multiple sclerosis – a review. *European Journal of Neurology* 26, 27–40. <https://doi.org/10.1111/ene.13819>

Doetsch, F., Caillé, I., Lim, D.A., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1999. Subventricular Zone Astrocytes Are Neural Stem Cells in the Adult Mammalian Brain. *Cell* 97, 703–716. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80783-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80783-7)

Doetsch, F., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1997. Cellular Composition and Three-Dimensional Organization of the Subventricular Germinal Zone in the Adult Mammalian Brain. *J. Neurosci.* 17, 5046–5061. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-13-05046.1997>

Doetsch, F., Petreanu, L., Caille, I., Garcia-Verdugo, J.-M., Alvarez-Buylla, A., 2002. EGF Converts Transit-Amplifying Neurogenic Precursors in the Adult Brain into Multipotent Stem Cells. *Neuron* 36, 1021–1034. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)01133-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)01133-9)

Domenichini, F., Terrié, E., Arnault, P., Harnois, T., Magaud, C., Bois, P., Constantin, B., Coronas, V., 2018. Store-Operated Calcium Entries Control Neural Stem Cell Self-Renewal in the Adult Brain Subventricular Zone. *Stem Cells* 36, 761–774. <https://doi.org/10.1002/stem.2786>

Douet, V., Arikawa-Hirasawa, E., Mercier, F., 2012. Fractone-heparan sulfates mediate BMP-7 inhibition of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Neuroscience Letters* 528, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.08.077>

Douet, V., Kerever, A., Arikawa-Hirasawa, E., Mercier, F., 2013. Fractone-heparan sulphates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Cell Proliferation* 46, 137–145. <https://doi.org/10.1111/cpr.12023>

Dulken, B.W., Buckley, M.T., Navarro Negredo, P., Saligrama, N., Cayrol, R., Leeman, D.S., George, B.M., Boutet, S.C., Hebestreit, K., Pluvinage, J.V., Wyss-Coray, T., Weissman, I.L., Vogel, H., Davis, M.M., Brunet, A., 2019. Single-cell analysis reveals T cell infiltration in old neurogenic niches. *Nature* 571, 205–210. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1362-5>

- Dulken, B.W., Leeman, D.S., Boutet, S.C., Hebestreit, K., Brunet, A., 2017. Single-Cell Transcriptomic Analysis Defines Heterogeneity and Transcriptional Dynamics in the Adult Neural Stem Cell Lineage. *Cell Reports* 18, 777–790. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.060>
- Eckenhoff, M.F., Rakic, P., 1988. Nature and fate of proliferative cells in the hippocampal dentate gyrus during the life span of the rhesus monkey. *J. Neurosci.* 8, 2729–2747. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-08-02729.1988>
- El Waly, B., Bertet, C., Paris, M., Falque, M., Milpied, P., Magalon, K., Cayre, M., Durbec, P., 2022. Neuroblasts contribute to oligodendrocytes generation upon demyelination in the adult mouse brain. *iScience* 25, 105102. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105102>
- El Waly, B., Cayre, M., Durbec, P., 2018. Promoting Myelin Repair through *In vivo* Neuroblast Reprogramming. *Stem Cell Reports* 10, 1492–1504. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.02.015>
- El Waly, B., Macchi, M., Cayre, M., Durbec, P., 2014. Oligodendrogenesis in the normal and pathological central nervous system. *Frontiers in Neuroscience* 8.
- Ellis, P., Fagan, B.M., Magness, S.T., Hutton, S., Taranova, O., Hayashi, S., McMahon, A., Rao, M., Pevny, L., 2004. SOX2, a Persistent Marker for Multipotential Neural Stem Cells Derived from Embryonic Stem Cells, the Embryo or the Adult. *DNE* 26, 148–165. <https://doi.org/10.1159/000082134>
- Encinas, J.M., Michurina, T.V., Peunova, N., Park, J.-H., Tordo, J., Peterson, D.A., Fishell, G., Koulakov, A., Enikolopov, G., 2011. Division-Coupled Astrocytic Differentiation and Age-Related Depletion of Neural Stem Cells in the Adult Hippocampus. *Cell Stem Cell* 8, 566–579. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.03.010>
- Enwere, E., Shingo, T., Gregg, C., Fujikawa, H., Ohta, S., Weiss, S., 2004. Aging Results in Reduced Epidermal Growth Factor Receptor Signaling, Diminished Olfactory Neurogenesis, and Deficits in Fine Olfactory Discrimination. *J. Neurosci.* 24, 8354–8365. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2751-04.2004>
- Epp, J.R., Silva Mera, R., Köhler, S., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., 2016. Neurogenesis-mediated forgetting minimizes proactive interference. *Nat Commun* 7, 10838. <https://doi.org/10.1038/ncomms10838>
- Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A.-M., Nordborg, C., Peterson, D.A., Gage, F.H., 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4, 1313–1317. <https://doi.org/10.1038/3305>
- Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., Possnert, G., Druid, H., Frisén, J., 2014. Neurogenesis in the Striatum of the Adult Human Brain. *Cell* 156, 1072–1083. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.044>

- Esteves, M., Serra-Almeida, C., Saraiva, C., Bernardino, L., 2020. New insights into the regulatory roles of microRNAs in adult neurogenesis. *Current Opinion in Pharmacology, Neurosciences: Neurogenesis* 50, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.11.003>
- Farreny, M.-A., Agius, E., Bel-Vialar, S., Escalas, N., Khouri-Farah, N., Soukkarieh, C., Danesin, C., Pituello, F., Cochard, P., Soula, C., 2018. FGF signaling controls Shh-dependent oligodendroglial fate specification in the ventral spinal cord. *Neural Dev* 13, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13064-018-0100-2>
- Fasano, C.A., Phoenix, T.N., Kokovay, E., Lowry, N., Elkabetz, Y., Dimos, J.T., Lemischka, I.R., Studer, L., Temple, S., 2009. Bmi-1 cooperates with Foxg1 to maintain neural stem cell self-renewal in the forebrain. *Genes Dev.* 23, 561–574. <https://doi.org/10.1101/gad.1743709>
- Feierstein, C., Lazarini, F., Wagner, S., Gabellec, M.-M., De Chaumont, F., Olivo-Marin, J.-C., Boussin, F., Lledo, P., Gheusi, G., 2010. Disruption of Adult Neurogenesis in the Olfactory Bulb Affects Social Interaction but not Maternal Behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 4.
- Ferent, J., Cochard, L., Faure, H., Taddei, M., Hahn, H., Ruat, M., Traiffort, E., 2014. Genetic Activation of Hedgehog Signaling Unbalances the Rate of Neural Stem Cell Renewal by Increasing Symmetric Divisions. *Stem Cell Reports* 3, 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.05.016>
- Ferri, A.L.M., Cavallaro, M., Braida, D., Di Cristofano, A., Canta, A., Vezzani, A., Ottolenghi, S., Pandolfi, P.P., Sala, M., DeBiasi, S., Nicolis, S.K., 2004. Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development* 131, 3805–3819. <https://doi.org/10.1242/dev.01204>
- Figarella-Branger, D., Colin, C., Baeza-Kallee, N., Tchoghandjian, A., 2022. A2B5 Expression in Central Nervous System and Gliomas. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 4670. <https://doi.org/10.3390/ijms23094670>
- Fischer, J., Beckervordersandforth, R., Tripathi, P., Steiner-Mezzadri, A., Ninkovic, J., Götz, M., 2011. Prospective isolation of adult neural stem cells from the mouse subependymal zone. *Nat Protoc* 6, 1981–1989. <https://doi.org/10.1038/nprot.2011.412>
- Fisher, E., Feng, J., 2022. RNA splicing regulators play critical roles in neurogenesis. *WIREs RNA*. <https://doi.org/10.1002/wrna.1728>
- Font, E., Desfilis, E., Pérez-Cañellas, M.M., García-Verdugo, J.M., 2001. Neurogenesis and Neuronal Regeneration in the Adult Reptilian Brain. *BBE* 58, 276–295. <https://doi.org/10.1159/000057570>
- Foti, S.B., Chou, A., Moll, A.D., Roskams, A.J., 2013. HDAC inhibitors dysregulate neural stem cell activity in the postnatal mouse brain. *International Journal of Developmental Neuroscience* 31, 434–447. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2013.03.008>

- Fox, R.G., Park, F.D., Koechlein, C.S., Kritzik, M., Reya, T., 2015. Musashi signaling in stem cells and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 31, 249–267. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100814-125446>
- Frank, F., Sonenberg, N., Nagar, B., 2010. Structural basis for 5'-nucleotide base-specific recognition of guide RNA by human AGO2. *Nature* 465, 818–822. <https://doi.org/10.1038/nature09039>
- Franklin, R.J.M., ffrench-Constant, C., 2008. Remyelination in the CNS: from biology to therapy. *Nat Rev Neurosci* 9, 839–855. <https://doi.org/10.1038/nrn2480>
- Frautschy, S.A., Gonzalez, A.M., Murillo, R.M., Carceller, F., Cuevas, P., Baird, A., 1991. Expression of Basic Fibroblast Growth Factor and Its Receptor in the Rat Subfornical Organ. *Neuroendocrinology* 54, 55–61.
- Fuentealba, L.C., Rompani, S.B., Parraguez, J.I., Obernier, K., Romero, R., Cepko, C.L., Alvarez-Buylla, A., 2015. Embryonic Origin of Postnatal Neural Stem Cells. *Cell* 161, 1644–1655. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.041>
- Gacem, N., Nait-Oumesmar, B., 2021. Oligodendrocyte Development and Regenerative Therapeutics in Multiple Sclerosis. *Life* 11, 327. <https://doi.org/10.3390/life11040327>
- Gadisseux, J.F., Evrard, P., Misson, J.P., Caviness, V.S., 1989. Dynamic structure of the radial glial fiber system of the developing murine cerebral wall. An immunocytochemical analysis. *Developmental Brain Research* 50, 55–67. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(89\)90126-0](https://doi.org/10.1016/0165-3806(89)90126-0)
- Gage, F.H., Kempermann, G., Palmer, T.D., Peterson, D.A., Ray, J., 1998. Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *Journal of Neurobiology* 36, 249–266. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4695\(199808\)36:2<249::AID-NEU11>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4695(199808)36:2<249::AID-NEU11>3.0.CO;2-9)
- Gaiano, N., Fishell, G., 2002. The Role of Notch in Promoting Glial and Neural Stem Cell Fates. *Annu. Rev. Neurosci.* 25, 471–490. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.030702.130823>
- Gajera, C.R., Emich, H., Lioubinski, O., Christ, A., Beckervordersandforth-Bonk, R., Yoshikawa, K., Bachmann, S., Christensen, E.I., Götz, M., Kempermann, G., Peterson, A.S., Willnow, T.E., Hammes, A., 2010. LRP2 in ependymal cells regulates BMP signaling in the adult neurogenic niche. *Journal of Cell Science* 123, 1922–1930. <https://doi.org/10.1242/jcs.065912>
- Galli, R., Fiocco, R., De Filippis, L., Muzio, L., Gritti, A., Mercurio, S., Broccoli, V., Pellegrini, M., Mallamaci, A., Vescovi, A.L., 2002. Emx2 regulates the proliferation of stem cells of the adult mammalian central nervous system. *Development* 129, 1633–1644. <https://doi.org/10.1242/dev.129.7.1633>
- Gampe, K., Brill, M.S., Momma, S., Götz, M., Zimmermann, H., 2011. EGF induces CREB and ERK activation at the wall of the mouse lateral ventricles. *Brain Research* 1376, 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.040>
- Gao, F., Zhang, Y.-F., Zhang, Z.-P., Fu, L.-A., Cao, X.-L., Zhang, Y.-Z., Guo, C.-J., Yan, X.-C., Yang, Q.-C., Hu, Y.-Y., Zhao, X.-H., Wang, Y.-Z., Wu, S.-X., Ju, G., Zheng, M.-H., Han, H.,

2017. miR-342-5p Regulates Neural Stem Cell Proliferation and Differentiation Downstream to Notch Signaling in Mice. *Stem Cell Reports* 8, 1032–1045. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.02.017>
- Gao, Z., Ding, P., Hsieh, J., 2012. Profiling of REST-Dependent microRNAs Reveals Dynamic Modes of Expression. *Frontiers in Neuroscience* 6.
- Gao, Z., Ure, K., Ding, P., Nashaat, M., Yuan, L., Ma, J., Hammer, R.E., Hsieh, J., 2011. The Master Negative Regulator REST/NRSF Controls Adult Neurogenesis by Restraining the Neurogenic Program in Quiescent Stem Cells. *J. Neurosci.* 31, 9772–9786. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1604-11.2011>
- Garthe, A., Behr, J., Kempermann, G., 2009. Adult-Generated Hippocampal Neurons Allow the Flexible Use of Spatially Precise Learning Strategies. *PLOS ONE* 4, e5464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005464>
- Gebert, L.F.R., MacRae, I.J., 2019a. Regulation of microRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20, 21–37. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0045-7>
- Glazer, R.I., Vo, D.T., Penalva, L.O.F., 2012. Musashi1: an RBP with versatile functions in normal and cancer stem cells. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 17, 54–64. <https://doi.org/10.2741/3915>
- Gleeson, J.G., Lin, P.T., Flanagan, L.A., Walsh, C.A., 1999. Doublecortin Is a Microtubule-Associated Protein and Is Expressed Widely by Migrating Neurons. *Neuron* 23, 257–271. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80778-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80778-3)
- Goings, G.E., Kozlowski, D.A., Szele, F.G., 2006. Differential activation of microglia in neurogenic versus non-neurogenic regions of the forebrain. *Glia* 54, 329–342. <https://doi.org/10.1002/glia.20381>
- Gómez Morillas, A., Besson, V.C., Lerouet, D., 2021. Microglia and Neuroinflammation: What Place for P2RY12? *Int J Mol Sci* 22, 1636. <https://doi.org/10.3390/ijms22041636>
- Gómez-Gaviro, M.V., Scott, C.E., Sesay, A.K., Matheu, A., Booth, S., Galichet, C., Lovell-Badge, R., 2012. Betacellulin promotes cell proliferation in the neural stem cell niche and stimulates neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 1317–1322. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016199109>
- Gonzalez-Perez, O., Alvarez-Buylla, A., 2011. Oligodendrogenesis in the subventricular zone and the role of epidermal growth factor. *Brain Res Rev* 67, 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2011.01.001>
- Gonzalez-Perez, O., Romero-Rodriguez, R., Soriano-Navarro, M., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2009. EGF induces the progeny of subventricular zone type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes. *Stem Cells* 27, 2032–2043. <https://doi.org/10.1002/stem.119>

Gould, E., Reeves, A.J., Fallah, M., Tanapat, P., Gross, C.G., Fuchs, E., 1999a. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 5263–5267. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.9.5263>

Gould, E., Reeves, A.J., Graziano, M.S.A., Gross, C.G., 1999b. Neurogenesis in the Neocortex of Adult Primates. *Science* 286, 548–552. <https://doi.org/10.1126/science.286.5439.548>

Grabowski, P., 2011a. Alternative splicing takes shape during neuronal development. *Current Opinion in Genetics & Development, Differentiation and gene regulation* 21, 388–394. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2011.03.005>

Grabowski, P., 2011b. Alternative splicing takes shape during neuronal development. *Current Opinion in Genetics & Development, Differentiation and gene regulation* 21, 388–394. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2011.03.005>

Grammatikakis, I., Gorospe, M., 2016. Identification of neural stem cell differentiation repressor complex Pnky -PTBP1. *Stem Cell Investigation* 3. <https://doi.org/10.21037/sci.2016.03.05>

Gu, Z., Gu, L., Eils, R., Schlesner, M., Brors, B., 2014. circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* 30, 2811–2812. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu393>

Guan, Y., Jiang, Z., Ciric, B., Rostami, A.M., Zhang, G.-X., 2008. Upregulation of chemokine receptor expression by IL-10/IL-4 in adult neural stem cells. *Experimental and Molecular Pathology* 85, 232–236. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2008.07.003>

Guo, H., Ingolia, N.T., Weissman, J.S., Bartel, D.P., 2010. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature* 466, 835–840. <https://doi.org/10.1038/nature09267>

Ha, M., Kim, V.N., 2014. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 509–524. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>

Hack, M.A., Saghatelian, A., de Chevigny, A., Pfeifer, A., Ashery-Padan, R., Lledo, P.-M., Götz, M., 2005. Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis. *Nat Neurosci* 8, 865–872. <https://doi.org/10.1038/nn1479>

Hammond, T.R., Dufort, C., Dissing-Olesen, L., Giera, S., Young, A., Wysoker, A., Walker, A.J., Gergits, F., Segel, M., Nemesh, J., Marsh, S.E., Saunders, A., Macosko, E., Ginhoux, F., Chen, J., Franklin, R.J.M., Piao, X., McCarroll, S.A., Stevens, B., 2019. Single-Cell RNA Sequencing of Microglia throughout the Mouse Lifespan and in the Injured Brain Reveals Complex Cell-State Changes. *Immunity* 50, 253-271.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.11.004>

Hao, Y., Hao, S., Andersen-Nissen, E., Mauck, W.M., Zheng, S., Butler, A., Lee, M.J., Wilk, A.J., Darby, C., Zager, M., Hoffman, P., Stoeckius, M., Papalexi, E., Mimitou, E.P., Jain, J., Srivastava, A., Stuart, T., Fleming, L.M., Yeung, B., Rogers, A.J., McElrath, J.M., Blish, C.A., Gottardo, R., Smibert, P., Satija, R., 2021. Integrated analysis of multimodal single-cell data. *Cell* 184, 3573-3587.e29. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.048>

- He, J., Zhao, J., Zhu, W., Qi, D., Wang, L., Sun, J., Wang, B., Ma, X., Dai, Q., Yu, X., 2016. MicroRNA biogenesis pathway genes polymorphisms and cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ* 4, e2706. <https://doi.org/10.7717/peerj.2706>
- He, S., Iwashita, T., Buchstaller, J., Molofsky, A.V., Thomas, D., Morrison, S.J., 2009. Bmi-1 over-expression in neural stem/progenitor cells increases proliferation and neurogenesis in culture but has little effect on these functions *in vivo*. *Developmental Biology* 328, 257–272. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.01.020>
- Hogan, P.G., Chen, L., Nardone, J., Rao, A., 2003. Transcriptional regulation by calcium, calcineurin, and NFAT. *Genes Dev.* 17, 2205–2232. <https://doi.org/10.1101/gad.1102703>
- Höglinger, G.U., Rizk, P., Muriel, M.P., Duyckaerts, C., Oertel, W.H., Caille, I., Hirsch, E.C., 2004. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 7, 726–735. <https://doi.org/10.1038/nn1265>
- Holley, J.E., Gveric, D., Newcombe, J., Cuzner, M.L., Gutowski, N.J., 2003. Astrocyte characterization in the multiple sclerosis glial scar. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 29, 434–444. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2990.2003.00491.x>
- Holmin, S., Almqvist, P., Lendahl, U., Mathiesen, T., 1997. Adult nestin-expressing subependymal cells differentiate to astrocytes in response to brain injury. *Eur J Neurosci* 9, 65–75. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01354.x>
- Hou, B.-R., Jiang, C., Wang, Z.-N., Ren, H.-J., 2020. Exosome-mediated crosstalk between microglia and neural stem cells in the repair of brain injury. *Neural Regeneration Research* 15, 1023–1024. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.270302>
- Hourai, A., Miyata, S., 2013. Neurogenesis in the circumventricular organs of adult mouse brains. *Journal of Neuroscience Research* 91, 757–770. <https://doi.org/10.1002/jnr.23206>
- Huang, H., Wu, H., He, W., Zhou, F., Yu, X., Yi, M., Du, J., Xie, B., Qiu, M., 2022. Id2 and Id4 are not the major negative regulators of oligodendrocyte differentiation during early central nervous system development. *Glia* 70, 590–601. <https://doi.org/10.1002/glia.24126>
- Huang, S., Hirota, Y., Sawamoto, K., 2009. Various facets of vertebrate cilia: motility, signaling, and role in adult neurogenesis. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* 85, 324–336. <https://doi.org/10.2183/pjab.85.324>
- Hung, H.-C., Hsiao, Y.-H., Gean, P.-W., 2015. Learning Induces Sonic Hedgehog Signaling in the Amygdala which Promotes Neurogenesis and Long-Term Memory Formation. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 18, pyu071. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu071>
- Hwang, W.W., Salinas, R.D., Siu, J.J., Kelley, K.W., Delgado, R.N., Paredes, M.F., Alvarez-Buylla, A., Oldham, M.C., Lim, D.A., 2014. Distinct and separable roles for EZH2 in neurogenic astroglia. *eLife* 3, e02439. <https://doi.org/10.7554/eLife.02439>
- Ihrie, R.A., Shah, J.K., Harwell, C.C., Levine, J.H., Guinto, C.D., Lezameta, M., Kriegstein, A.R., Alvarez-Buylla, A., 2011. Persistent Sonic Hedgehog Signaling in Adult Brain Determines

Neural Stem Cell Positional Identity. *Neuron* 71, 250–262. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.018>

Imayoshi, I., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Takao, K., Miyakawa, T., Yamaguchi, M., Mori, K., Ikeda, T., Itohara, S., Kageyama, R., 2008. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 11, 1153–1161. <https://doi.org/10.1038/nn.2185>

Imayoshi, I., Sakamoto, M., Yamaguchi, M., Mori, K., Kageyama, R., 2010. Essential Roles of Notch Signaling in Maintenance of Neural Stem Cells in Developing and Adult Brains. *J. Neurosci.* 30, 3489–3498. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4987-09.2010>

Imayoshi, I., Shimojo, H., Sakamoto, M., Ohtsuka, T., Kageyama, R., 2013. Genetic visualization of notch signaling in mammalian neurogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 2045–2057. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1151-x>

Irimia, M., Weatheritt, R.J., Ellis, J.D., Parikshak, N.N., Gonatopoulos-Pournatzis, T., Babor, M., Quesnel-Vallières, M., Tapial, J., Raj, B., O’Hanlon, D., Barrios-Rodiles, M., Sternberg, M.J.E., Cordes, S.P., Roth, F.P., Wrana, J.L., Geschwind, D.H., Blencowe, B.J., 2014. A highly conserved program of neuronal microexons is misregulated in autistic brains. *Cell* 159, 1511–1523. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.035>

Jablonska, B., Aguirre, A., Raymond, M., Szabo, G., Kitabatake, Y., Sailor, K.A., Ming, G.-L., Song, H., Gallo, V., 2010. Chordin-induced lineage plasticity of adult SVZ neuroblasts after demyelination. *Nature Neuroscience* 13, 541–550. <https://doi.org/10.1038/nn.2536>

Jacko, M., Weyn-Vanhentenryck, S.M., Smerdon, J.W., Yan, R., Feng, H., Williams, D.J., Pai, J., Xu, K., Wichterle, H., Zhang, C., 2018. Rbfox Splicing Factors Promote Neuronal Maturation and Axon Initial Segment Assembly. *Neuron* 97, 853-868.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.020>

Javed, Z., Khan, K., Raza, Q., Sadia, H., Shah, F.A., Ahmad, T., Bentivegna, A., Bazzoni, R., Setzer, W.N., Alshehri, M.M., Sharifi-Rad, J., Daştan, S.D., 2021. Notch Signaling and MicroRNA: The Dynamic Duo Steering Between Neurogenesis and Glioblastomas. *Cellular and Molecular Biology* 67, 33–43. <https://doi.org/10.14715/cmb/2021.67.2.6>

Jawerka, M., Colak, D., Dimou, L., Spiller, C., Lager, S., Montgomery, R.L., Olson, E.N., Wurst, W., Göttlicher, M., Götz, M., 2010. The specific role of histone deacetylase 2 in adult neurogenesis. *Neuron Glia Biology* 6, 93–107. <https://doi.org/10.1017/S1740925X10000049>

Jenuwein, T., Allis, C.D., 2001. Translating the Histone Code. *Science* 293, 1074–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1063127>

Ji, Z., Ji, H., 2016. TSCAN: Pseudo-time reconstruction and evaluation in single-cell RNA-seq analysis. *Nucleic Acids Res* 44, e117. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw430>

Jiang, Y., Hsieh, J., 2014. HDAC3 controls gap 2/mitosis progression in adult neural stem/progenitor cells by regulating CDK1 levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111, 13541–13546. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411939111>

- Jonas, S., Izaurralde, E., 2015. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet* 16, 421–433. <https://doi.org/10.1038/nrg3965>
- Jurkowski, M.P., Bettio, L., K. Woo, E., Patten, A., Yau, S.-Y., Gil-Mohapel, J., 2020. Beyond the Hippocampus and the SVZ: Adult Neurogenesis Throughout the Brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 14.
- Kageyama, R., Ohtsuka, T., Hatakeyama, J., Ohsawa, R., 2005. Roles of bHLH genes in neural stem cell differentiation. *Experimental Cell Research, Molecular Control of Stem Cell Differentiation* 306, 343–348. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.03.015>
- Kalamakis, G., Brüne, D., Ravichandran, S., Bolz, J., Fan, W., Ziebell, F., Stiehl, T., Catalá-Martinez, F., Kupke, J., Zhao, S., Llorens-Bobadilla, E., Bauer, K., Limpert, S., Berger, B., Christen, U., Schmezer, P., Mallm, J.P., Berninger, B., Anders, S., del Sol, A., Marciniak-Czochra, A., Martin-Villalba, A., 2019. Quiescence Modulates Stem Cell Maintenance and Regenerative Capacity in the Aging Brain. *Cell* 176, 1407-1419.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.040>
- Kalm, M., Fukuda, A., Fukuda, H., Öhrfelt, A., Lannering, B., Björk-Eriksson, T., Blennow, K., Márky, I., Blomgren, K., 2009. Transient Inflammation in Neurogenic Regions after Irradiation of the Developing Brain. *rare* 171, 66–76. <https://doi.org/10.1667/RR1269.1>
- Kaneko, N., Marín, O., Koike, M., Hirota, Y., Uchiyama, Y., Wu, J.Y., Lu, Q., Tessier-Lavigne, M., Alvarez-Buylla, A., Okano, H., Rubenstein, J.L.R., Sawamoto, K., 2010. New Neurons Clear the Path of Astrocytic Processes for Their Rapid Migration in the Adult Brain. *Neuron* 67, 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.06.018>
- Kaplan, M.S., 2001. Environment complexity stimulates visual cortex neurogenesis: death of a dogma and a research career. *Trends in Neurosciences* 24, 617–620. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01967-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01967-6)
- Kaplan, M.S., Bell, D.H., 1983. Neuronal proliferation in the 9-month-old rodent — Radioautographic study of granule cells in the hippocampus. *Exp Brain Res* 52, 1–5. <https://doi.org/10.1007/BF00237141>
- Kaplan, M.S., Hinds, J.W., 1977. Neurogenesis in the Adult Rat: Electron Microscopic Analysis of Light Radioautographs. *Science* 197, 1092–1094. <https://doi.org/10.1126/science.887941>
- Karpushev, A.V., Ilatovskaya, D.V., Staruschenko, A., 2010. The actin cytoskeleton and small G protein RhoA are not involved in flow-dependent activation of ENaC. *BMC Res Notes* 3, 210. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-210>
- Katsimpardi, L., Litterman, N.K., Schein, P.A., Miller, C.M., Loffredo, F.S., Wojtkiewicz, G.R., Chen, J.W., Lee, R.T., Wagers, A.J., Rubin, L.L., 2014. Vascular and Neurogenic Rejuvenation of the Aging Mouse Brain by Young Systemic Factors. *Science* 344, 630–634. <https://doi.org/10.1126/science.1251141>

- Katz, S., Cussigh, D., Urbán, N., Blomfield, I., Guillemot, F., Bally-Cuif, L., Coolen, M., 2016. A Nuclear Role for miR-9 and Argonaute Proteins in Balancing Quiescent and Activated Neural Stem Cell States. *Cell Reports* 17, 1383–1398. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.09.088>
- Kawahara, H., Okada, Y., Imai, T., Iwanami, A., Mischel, P.S., Okano, H., 2011. Musashi1 Cooperates in Abnormal Cell Lineage Protein 28 (Lin28)-mediated Let-7 Family MicroRNA Biogenesis in Early Neural Differentiation* ♦. *Journal of Biological Chemistry* 286, 16121–16130. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.199166>
- Kawai, H., Kawaguchi, D., Kuebrich, B.D., Kitamoto, T., Yamaguchi, M., Gotoh, Y., Furutachi, S., 2017. Area-Specific Regulation of Quiescent Neural Stem Cells by Notch3 in the Adult Mouse Subependymal Zone. *J. Neurosci.* 37, 11867–11880. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0001-17.2017>
- Kempermann, G., Gast, D., Kronenberg, G., Yamaguchi, M., Gage, F.H., 2003. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development* 130, 391–399. <https://doi.org/10.1242/dev.00203>
- Kerever, A., Schnack, J., Vellinga, D., Ichikawa, N., Moon, C., Arikawa-Hirasawa, E., Efirid, J.T., Mercier, F., 2007. Novel Extracellular Matrix Structures in the Neural Stem Cell Niche Capture the Neurogenic Factor Fibroblast Growth Factor 2 from the Extracellular Milieu. *Stem Cells* 25, 2146–2157. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0082>
- Kesner, R.P., 2013. An analysis of the dentate gyrus function. *Behavioural Brain Research, SI:Medial Temporal Lobe Memory Networks* 254, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.01.012>
- Kessaris, N., Fogarty, M., Iannarelli, P., Grist, M., Wegner, M., Richardson, W.D., 2006. Competing waves of oligodendrocytes in the forebrain and postnatal elimination of an embryonic lineage. *Nat Neurosci* 9, 173–179. <https://doi.org/10.1038/nn1620>
- Khatri, P., Obernier, K., Simeonova, I.K., Hellwig, A., Hölzl-Wenig, G., Mandl, C., Scholl, C., Wölfl, S., Winkler, J., Gaspar, J.A., Sachinidis, A., Ciccolini, F., 2014. Proliferation and cilia dynamics in neural stem cells prospectively isolated from the SEZ. *Sci Rep* 4, 3803. <https://doi.org/10.1038/srep03803>
- Khodosevich, K., Alfonso, J., Monyer, H., 2013. Dynamic changes in the transcriptional profile of subventricular zone-derived postnatally born neuroblasts. *Mechanisms of Development, Neural Development* 130, 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.mod.2012.11.003>
- Khuu, M.A., Nallamothu, T., Castro-Rivera, C.I., Arias-Cavieres, A., Szujewski, C.C., Garcia III, A.J., 2021. Stage-dependent effects of intermittent hypoxia influence the outcome of hippocampal adult neurogenesis. *Sci Rep* 11, 6005. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85357-5>
- Kim, D.-Y., Hwang, I., Muller, F.L., Paik, J.-H., 2015. Functional regulation of FoxO1 in neural stem cell differentiation. *Cell Death Differ* 22, 2034–2045. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.123>

- Kim, E.J., Ables, J.L., Dickel, L.K., Eisch, A.J., Johnson, J.E., 2011. *Ascl1 (Mash1) Defines Cells with Long-Term Neurogenic Potential in Subgranular and Subventricular Zones in Adult Mouse Brain.* PLoS ONE 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018472>
- Kitamura, T., Saitoh, Y., Takashima, N., Murayama, A., Niibori, Y., Ageta, H., Sekiguchi, M., Sugiyama, H., Inokuchi, K., 2009. Adult Neurogenesis Modulates the Hippocampus-Dependent Period of Associative Fear Memory. *Cell* 139, 814–827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.10.020>
- Klein, B., Mrowetz, H., Kreutzer, C., Rotheneichner, P., Zaunmair, P., Lange, S., Coras, R., Couillard-Despres, S., Rivera, F.J., Aigner, L., 2020. DCX+ neuronal progenitors contribute to new oligodendrocytes during remyelination in the hippocampus. *Sci Rep* 10, 20095. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77115-w>
- Klingener, M., Chavali, M., Singh, J., McMillan, N., Coomes, A., Dempsey, P.J., Chen, E.I., Aguirre, A., 2014. N-Cadherin Promotes Recruitment and Migration of Neural Progenitor Cells from the SVZ Neural Stem Cell Niche into Demyelinated Lesions. *J. Neurosci.* 34, 9590–9606. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3699-13.2014>
- Kohwi, M., Osumi, N., Rubenstein, J.L.R., Alvarez-Buylla, A., 2005. Pax6 Is Required for Making Specific Subpopulations of Granule and Periglomerular Neurons in the Olfactory Bulb. *J. Neurosci.* 25, 6997–7003. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1435-05.2005>
- Kokoeva, M.V., Yin, H., Flier, J.S., 2005. Neurogenesis in the Hypothalamus of Adult Mice: Potential Role in Energy Balance. *Science* 310, 679–683. <https://doi.org/10.1126/science.1115360>
- Kokovay, E., Goderie, S., Wang, Y., Lotz, S., Lin, G., Sun, Y., Roysam, B., Shen, Q., Temple, S., 2010. Adult SVZ Lineage Cells Home to and Leave the Vascular Niche via Differential Responses to SDF1/CXCR4 Signaling. *Cell Stem Cell* 7, 163–173. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.05.019>
- Kokovay, E., Wang, Y., Kusek, G., Wurster, R., Lederman, P., Lowry, N., Shen, Q., Temple, S., 2012. VCAM1 is essential to maintain the structure of the SVZ niche and acts as an environmental sensor to regulate SVZ lineage progression. *Cell Stem Cell* 11, 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.06.016>
- Komoll, R.-M., Hu, Q., Olarewaju, O., von Döhlen, L., Yuan, Q., Xie, Y., Tsay, H.-C., Daon, J., Qin, R., Manns, M.P., Sharma, A.D., Goga, A., Ott, M., Balakrishnan, A., 2021. MicroRNA-342-3p is a potent tumour suppressor in hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology* 74, 122–134. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.07.039>
- Kong, H., Fan, Y., Xie, J., Ding, J., Sha, L., Shi, X., Sun, X., Hu, G., 2008. AQP4 knockout impairs proliferation, migration and neuronal differentiation of adult neural stem cells. *Journal of Cell Science* 121, 4029–4036. <https://doi.org/10.1242/jcs.035758>
- Kriegstein, A., Alvarez-Buylla, A., 2009. The Glial Nature of Embryonic and Adult Neural Stem Cells. *Annu. Rev. Neurosci.* 32, 149–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135600>

Kuhn, S., Gritti, L., Crooks, D., Dombrowski, Y., 2019. Oligodendrocytes in Development, Myelin Generation and Beyond. *Cells* 8, 1424. <https://doi.org/10.3390/cells8111424>

Lacar, B., Young, S.Z., Platel, J.-C., Bordey, A., 2011. Gap junction-mediated calcium waves define communication networks among murine postnatal neural progenitor cells. *European Journal of Neuroscience* 34, 1895–1905. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07901.x>

Lagace, D.C., Whitman, M.C., Noonan, M.A., Ables, J.L., DeCarolis, N.A., Arguello, A.A., Donovan, M.H., Fischer, S.J., Farnbauch, L.A., Beech, R.D., DiLeone, R.J., Greer, C.A., Mandyam, C.D., Eisch, A.J., 2007. Dynamic Contribution of Nestin-Expressing Stem Cells to Adult Neurogenesis. *J. Neurosci.* 27, 12623–12629. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3812-07.2007>

Lai, X., Gupta, S.K., Schmitz, U., Marquardt, S., Knoll, S., Spitschak, A., Wolkenhauer, O., Pützer, B.M., Vera, J., 2018. MiR-205-5p and miR-342-3p cooperate in the repression of the E2F1 transcription factor in the context of anticancer chemotherapy resistance. *Theranostics* 8, 1106–1120. <https://doi.org/10.7150/thno.19904>

Landgraf, P., Rusu, M., Sheridan, R., Sewer, A., Iovino, N., Aravin, A., Pfeffer, S., Rice, A., Kamphorst, A.O., Landthaler, M., Lin, C., Socci, N.D., Hermida, L., Fulci, V., Chiaretti, S., Foà, R., Schliwka, J., Fuchs, U., Novosel, A., Müller, R.-U., Schermer, B., Bissels, U., Inman, J., Phan, Q., Chien, M., Weir, D.B., Choksi, R., Vita, G.D., Frezzetti, D., Trompeter, H.-I., Hornung, V., Teng, G., Hartmann, G., Palkovits, M., Lauro, R.D., Wernet, P., Macino, G., Rogler, C.E., Nagle, J.W., Ju, J., Papavasiliou, F.N., Benzing, T., Lichter, P., Tam, W., Brownstein, M.J., Bosio, A., Borkhardt, A., Russo, J.J., Sander, C., Zavolan, M., Tuschl, T., 2007. A Mammalian microRNA Expression Atlas Based on Small RNA Library Sequencing. *Cell* 129, 1401–1414. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.04.040>

Laneve, P., Gioia, U., Andriotto, A., Moretti, F., Bozzoni, I., Caffarelli, E., 2010. A minicircuitry involving REST and CREB controls miR-9-2 expression during human neuronal differentiation. *Nucleic Acids Research* 38, 6895–6905. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq604>

Lara-Pezzi, E., Desco, M., Gatto, A., Gómez-Gaviro, M.V., 2017. Neurogenesis: Regulation by Alternative Splicing and Related Posttranscriptional Processes. *Neuroscientist* 23, 466–477. <https://doi.org/10.1177/1073858416678604>

Lazarini, F., Lledo, P.-M., 2011. Is adult neurogenesis essential for olfaction? *Trends in Neurosciences* 34, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.006>

Lazarini, F., Mouthon, M.-A., Gheusi, G., Chaumont, F. de, Olivo-Marin, J.-C., Lamarque, S., Abrous, D.N., Boussin, F.D., Lledo, P.-M., 2009. Cellular and Behavioral Effects of Cranial Irradiation of the Subventricular Zone in Adult Mice. *PLOS ONE* 4, e7017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007017>

Lee, H., Han, S., Kwon, C.S., Lee, D., 2016. Biogenesis and regulation of the let-7 miRNAs and their functional implications. *Protein Cell* 7, 100–113. <https://doi.org/10.1007/s13238-015-0212-y>

- Lee, H.-L., Lee, H.Y., Yun, Y., Oh, J., Che, L., Lee, M., Ha, Y., 2016. Hypoxia-specific, VEGF-expressing neural stem cell therapy for safe and effective treatment of neuropathic pain. *Journal of Controlled Release* 226, 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.047>
- Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K.-H., Lee, S., Baek, S.H., Kim, V.N., 2004. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO Journal* 23, 4051–4060. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600385>
- Lenington, J.B., Pope, S., Goodheart, A.E., Drozdowicz, L., Daniels, S.B., Salamone, J.D., Conover, J.C., 2011. Midbrain Dopamine Neurons Associated with Reward Processing Innervate the Neurogenic Subventricular Zone. *J. Neurosci.* 31, 13078–13087. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1197-11.2011>
- Lertkiatmongkol, P., Paddock, C., Newman, D.K., Zhu, J., Thomas, M.J., Newman, P.J., 2016. The Role of Sialylated Glycans in Human Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1 (PECAM-1)-mediated Trans Homophilic Interactions and Endothelial Cell Barrier Function. *J Biol Chem* 291, 26216–26225. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.756502>
- Li, G., Liu, J., Guan, Y., Ji, X., 2021. The role of hypoxia in stem cell regulation of the central nervous system: From embryonic development to adult proliferation. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 27, 1446–1457. <https://doi.org/10.1111/cns.13754>
- Li, W., Fang, J., Shen, J., Liu, X., Hou, J., Zhu, Y., Ma, X., 2019. MicroRNA-135a-5p promotes neuronal differentiation of pluripotent embryonal carcinoma cells by repressing Sox6/CD44 pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 509, 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.12.162>
- Li, Y.I., Sanchez-Pulido, L., Haerty, W., Ponting, C.P., 2015. RBFOX and PTBP1 proteins regulate the alternative splicing of micro-exons in human brain transcripts. *Genome Res* 25, 1–13. <https://doi.org/10.1101/gr.181990.114>
- Lim, D.A., Alvarez-Buylla, A., 2016. The Adult Ventricular–Subventricular Zone (V-SVZ) and Olfactory Bulb (OB) Neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8, a018820. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018820>
- Lim, D.A., Tramontin, A.D., Trevejo, J.M., Herrera, D.G., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2000. Noggin Antagonizes BMP Signaling to Create a Niche for Adult Neurogenesis. *Neuron* 28, 713–726. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)00148-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)00148-3)
- Lin, Y.-S., Wang, H.-Y., Huang, D.-F., Hsieh, P.-F., Lin, M.-Y., Chou, C.-H., Wu, I.-J., Huang, G.-J., Gau, S.S.-F., Huang, H.-S., 2016. Neuronal Splicing Regulator RBFOX3 (NeuN) Regulates Adult Hippocampal Neurogenesis and Synaptogenesis. *PLOS ONE* 11, e0164164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164164>
- Liu, J.-Q., Carl, J.W., Joshi, P.S., RayChaudhury, A., Pu, X.-A., Shi, F.-D., Bai, X.-F., 2007. CD24 on the Resident Cells of the Central Nervous System Enhances Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *The Journal of Immunology* 178, 6227–6235. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.10.6227>

- Llorens-Bobadilla, E., Zhao, S., Baser, A., Saiz-Castro, G., Zwadlo, K., Martin-Villalba, A., 2015. Single-Cell Transcriptomics Reveals a Population of Dormant Neural Stem Cells that Become Activated upon Brain Injury. *Cell Stem Cell* 17, 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.07.002>
- Lois, C., Alvarez-Buylla, A., 1993. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 2074–2077. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.5.2074>
- López-Juárez, A., Howard, J., Ullom, K., Howard, L., Grande, A., Pardo, A., Waclaw, R., Sun, Y.-Y., Yang, D., Kuan, C.-Y., Campbell, K., Nakafuku, M., 2013. *Gsx2* controls region-specific activation of neural stem cells and injury-induced neurogenesis in the adult subventricular zone. *Genes Dev.* 27, 1272–1287. <https://doi.org/10.1101/gad.217539.113>
- Lucassen, P.J., Toni, N., Kempermann, G., Frisen, J., Gage, F.H., Swaab, D.F., 2020. Limits to human neurogenesis—really? *Mol Psychiatry* 25, 2207–2209. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0337-5>
- Machold, R., Hayashi, S., Rutlin, M., Muzumdar, M.D., Nery, S., Corbin, J.G., Gritli-Linde, A., Dellovade, T., Porter, J.A., Rubin, L.L., Dudek, H., McMahon, A.P., Fishell, G., 2003. Sonic Hedgehog Is Required for Progenitor Cell Maintenance in Telencephalic Stem Cell Niches. *Neuron* 39, 937–950. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00561-0](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00561-0)
- Magri, L., Swiss, V.A., Jablonska, B., Lei, L., Pedre, X., Walsh, M., Zhang, W., Gallo, V., Canoll, P., Casaccia, P., 2014. E2F1 Coregulates Cell Cycle Genes and Chromatin Components during the Transition of Oligodendrocyte Progenitors from Proliferation to Differentiation. *J. Neurosci.* 34, 1481–1493. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2840-13.2014>
- Majmundar, A.J., Wong, W.J., Simon, M.C., 2010. Hypoxia-Inducible Factors and the Response to Hypoxic Stress. *Molecular Cell* 40, 294–309. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.022>
- Malvaut, S., Saghatelian, A., 2015. The Role of Adult-Born Neurons in the Constantly Changing Olfactory Bulb Network. *Neural Plasticity* 2016, e1614329. <https://doi.org/10.1155/2016/1614329>
- Mandairon, N., Sultan, S., Nouvian, M., Sacquet, J., Didier, A., 2011. Involvement of Newborn Neurons in Olfactory Associative Learning? The Operant or Non-operant Component of the Task Makes All the Difference. *J. Neurosci.* 31, 12455–12460. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2919-11.2011>
- Marchetti, B., Tirolo, C., L'Episcopo, F., Caniglia, S., Testa, N., Smith, J.A., Pluchino, S., Serapide, M.F., 2020. Parkinson's disease, aging and adult neurogenesis: Wnt/ β -catenin signalling as the key to unlock the mystery of endogenous brain repair. *Aging Cell* 19, e13101. <https://doi.org/10.1111/accel.13101>
- Martins, R., Lithgow, G.J., Link, W., 2016. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity. *Aging Cell* 15, 196–207. <https://doi.org/10.1111/accel.12427>

- Martončíková, M., Alexovič Matiašová, A., Ševc, J., Račeková, E., 2021. Relationship between Blood Vessels and Migration of Neuroblasts in the Olfactory Neurogenic Region of the Rodent Brain. *Int J Mol Sci* 22, 11506. <https://doi.org/10.3390/ijms222111506>
- Martynoga, B., Drechsel, D., Guillemot, F., 2012. Molecular Control of Neurogenesis: A View from the Mammalian Cerebral Cortex. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4, a008359. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008359>
- Marzan, D.E., Brügger-Verdon, V., West, B.L., Liddelow, S., Samanta, J., Salzer, J.L., 2021. Activated microglia drive demyelination via CSF1R signaling. *Glia* 69, 1583–1604. <https://doi.org/10.1002/glia.23980>
- Maslyukov, A., Li, K., Su, X., Kovalchuk, Y., Garaschuk, O., 2018. Spontaneous calcium transients in the immature adult-born neurons of the olfactory bulb. *Cell Calcium* 74, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2018.06.001>
- Mathieu, C., Sii-Felice, K., Fouchet, P., Etienne, O., Haton, C., Mabondzo, A., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2008. Endothelial cell-derived bone morphogenetic proteins control proliferation of neural stem/progenitor cells. *Molecular and Cellular Neuroscience* 38, 569–577. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.05.005>
- Matsushima, G.K., Morell, P., 2001. The Neurotoxicant, Cuprizone, as a Model to Study Demyelination and Remyelination in the Central Nervous System. *Brain Pathology* 11, 107–116. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00385.x>
- Mauger, O., Klinck, R., Chabot, B., Muchardt, C., Allemand, E., Batsché, E., 2015. Alternative splicing regulates the expression of G9A and SUV39H2 methyltransferases, and dramatically changes SUV39H2 functions. *Nucleic Acids Res* 43, 1869–1882. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv013>
- McKinnon, R.D., Matsui, T., Dubois-Dalcq, M., Aaronson, S.A., 1990. FGF modulates the PDGF-driven pathway of oligodendrocyte development. *Neuron* 5, 603–614. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(90\)90215-2](https://doi.org/10.1016/0896-6273(90)90215-2)
- McRae, B.L., Vanderlugt, C.L., Dal Canto, M.C., Miller, S.D., 1995. Functional evidence for epitope spreading in the relapsing pathology of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Experimental Medicine* 182, 75–85. <https://doi.org/10.1084/jem.182.1.75>
- Mehlich, D., Garbicz, F., Włodarski, P.K., 2018. The emerging roles of the polycistronic miR-106b~25 cluster in cancer – A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107, 1183–1195. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.097>
- Mendel, I., de Rosbo, N.K., Ben-Nun, A., 1995. A myelin oligodendrocyte glycoprotein peptide induces typical chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in H-2b mice: Fine specificity and T cell receptor V β expression of encephalitogenic T cells. *European Journal of Immunology* 25, 1951–1959. <https://doi.org/10.1002/eji.1830250723>

- Menezes, J.R., Smith, C.M., Nelson, K.C., Luskin, M.B., 1995. The division of neuronal progenitor cells during migration in the neonatal mammalian forebrain. *Mol Cell Neurosci* 6, 496–508. <https://doi.org/10.1006/mcne.1995.0002>
- Menn, B., Garcia-Verdugo, J.M., Yaschine, C., Gonzalez-Perez, O., Rowitch, D., Alvarez-Buylla, A., 2006. Origin of Oligodendrocytes in the Subventricular Zone of the Adult Brain. *J. Neurosci.* 26, 7907–7918. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1299-06.2006>
- Mercier, F., Douet, V., 2014. Bone morphogenetic protein-4 inhibits adult neurogenesis and is regulated by fractone-associated heparan sulfates in the subventricular zone. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 57–58, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2014.03.005>
- Mercier, F., Kitasako, J.T., Hatton, G.I., 2002. Anatomy of the brain neurogenic zones revisited: Fractones and the fibroblast/macrophage network. *Journal of Comparative Neurology* 451, 170–188. <https://doi.org/10.1002/cne.10342>
- Merkle, F.T., Fuentealba, L.C., Sanders, T.A., Magno, L., Kessaris, N., Alvarez-Buylla, A., 2014. Adult neural stem cells in distinct microdomains generate previously unknown interneuron types. *Nat Neurosci* 17, 207–214. <https://doi.org/10.1038/nn.3610>
- Merkle, F.T., Mirzadeh, Z., Alvarez-Buylla, A., 2007. Mosaic Organization of Neural Stem Cells in the Adult Brain. *Science* 317, 381–384. <https://doi.org/10.1126/science.1144914>
- Merkle, F.T., Tramontin, A.D., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2004. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, 17528–17532. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407893101>
- Mich, J.K., Signer, R.A., Nakada, D., Pineda, A., Burgess, R.J., Vue, T.Y., Johnson, J.E., Morrison, S.J., 2014. Prospective identification of functionally distinct stem cells and neurosphere-initiating cells in adult mouse forebrain. *Elife* 3, e02669. <https://doi.org/10.7554/eLife.02669>
- Michael A. Hack, Saghatelian, A., Chevigny, A. de, Pfeifer, A., Ashery-Padan, R., Lledo, P.-M., Götz, M., 2005. Neuronal fate determinants of adult olfactory bulb neurogenesis. *Nature Neuroscience* 8, 865–872. <https://doi.org/10.1038/nn1479>
- Migaud, M., Batailler, M., Segura, S., Duittoz, A., Franceschini, I., Pilon, D., 2010. Emerging new sites for adult neurogenesis in the mammalian brain: a comparative study between the hypothalamus and the classical neurogenic zones. *European Journal of Neuroscience* 32, 2042–2052. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07521.x>
- Miller, M.W., Nowakowski, R.S., 1988. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Research* 457, 44–52. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90055-8)
- Mirzadeh, Z., Merkle, F.T., Soriano-Navarro, M., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2008. Neural Stem Cells Confer Unique Pinwheel Architecture to the Ventricular Surface in Neurogenic Regions of the Adult Brain. *Cell Stem Cell* 3, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.004>

- Mizrak, D., Levitin, H.M., Delgado, A.C., Crotet, V., Yuan, J., Chaker, Z., Silva-Vargas, V., Sims, P.A., Doetsch, F., 2019. Single-Cell Analysis of Regional Differences in Adult V-SVZ Neural Stem Cell Lineages. *Cell Reports* 26, 394-406.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.044>
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Menezes, J.R.L., Macklis, J.D., 2007. Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 8, 427–437. <https://doi.org/10.1038/nrn2151>
- Mootha, V.K., Lindgren, C.M., Eriksson, K.-F., Subramanian, A., Sihag, S., Lehar, J., Puigserver, P., Carlsson, E., Ridderstråle, M., Laurila, E., Houstis, N., Daly, M.J., Patterson, N., Mesirov, J.P., Golub, T.R., Tamayo, P., Spiegelman, B., Lander, E.S., Hirschhorn, J.N., Altshuler, D., Groop, L.C., 2003. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet* 34, 267–273. <https://doi.org/10.1038/ng1180>
- Moreno, M.M., Linster, C., Escanilla, O., Sacquet, J., Didier, A., Mandairon, N., 2009. Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 17980–17985. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907063106>
- Moreno-Jiménez, E.P., Flor-García, M., Terreros-Roncal, J., Rábano, A., Cafini, F., Pallas-Bazarra, N., Ávila, J., Llorens-Martín, M., 2019. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer’s disease. *Nat Med* 25, 554–560. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0375-9>
- Moreno-Jiménez, E.P., Terreros-Roncal, J., Flor-García, M., Rábano, A., Llorens-Martín, M., 2021. Evidences for Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans. *J. Neurosci.* 41, 2541–2553. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0675-20.2020>
- Morgado, A.L., Rodrigues, C.M.P., Solá, S., 2016. MicroRNA-145 Regulates Neural Stem Cell Differentiation Through the Sox2–Lin28/let-7 Signaling Pathway. *Stem Cells* 34, 1386–1395. <https://doi.org/10.1002/stem.2309>
- Morita, M., Kozuka, N., Itofusa, R., Yukawa, M., Kudo, Y., 2005. Autocrine activation of EGF receptor promotes oscillation of glutamate-induced calcium increase in astrocytes cultured in rat cerebral cortex. *Journal of Neurochemistry* 95, 871–879. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03430.x>
- Morizur, L., Chicheportiche, A., Gauthier, L.R., Daynac, M., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2018. Distinct Molecular Signatures of Quiescent and Activated Adult Neural Stem Cells Reveal Specific Interactions with Their Microenvironment. *Stem Cell Reports* 11, 565–577. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.06.005>
- Morshead, C.M., Reynolds, B.A., Craig, C.G., McBurney, M.W., Staines, W.A., Morassutti, D., Weiss, S., van der Kooy, D., 1994. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: A relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* 13, 1071–1082. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90046-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90046-9)

- Mosher, K.I., Andres, R.H., Fukuhara, T., Bieri, G., Hasegawa-Moriyama, M., He, Y., Guzman, R., Wyss-Coray, T., 2012. Neural progenitor cells regulate microglia functions and activity. *Nat Neurosci* 15, 1485–1487. <https://doi.org/10.1038/nn.3233>
- Moss, J., Gebara, E., Bushong, E.A., Sánchez-Pascual, I., O'Laio, R., El M'Ghari, I., Kocher-Braissant, J., Ellisman, M.H., Toni, N., 2016. Fine processes of Nestin-GFP-positive radial glia-like stem cells in the adult dentate gyrus ensheath local synapses and vasculature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, E2536–E2545. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514652113>
- Nait-Oumesmar, B., Decker, L., Lachapelle, F., Avellana-Adalid, V., Bachelin, C., Baron-Van Evercooren, A., 1999. Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate, migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination. *Eur. J. Neurosci.* 11, 4357–4366.
- Nait-Oumesmar, Brahim, Decker, L., Lachapelle, F., Avellana-Adalid, V., Bachelin, C., Van Evercooren, A.B.-., 1999. Progenitor cells of the adult mouse subventricular zone proliferate, migrate and differentiate into oligodendrocytes after demyelination. *European Journal of Neuroscience* 11, 4357–4366. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00873.x>
- Nakashiba, T., Cushman, J.D., Pelkey, K.A., Renaudineau, S., Buhl, D.L., McHugh, T.J., Barrera, V.R., Chittajallu, R., Iwamoto, K.S., McBain, C.J., Fanselow, M.S., Tonegawa, S., 2012. Young Dentate Granule Cells Mediate Pattern Separation, whereas Old Granule Cells Facilitate Pattern Completion. *Cell* 149, 188–201. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.046>
- Nam, H., Benezra, R., 2009a. High Levels of Id1 Expression Define B1 Type Adult Neural Stem Cells. *Cell Stem Cell* 5, 515–526. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.08.017>
- Nam, H., Benezra, R., 2009b. High Levels of Id1 Expression Define B1 Type Adult Neural Stem Cells. *Cell Stem Cell* 5, 515–526. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.08.017>
- Nicklas, S., Okawa, S., Hillje, A.-L., González-Cano, L., del Sol, A., Schwamborn, J.C., 2015. The RNA helicase DDX6 regulates cell-fate specification in neural stem cells via miRNAs. *Nucleic Acids Research* 43, 2638–2654. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv138>
- Nicolay, D.J., Doucette, J.R., Nazarali, A.J., 2007. Transcriptional control of oligodendrogenesis. *Glia* 55, 1287–1299. <https://doi.org/10.1002/glia.20540>
- Nieto-Estevez, V., Changarathil, G., Adeyeye, A.O., Coppin, M.O., Kassim, R.S., Zhu, J., Hsieh, J., 2022. HDAC1 Regulates Neuronal Differentiation. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 14.
- Niibori, Y., Yu, T.-S., Epp, J.R., Akers, K.G., Josselyn, S.A., Frankland, P.W., 2012. Suppression of adult neurogenesis impairs population coding of similar contexts in hippocampal CA3 region. *Nat Commun* 3, 1253. <https://doi.org/10.1038/ncomms2261>
- Ninkovic, J., Steiner-Mezzadri, A., Jawerka, M., Akinci, U., Masserdotti, G., Petricca, S., Fischer, J., von Holst, A., Beckers, J., Lie, C.D., Petrik, D., Miller, E., Tang, J., Wu, J., Lefebvre, V., Demmers, J., Eisch, A., Metzger, D., Crabtree, G., Irmeler, M., Poot, R., Götz, M., 2013. The

BAF Complex Interacts with Pax6 in Adult Neural Progenitors to Establish a Neurogenic Cross-Regulatory Transcriptional Network. *Cell Stem Cell* 13, 403–418. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.07.002>

Niola, F., Zhao, X., Singh, D., Castano, A., Sullivan, R., Lauria, M., Nam, H., Zhuang, Y., Benezra, R., Di Bernardo, D., Iavarone, A., Lasorella, A., 2012. Id proteins synchronize stemness and anchorage to the niche of neural stem cells. *Nat Cell Biol* 14, 477–487. <https://doi.org/10.1038/ncb2490>

Nishino, J., Kim, I., Chada, K., Morrison, S.J., 2008. Hmga2 Promotes Neural Stem Cell Self-Renewal in Young but Not Old Mice by Reducing p16Ink4a and p19Arf Expression. *Cell* 135, 227–239. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.017>

Noctor, S.C., Flint, A.C., Weissman, T.A., Dammerman, R.S., Kriegstein, A.R., 2001. Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 409, 714–720. <https://doi.org/10.1038/35055553>

Normanno, N., De Luca, A., Bianco, C., Strizzi, L., Mancino, M., Maiello, M.R., Carotenuto, A., De Feo, G., Caponigro, F., Salomon, D.S., 2006. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 366, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2005.10.018>

Nottebohm, F., 2011. Song Learning in Birds Offers a Model for Neuronal Replacement in Adult Brain, in: Seki, T., Sawamoto, K., Parent, J.M., Alvarez-Buylla, A. (Eds.), *Neurogenesis in the Adult Brain I: Neurobiology*. Springer Japan, Tokyo, pp. 47–84. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53933-9_2

Nowek, K., Wiemer, E.A.C., Jongen-Lavrencic, M., 2018. The versatile nature of miR-9/9* in human cancer. *Oncotarget* 9, 20838–20854. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24889>

Obernier, Kirsten, Alvarez-Buylla, A., 2019. Neural stem cells: origin, heterogeneity and regulation in the adult mammalian brain. *Development* 146, dev156059. <https://doi.org/10.1242/dev.156059>

Obernier, K., Cebrian-Silla, A., Thomson, M., Parraguez, J.I., Anderson, R., Guinto, C., Rodas Rodriguez, J., Garcia-Verdugo, J.-M., Alvarez-Buylla, A., 2018. Adult Neurogenesis Is Sustained by Symmetric Self-Renewal and Differentiation. *Cell Stem Cell* 22, 221–234.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.01.003>

Okabe, M., Ikawa, M., Kominami, K., Nakanishi, T., Nishimune, Y., 1997. “Green mice” as a source of ubiquitous green cells. *FEBS Lett.* 407, 313–319.

Olah, M., Amor, S., Brouwer, N., Vinet, J., Eggen, B., Biber, K., Boddeke, H.W.G.M., 2012. Identification of a microglia phenotype supportive of remyelination. *Glia* 60, 306–321. <https://doi.org/10.1002/glia.21266>

Ortega, F., Gascón, S., Masserdotti, G., Deshpande, A., Simon, C., Fischer, J., Dimou, L., Chichung Lie, D., Schroeder, T., Berninger, B., 2013. Oligodendroglial and neurogenic adult subependymal zone neural stem cells constitute distinct lineages and exhibit differential responsiveness to Wnt signalling. *Nat Cell Biol* 15, 602–613. <https://doi.org/10.1038/ncb2736>

- Owji, S., Shoja, M.M., 2020. The History of Discovery of Adult Neurogenesis. *Clinical Anatomy* 33, 41–55. <https://doi.org/10.1002/ca.23447>
- Packer, A.N., Xing, Y., Harper, S.Q., Jones, L., Davidson, B.L., 2008. The Bifunctional microRNA miR-9/miR-9* Regulates REST and CoREST and Is Downregulated in Huntington's Disease. *J. Neurosci.* 28, 14341–14346. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2390-08.2008>
- Paez-Gonzalez, P., Abdi, K., Luciano, D., Liu, Y., Soriano-Navarro, M., Rawlins, E., Bennett, V., Garcia-Verdugo, J.M., Kuo, C.T., 2011. Ank3-Dependent SVZ Niche Assembly Is Required for the Continued Production of New Neurons. *Neuron* 71, 61–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.029>
- Paez-Gonzalez, P., Asrican, B., Rodriguez, E., Kuo, C.T., 2014. Identification of distinct ChAT+ neurons and activity-dependent control of postnatal SVZ neurogenesis. *Nat Neurosci* 17, 934–942. <https://doi.org/10.1038/nn.3734>
- Paik, J., Ding, Z., Narurkar, R., Ramkissoon, S., Muller, F., Kamoun, W.S., Chae, S.-S., Zheng, H., Ying, H., Mahoney, J., Hiller, D., Jiang, S., Protopopov, A., Wong, W.H., Chin, L., Ligon, K.L., DePinho, R.A., 2009. FoxOs Cooperatively Regulate Diverse Pathways Governing Neural Stem Cell Homeostasis. *Cell Stem Cell* 5, 540–553. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.09.013>
- Panagiotakos, G., Alshamy, G., Chan, B., Abrams, R., Greenberg, E., Saxena, A., Bradbury, M., Edgar, M., Gutin, P., Tabar, V., 2007. Long-Term Impact of Radiation on the Stem Cell and Oligodendrocyte Precursors in the Brain. *PLOS ONE* 2, e588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000588>
- Panchision, D.M., 2009a. The role of oxygen in regulating neural stem cells in development and disease. *Journal of Cellular Physiology* 220, 562–568. <https://doi.org/10.1002/jcp.21812>
- Park, I.-K., Morrison, S.J., Clarke, M.F., 2004. Bmi1, stem cells, and senescence regulation. *J Clin Invest* 113, 175–179. <https://doi.org/10.1172/JCI200420800>
- Parras, C.M., Galli, R., Britz, O., Soares, S., Galichet, C., Battiste, J., Johnson, J.E., Nakafuku, M., Vescovi, A., Guillemot, F., 2004. Mash1 specifies neurons and oligodendrocytes in the postnatal brain. *The EMBO Journal* 23, 4495–4505. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600447>
- Pastrana, E., Cheng, L.-C., Doetsch, F., 2009. Simultaneous prospective purification of adult subventricular zone neural stem cells and their progeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 6387–6392. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810407106>
- Paul, A., Chaker, Z., Doetsch, F., 2017. Hypothalamic regulation of regionally distinct adult neural stem cells and neurogenesis. *Science* 356, 1383–1386. <https://doi.org/10.1126/science.aal3839>
- Peng, C., Li, N., Ng, Y.-K., Zhang, J., Meier, F., Theis, F.J., Merckenschlager, M., Chen, W., Wurst, W., Prakash, N., 2012. A Unilateral Negative Feedback Loop Between miR-200 microRNAs and Sox2/E2F3 Controls Neural Progenitor Cell-Cycle Exit and Differentiation. *J. Neurosci.* 32, 13292–13308. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2124-12.2012>

- Peretto, P., Cummings, D., Modena, C., Behrens, M., Venkatraman, G., Fasolo, A., Margolis, F.L., 2002. BMP mRNA and protein expression in the developing mouse olfactory system. *Journal of Comparative Neurology* 451, 267–278. <https://doi.org/10.1002/cne.10343>
- Petreaanu, L., Alvarez-Buylla, A., 2002. Maturation and Death of Adult-Born Olfactory Bulb Granule Neurons: Role of Olfaction. *J. Neurosci.* 22, 6106–6113. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-14-06106.2002>
- Petrik, D., Myoga, M.H., Grade, S., Gerkau, N.J., Pusch, M., Rose, C.R., Grothe, B., Götz, M., 2018. Epithelial Sodium Channel Regulates Adult Neural Stem Cell Proliferation in a Flow-Dependent Manner. *Cell Stem Cell* 22, 865–878.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.04.016>
- Petrova, R., Garcia, A.D.R., Joyner, A.L., 2013. Titration of GLI3 Repressor Activity by Sonic Hedgehog Signaling Is Critical for Maintaining Multiple Adult Neural Stem Cell and Astrocyte Functions. *J. Neurosci.* 33, 17490–17505. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2042-13.2013>
- Picard-Riera, N., Decker, L., Delarasse, C., Goude, K., Nait-Oumesmar, B., Liblau, R., Pham-Dinh, D., Evercooren, A.B.-V., 2002. Experimental autoimmune encephalomyelitis mobilizes neural progenitors from the subventricular zone to undergo oligodendrogenesis in adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 13211–13216. <https://doi.org/10.1073/pnas.192314199>
- Pilz, G.-A., Bottes, S., Betizeau, M., Jörg, D.J., Carta, S., Simons, B.D., Helmchen, F., Jessberger, S., 2018. Live imaging of neurogenesis in the adult mouse hippocampus. *Science* 359, 658–662. <https://doi.org/10.1126/science.aao5056>
- Pineda, José R., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2013. Le TGF β , un trouble-fête dans la niche des cellules souches neurales adultes. *Med Sci (Paris)* 29, 572–574. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013296006>
- Pineda, Jose R., Daynac, M., Chicheportiche, A., Cebrian-Silla, A., Sii Felice, K., Garcia-Verdugo, J.M., Boussin, F.D., Mouthon, M.-A., 2013. Vascular-derived TGF- β increases in the stem cell niche and perturbs neurogenesis during aging and following irradiation in the adult mouse brain. *EMBO Molecular Medicine* 5, 548–562. <https://doi.org/10.1002/emmm.201202197>
- Ponti, G., Obernier, K., Guinto, C., Jose, L., Bonfanti, L., Alvarez-Buylla, A., 2013. Cell cycle and lineage progression of neural progenitors in the ventricular-subventricular zones of adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E1045–E1054. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219563110>
- Praet, J., Guglielmetti, C., Berneman, Z., Van der Linden, A., Ponsaerts, P., 2014. Cellular and molecular neuropathology of the cuprizone mouse model: Clinical relevance for multiple sclerosis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 47, 485–505. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.004>
- Procaccini, C., De Rosa, V., Pucino, V., Formisano, L., Matarese, G., 2015. Animal models of Multiple Sclerosis. *European Journal of Pharmacology, Translational value of animal models* 759, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.042>

Quiñones-Hinojosa, A., Sanai, N., Soriano-Navarro, M., Gonzalez-Perez, O., Mirzadeh, Z., Gil-Perotin, S., Romero-Rodriguez, R., Berger, M.S., Garcia-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 2006. Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: A niche of neural stem cells. *Journal of Comparative Neurology* 494, 415–434. <https://doi.org/10.1002/cne.20798>

Raj, B., Blencowe, B.J., 2015. Alternative Splicing in the Mammalian Nervous System: Recent Insights into Mechanisms and Functional Roles. *Neuron* 87, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.05.004>

Rajendran, R., Böttiger, G., Stadelmann, C., Karnati, S., Berghoff, M., 2021. FGF/FGFR Pathways in Multiple Sclerosis and in Its Disease Models. *Cells* 10, 884. <https://doi.org/10.3390/cells10040884>

Rakic, P., 1985. Limits of Neurogenesis in Primates. *Science* 227, 1054–1056. <https://doi.org/10.1126/science.3975601>

Ramon y Cajal, S., 1928. Degeneration and regeneration of the nervous system, Degeneration and regeneration of the nervous system. Clarendon Press, Oxford, England.

Rand, T.A., Petersen, S., Du, F., Wang, X., 2005. Argonaute2 Cleaves the Anti-Guide Strand of siRNA during RISC Activation. *Cell* 123, 621–629. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.020>

Rao, M.S., Shetty, A.K., 2004. Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus. *European Journal of Neuroscience* 19, 234–246. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03123.x>

Raponi, E., Agenes, F., Delphin, C., Assard, N., Baudier, J., Legraverend, C., Deloulme, J.-C., 2007. S100B expression defines a state in which GFAP-expressing cells lose their neural stem cell potential and acquire a more mature developmental stage. *Glia* 55, 165–177. <https://doi.org/10.1002/glia.20445>

Ratti, A., Fallini, C., Cova, L., Fantozzi, R., Calzarossa, C., Zennaro, E., Pascale, A., Quattrone, A., Silani, V., 2006. A role for the ELAV RNA-binding proteins in neural stem cells: stabilization of Msi1 mRNA. *Journal of Cell Science* 119, 1442–1452. <https://doi.org/10.1242/jcs.02852>

Ravindran, E., Velazco, C.G. de, Ghazanfar, A., Kraemer, N., Zaqout, S., Waheed, A., Hanif, M., Mughal, S., Prigione, A., Li, N., Fang, X., Hu, H., Kaindl, A.M., 2022. Homozygous mutation in MCM7 causes autosomal recessive primary microcephaly and intellectual disability. *Journal of Medical Genetics* 59, 453–461. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2020-107518>

Reddi, A.H., Reddi, A., 2009. Bone morphogenetic proteins (BMPs): From morphogens to metabologens. *Cytokine & Growth Factor Reviews, Bone Morphogenetic Proteins, Stem Cells and Regenerative Medicine* 20, 341–342. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.10.015>

Rehfeld, F., Rohde, A.M., Nguyen, D.T.T., Wulczyn, F.G., 2015. Lin28 and let-7: ancient milestones on the road from pluripotency to neurogenesis. *Cell Tissue Res* 359, 145–160. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1872-2>

- Reidling, J.C., Relaño-Ginés, A., Holley, S.M., Ochaba, J., Moore, C., Fury, B., Lau, A., Tran, A.H., Yeung, S., Salamati, D., Zhu, C., Hatami, A., Cepeda, C., Barry, J.A., Kamdjou, T., King, A., Coleal-Bergum, D., Franich, N.R., LaFerla, F.M., Steffan, J.S., Blurton-Jones, M., Meshul, C.K., Bauer, G., Levine, M.S., Chesselet, M.-F., Thompson, L.M., 2018. Human Neural Stem Cell Transplantation Rescues Functional Deficits in R6/2 and Q140 Huntington's Disease Mice. *Stem Cell Reports* 10, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.11.005>
- Renault, V.M., Rafalski, V.A., Morgan, A.A., Salih, D.A.M., Brett, J.O., Webb, A.E., Villeda, S.A., Thekkat, P.U., Guillerrey, C., Denko, N.C., Palmer, T.D., Butte, A.J., Brunet, A., 2009. FoxO3 Regulates Neural Stem Cell Homeostasis. *Cell Stem Cell* 5, 527–539. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.09.014>
- Reynolds, B.A., Weiss, S., 1992. Generation of Neurons and Astrocytes from Isolated Cells of the Adult Mammalian Central Nervous System [WWW Document]. <https://doi.org/10.1126/science.1553558>
- Roccio, M., Schmitter, D., Knobloch, M., Okawa, Y., Sage, D., Lutolf, M.P., 2013. Predicting stem cell fate changes by differential cell cycle progression patterns. *Development* 140, 459–470. <https://doi.org/10.1242/dev.086215>
- Romer-Seibert, J.S., Hartman, N.W., Moss, E.G., 2019. The RNA-binding protein LIN28 controls progenitor and neuronal cell fate during postnatal neurogenesis. *The FASEB Journal* 33, 3291–3303. <https://doi.org/10.1096/fj.201801118R>
- Ross, H.H., Sandhu, M.S., Cheung, T.F., Fitzpatrick, G.M., Sher, W.J., Tiemeier, A.J., Laywell, E.D., Fuller, D.D., 2012. *In vivo* intermittent hypoxia elicits enhanced expansion and neuronal differentiation in cultured neural progenitors. *Exp Neurol* 235, 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.01.027>
- Ruiz i Altaba, A., Nguyen, V., Palma, V., 2003. The emergent design of the neural tube: prepattern, SHH morphogen and GLI code. *Current Opinion in Genetics & Development* 13, 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2003.08.005>
- Sahay, A., Scobie, K.N., Hill, A.S., O'Carroll, C.M., Kheirbek, M.A., Burghardt, N.S., Fenton, A.A., Dranovsky, A., Hen, R., 2011. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* 472, 466–470. <https://doi.org/10.1038/nature09817>
- Sakakibara, S., Nakamura, Y., Satoh, H., Okano, H., 2001. RNA-Binding Protein Musashi2: Developmentally Regulated Expression in Neural Precursor Cells and Subpopulations of Neurons in Mammalian CNS. *J. Neurosci.* 21, 8091–8107. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08091.2001>
- Sakakibara, S., Okano, H., 1997. Expression of neural RNA-binding proteins in the postnatal CNS: implications of their roles in neuronal and glial cell development. *J Neurosci* 17, 8300–8312.
- Sakaue-Sawano, A., Kurokawa, H., Morimura, T., Hanyu, A., Hama, H., Osawa, H., Kashiwagi, S., Fukami, K., Miyata, T., Miyoshi, H., Imamura, T., Ogawa, M., Masai, H., Miyawaki, A., 2008.

- Visualizing Spatiotemporal Dynamics of Multicellular Cell-Cycle Progression. *Cell* 132, 487–498. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.033>
- Samanta, J., Grund, E.M., Silva, H.M., Lafaille, J.J., Fishell, G., Salzer, J.L., 2015. Inhibition of Gli1 mobilizes endogenous neural stem cells for remyelination. *Nature* 526, 448–452. <https://doi.org/10.1038/nature14957>
- Samanta, J., Kessler, J.A., 2004. Interactions between ID and OLIG proteins mediate the inhibitory effects of BMP4 on oligodendroglial differentiation. *Development* 131, 4131–4142. <https://doi.org/10.1242/dev.01273>
- Sanai, N., Tramontin, A.D., Barbaro, N.M., Gupta, N., Kunwar, S., Lawton, M.T., McDermott, M.W., Parsa, A.T., Verdugo, J.M.-G., Berger, M.S., Alvarez-Buylla, A., 2004. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration 427, 5.
- Sarkar, A., Hochedlinger, K., 2013. The Sox Family of Transcription Factors: Versatile Regulators of Stem and Progenitor Cell Fate. *Cell Stem Cell* 12, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.12.007>
- Sauvageot, C.M., Stiles, C.D., 2002. Molecular mechanisms controlling cortical gliogenesis. *Current Opinion in Neurobiology* 12, 244–249. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00322-7](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00322-7)
- Sawamoto, K., Wichterle, H., Gonzalez-Perez, O., Cholfin, J.A., Yamada, M., Spassky, N., Murcia, N.S., Garcia-Verdugo, J.M., Marin, O., Rubenstein, J.L.R., Tessier-Lavigne, M., Okano, H., Alvarez-Buylla, A., 2006. New Neurons Follow the Flow of Cerebrospinal Fluid in the Adult Brain. *Science* 311, 629–632. <https://doi.org/10.1126/science.1119133>
- Sawano, A., Iwai, S., Sakurai, Y., Ito, M., Shitara, K., Nakahata, T., Shibuya, M., 2001. Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. *Blood* 97, 785–791. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.3.785>
- Schwamborn, J.C., Berezikov, E., Knoblich, J.A., 2009. The TRIM-NHL Protein TRIM32 Activates MicroRNAs and Prevents Self-Renewal in Mouse Neural Progenitors. *Cell* 136, 913–925. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.12.024>
- Serrano-Regal, M.P., Luengas-Escuza, I., Bayón-Cordero, L., Ibarra-Aizpurua, N., Alberdi, E., Pérez-Samartín, A., Matute, C., Sánchez-Gómez, M.V., 2020. Oligodendrocyte Differentiation and Myelination Is Potentiated via GABAB Receptor Activation. *Neuroscience, Honoring Ricardo Miledi - outstanding neuroscientist of XX-XXI centuries* 439, 163–180. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.07.014>
- Shen, Q., Wang, Y., Kokovay, E., Lin, G., Chuang, S.-M., Goderie, S.K., Roysam, B., Temple, S., 2008. Adult SVZ stem cells lie in a vascular niche: A quantitative analysis of niche cell-cell interactions. *Cell Stem Cell* 3, 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.026>

- Shi, Y., Chichung Lie, D., Taupin, P., Nakashima, K., Ray, J., Yu, R.T., Gage, F.H., Evans, R.M., 2004. Expression and function of orphan nuclear receptor TLX in adult neural stem cells. *Nature* 427, 78–83. <https://doi.org/10.1038/nature02211>
- Shibata, M., Kurokawa, D., Nakao, H., Ohmura, T., Aizawa, S., 2008. MicroRNA-9 Modulates Cajal–Retzius Cell Differentiation by Suppressing Foxg1 Expression in Mouse Medial Pallium. *J Neurosci* 28, 10415–10421. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3219-08.2008>
- Shibata, M., Nakao, H., Kiyonari, H., Abe, T., Aizawa, S., 2011. MicroRNA-9 Regulates Neurogenesis in Mouse Telencephalon by Targeting Multiple Transcription Factors. *J Neurosci* 31, 3407–3422. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5085-10.2011>
- Shields, S.A., Gilson, J.M., Blakemore, W.F., Franklin, R.J.M., 1999. Remyelination occurs as extensively but more slowly in old rats compared to young rats following gliotoxin-induced CNS demyelination. *Glia* 28, 77–83. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1136\(199910\)28:1<77::AID-GLIA9>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1136(199910)28:1<77::AID-GLIA9>3.0.CO;2-F)
- Shimozaki, K., Zhang, C.-L., Suh, H., Denli, A.M., Evans, R.M., Gage, F.H., 2012. SRY-box-containing Gene 2 Regulation of Nuclear Receptor Tailless (Tlx) Transcription in Adult Neural Stem Cells*. *Journal of Biological Chemistry* 287, 5969–5978. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.290403>
- Shin, J., Kim, J., 2013. Novel alternative splice variants of chicken NPAS3 are expressed in the developing central nervous system. *Gene* 530, 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.024>
- Shinohara, C., Gobbel, G.T., Lamborn, K.R., Tada, E., Fike, J.R., 1997. Apoptosis in the Subependyma of Young Adult Rats after Single and Fractionated Doses of X-Rays1. *Cancer Research* 57, 2694–2702.
- Shook, B.A., Manz, D.H., Peters, J.J., Kang, S., Conover, J.C., 2012. Spatiotemporal Changes to the Subventricular Zone Stem Cell Pool through Aging. *J. Neurosci.* 32, 6947–6956. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5987-11.2012>
- Silva-Vargas, V., Maldonado-Soto, A.R., Mizrak, D., Codega, P., Doetsch, F., 2016. Age-Dependent Niche Signals from the Choroid Plexus Regulate Adult Neural Stem Cells. *Cell Stem Cell* 19, 643–652. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.06.013>
- Snyder, J.S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., Cameron, H.A., 2011. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature* 476, 458–461. <https://doi.org/10.1038/nature10287>
- Soares, L.C., Al-Dalahmah, O., Hillis, J., Young, C.C., Asbed, I., Sakaguchi, M., O'Neill, E., Szele, F.G., 2021. Novel Galectin-3 Roles in Neurogenesis, Inflammation and Neurological Diseases. *Cells* 10, 3047. <https://doi.org/10.3390/cells10113047>
- Sohn, J., Orosco, L., Guo, F., Chung, S.-H., Bannerman, P., Mills Ko, E., Zarbalis, K., Deng, W., Pleasure, D., 2015. The subventricular zone continues to generate corpus callosum and

rostral migratory stream astroglia in normal adult mice. *J. Neurosci.* 35, 3756–3763. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3454-14.2015>

Solano Fonseca, R., Mahesula, S., Apple, D.M., Raghunathan, R., Dugan, A., Cardona, A., O'Connor, J., Kokovay, E., 2016. Neurogenic Niche Microglia Undergo Positional Remodeling and Progressive Activation Contributing to Age-Associated Reductions in Neurogenesis. *Stem Cells and Development* 25, 542–555. <https://doi.org/10.1089/scd.2015.0319>

Song, M., Yu, S.P., Mohamad, O., Cao, W., Wei, Z.Z., Gu, X., Jiang, M.Q., Wei, L., 2017. Optogenetic stimulation of glutamatergic neuronal activity in the striatum enhances neurogenesis in the subventricular zone of normal and stroke mice. *Neurobiology of Disease* 98, 9–24. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.11.005>

Sorrells, S.F., Paredes, M.F., Cebrian-Silla, A., Sandoval, K., Qi, D., Kelley, K.W., James, D., Mayer, S., Chang, J., Auguste, K.I., Chang, E.F., Gutierrez, A.J., Kriegstein, A.R., Mathern, G.W., Oldham, M.C., Huang, E.J., Garcia-Verdugo, J.M., Yang, Z., Alvarez-Buylla, A., 2018. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature* 555, 377–381. <https://doi.org/10.1038/nature25975>

Sorrells, S.F., Paredes, M.F., Zhang, Z., Kang, G., Pastor-Alonso, O., Biagiotti, S., Page, C.E., Sandoval, K., Knox, A., Connolly, A., Huang, E.J., Garcia-Verdugo, J.M., Oldham, M.C., Yang, Z., Alvarez-Buylla, A., 2021. Positive Controls in Adults and Children Support That Very Few, If Any, New Neurons Are Born in the Adult Human Hippocampus. *J. Neurosci.* 41, 2554–2565. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0676-20.2020>

Spalding, K.L., Bergmann, O., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Huttner, H.B., Boström, E., Westerlund, I., Vial, C., Buchholz, B.A., Possnert, G., Mash, D.C., Druid, H., Frisén, J., 2013. Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. *Cell* 153, 1219–1227. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.002>

Stappert, L., Klaus, F., Brüstle, O., 2018. MicroRNAs Engage in Complex Circuits Regulating Adult Neurogenesis. *Front. Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00707>

Stevanovic, M., Stanisavljevic Ninkovic, D., Mojsin, M., Drakulic, D., Schwirtlich, M., 2022. Interplay of SOX transcription factors and microRNAs in the brain under physiological and pathological conditions. *Neural Regeneration Research* 17, 2325–2334. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.338990>

Subramanian, A., Tamayo, P., Mootha, V.K., Mukherjee, S., Ebert, B.L., Gillette, M.A., Paulovich, A., Pomeroy, S.L., Golub, T.R., Lander, E.S., Mesirov, J.P., 2005. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 15545–15550. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506580102>

Sultan, S., Mandairon, N., Kermen, F., Garcia, S., Sacquet, J., Didier, A., 2010. Learning-dependent neurogenesis in the olfactory bulb determines long-term olfactory memory. *The FASEB Journal* 24, 2355–2363. <https://doi.org/10.1096/fj.09-151456>

- Sun, G., Alzayady, K., Stewart, R., Ye, P., Yang, S., Li, W., Shi, Y., 2010. Histone Demethylase LSD1 Regulates Neural Stem Cell Proliferation. *Molecular and Cellular Biology* 30, 1997–2005. <https://doi.org/10.1128/MCB.01116-09>
- Sun, G., Ye, P., Murai, K., Lang, M.-F., Li, S., Zhang, H., Li, W., Fu, C., Yin, J., Wang, A., Ma, X., Shi, Y., 2011. miR-137 forms a regulatory loop with nuclear receptor TLX and LSD1 in neural stem cells. *Nat Commun* 2, 529. <https://doi.org/10.1038/ncomms1532>
- Sun, G., Yu, R.T., Evans, R.M., Shi, Y., 2007. Orphan nuclear receptor TLX recruits histone deacetylases to repress transcription and regulate neural stem cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 15282–15287. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704089104>
- Suzuki, H.I., Katsura, A., Yasuda, T., Ueno, T., Mano, H., Sugimoto, K., Miyazono, K., 2015. Small-RNA asymmetry is directly driven by mammalian Argonautes. *Nat Struct Mol Biol* 22, 512–521. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3050>
- Szulwach, K.E., Li, X., Smrt, R.D., Li, Y., Luo, Y., Lin, L., Santistevan, N.J., Li, W., Zhao, X., Jin, P., 2010. Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. *Journal of Cell Biology* 189, 127–141. <https://doi.org/10.1083/jcb.200908151>
- Takahashi, K., Rochford, C.D.P., Neumann, H., 2005. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *Journal of Experimental Medicine* 201, 647–657. <https://doi.org/10.1084/jem.20041611>
- Tashiro, A., Sandler, V.M., Toni, N., Zhao, C., Gage, F.H., 2006. NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442, 929–933. <https://doi.org/10.1038/nature05028>
- Tekki-Kessararis, N., Woodruff, R., Hall, A.C., Gaffield, W., Kimura, S., Stiles, C.D., Rowitch, D.H., Richardson, W.D., 2001. Hedgehog-dependent oligodendrocyte lineage specification in the telencephalon. *Development* 128, 2545–2554. <https://doi.org/10.1242/dev.128.13.2545>
- Temprana, S.G., Mongiat, L.A., Yang, S.M., Trincherro, M.F., Alvarez, D.D., Kropff, E., Giacomini, D., Beltramone, N., Lanuza, G.M., Schinder, A.F., 2015. Delayed Coupling to Feedback Inhibition during a Critical Period for the Integration of Adult-Born Granule Cells. *Neuron* 85, 116–130. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.023>
- Tobin, M.K., Musaraca, K., Disouky, A., Shetti, A., Bheri, A., Honer, W.G., Kim, N., Dawe, R.J., Bennett, D.A., Arfanakis, K., Lazarov, O., 2019. Human Hippocampal Neurogenesis Persists in Aged Adults and Alzheimer's Disease Patients. *Cell Stem Cell* 24, 974-982.e3. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.05.003>
- Toda, T., Gage, F.H., 2018. Review: adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell Tissue Res.* 373, 693–709. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2735-4>
- Tong, C.K., Chen, J., Cebrián-Silla, A., Mirzadeh, Z., Obernier, K., Guinto, C.D., Tecott, L.H., García-Verdugo, J.M., Kriegstein, A., Alvarez-Buylla, A., 2014. Axonal Control of the Adult Neural Stem Cell Niche. *Cell Stem Cell* 14, 500–511. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.01.014>

- Torre-Fuentes, L., Moreno-Jiménez, L., Pytel, V., Matías-Guiu, J.A., Gómez-Pinedo, U., Matías-Guiu, J., 2020. Experimental models of demyelination and remyelination. *Neurología (English Edition)* 35, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2019.03.007>
- Tozuka, Y., Fukuda, S., Namba, T., Seki, T., Hisatsune, T., 2005. GABAergic Excitation Promotes Neuronal Differentiation in Adult Hippocampal Progenitor Cells. *Neuron* 47, 803–815. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.08.023>
- Urbán, N., Guillemot, F., 2014. Neurogenesis in the embryonic and adult brain: same regulators, different roles. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8.
- Uv, B., Ma, H., 1998. Comparative analysis of glutamate transporter expression in rat brain using differential double in situ hybridization. *Anatomy and embryology* 198. <https://doi.org/10.1007/s004290050161>
- Valley, M., Mullen, T., Schultz, L., Sagdullaev, B., Firestein, S., 2009. Ablation of mouse adult neurogenesis alters olfactory bulb structure and olfactory fear conditioning. *Frontiers in Neuroscience* 3.
- van der Vlag, J., Otte, A.P., 1999. Transcriptional repression mediated by the human polycomb-group protein EED involves histone deacetylation. *Nat Genet* 23, 474–478. <https://doi.org/10.1038/70602>
- Večeřa, J., Procházková, J., Šumberová, V., Pánská, V., Paculová, H., Lánová, M.K., Mašek, J., Boháčiková, D., Andersson, E.R., Pacherník, J., 2020. Hypoxia/Hif1 α prevents premature neuronal differentiation of neural stem cells through the activation of Hes1. *Stem Cell Research* 45, 101770. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.101770>
- Velasco, M.X., Kosti, A., Guardia, G.D.A., Santos, M.C., Tegge, A., Qiao, M., Correa, B.R.S., Hernández, G., Kokovay, E., Galante, P.A.F., Penalva, L.O.F., 2019. Antagonism between the RNA-binding protein Musashi1 and miR-137 and its potential impact on neurogenesis and glioblastoma development. *RNA* 25, 768–782. <https://doi.org/10.1261/rna.069211.118>
- Veys, C., Benmoussa, A., Contentin, R., Duchemin, A., Brotin, E., Lafont, J.E., Saintigny, Y., Poulain, L., Denoyelle, C., Demoor, M., Legendre, F., Galéra, P., 2021. Tumor Suppressive Role of miR-342-5p in Human Chondrosarcoma Cells and 3D Organoids. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 5590. <https://doi.org/10.3390/ijms22115590>
- Villeda, S.A., Plambeck, K.E., Middeldorp, J., Castellano, J.M., Mosher, K.I., Luo, J., Smith, L.K., Bieri, G., Lin, K., Berdnik, D., Wabl, R., Udeochu, J., Wheatley, E.G., Zou, B., Simmons, D.A., Xie, X.S., Longo, F.M., Wyss-Coray, T., 2014. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice. *Nat Med* 20, 659–663. <https://doi.org/10.1038/nm.3569>
- Viré, E., Brenner, C., Deplus, R., Blanchon, L., Fraga, M., Didelot, C., Morey, L., Van Eynde, A., Bernard, D., Vanderwinden, J.-M., Bollen, M., Esteller, M., Di Croce, L., de Launoit, Y., Fuks, F., 2006. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature* 439, 871–874. <https://doi.org/10.1038/nature04431>

- Visvanathan, J., Lee, S., Lee, B., Lee, J.W., Lee, S.-K., 2007. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev.* 21, 744–749. <https://doi.org/10.1101/gad.1519107>
- Voet, S., Prinz, M., van Loo, G., 2019. Microglia in Central Nervous System Inflammation and Multiple Sclerosis Pathology. *Trends in Molecular Medicine* 25, 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.11.005>
- Vong, K.I., Leung, C.K.Y., Behringer, R.R., Kwan, K.M., 2015. Sox9 is critical for suppression of neurogenesis but not initiation of gliogenesis in the cerebellum. *Mol Brain* 8, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13041-015-0115-0>
- Wang, F., Tidei, J.J., Polich, E.D., Gao, Y., Zhao, H., Perrone-Bizzozero, N.I., Guo, W., Zhao, X., 2015. Positive feedback between RNA-binding protein HuD and transcription factor SATB1 promotes neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, E4995–E5004. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513780112>
- Wang, Y., Li, C., Gong, X., Chen, X., Liu, C., Zhang, H., Li, S., Luo, Y., 2022. Single-Cell Transcriptomics Reveals Splicing Features of Adult Neural Stem Cells in the Subventricular Zone. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10.
- Wang, Y., Liu, J., Huang, B.O., Xu, Y.-M., Li, J., Huang, L.-F., Lin, J., Zhang, J., Min, Q.-H., Yang, W.-M., Wang, X.-Z., 2015. Mechanism of alternative splicing and its regulation. *Biomed Rep* 3, 152–158. <https://doi.org/10.3892/br.2014.407>
- Wergeland, S., Torkildsen, Ø., Myhr, K.-M., Aksnes, L., Mørk, S.J., Bø, L., 2011. Dietary Vitamin D3 Supplements Reduce Demyelination in the Cuprizone Model. *PLOS ONE* 6, e26262. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026262>
- Westerlund, U., Moe, M.C., Varghese, M., Berg-Johnsen, J., Ohlsson, M., Langmoen, I.A., Svensson, M., 2003. Stem cells from the adult human brain develop into functional neurons in culture. *Experimental Cell Research* 289, 378–383. [https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(03\)00291-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(03)00291-X)
- Weyn-Vanhentenryck, S.M., Feng, H., Ustianenko, D., Duffié, R., Yan, Q., Jacko, M., Martinez, J.C., Goodwin, M., Zhang, X., Hengst, U., Lomvardas, S., Swanson, M.S., Zhang, C., 2018. Precise temporal regulation of alternative splicing during neural development. *Nat Commun* 9, 2189. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04559-0>
- Whitham, R.H., Bourdette, D.N., Hashim, G.A., Herndon, R.M., Ilg, R.C., Vandenbark, A.A., Offner, H., 1991. Lymphocytes from SJL/J mice immunized with spinal cord respond selectively to a peptide of proteolipid protein and transfer relapsing demyelinating experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology* 146, 101–107.
- Wichterle, H., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A., 1997. Direct Evidence for Homotypic, Glia-Independent Neuronal Migration. *Neuron* 18, 779–791. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80317-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80317-7)

- Willis, C.M., Nicaise, A.M., Krzak, G., Ionescu, R.-B., Pappa, V., D'Angelo, A., Agarwal, R., Repollés-de-Dalmau, M., Peruzzotti-Jametti, L., Pluchino, S., 2022. Soluble factors influencing the neural stem cell niche in brain physiology, inflammation, and aging. *Experimental Neurology* 355, 114124. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2022.114124>
- Wilson, R.I., 2008. Neural and behavioral mechanisms of olfactory perception. *Current Opinion in Neurobiology, Sensory systems* 18, 408–412. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2008.08.015>
- Wu, H., Coskun, V., Tao, J., Xie, W., Ge, W., Yoshikawa, K., Li, E., Zhang, Y., Sun, Y.E., 2010. Dnmt3a-Dependent Nonpromoter DNA Methylation Facilitates Transcription of Neurogenic Genes. *Science* 329, 444–448. <https://doi.org/10.1126/science.1190485>
- Wu, H., Sun, Y.E., 2006. Epigenetic Regulation of Stem Cell Differentiation. *Pediatr Res* 59, 21–25. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000203565.76028.2a>
- Wu, H.-M., Zhang, L.-F., Ding, P.-S., Liu, Y.-J., Wu, X., Zhou, J.-N., 2014. Microglial activation mediates host neuronal survival induced by neural stem cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 18, 1300–1312. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12281>
- Xiao, J., Yang, R., Biswas, S., Zhu, Y., Qin, X., Zhang, M., Zhai, L., Luo, Y., He, X., Mao, C., Deng, W., 2018a. Neural Stem Cell-Based Regenerative Approaches for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Mol Neurobiol* 55, 3152–3171. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0566-7>
- Xiao, J., Yang, R., Biswas, S., Zhu, Y., Qin, X., Zhang, M., Zhai, L., Luo, Y., He, X., Mao, C., Deng, W., 2018b. Neural Stem Cell-Based Regenerative Approaches for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Mol Neurobiol* 55, 3152–3171. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0566-7>
- Xie, X.P., Laks, D.R., Sun, D., Poran, A., Laughney, A.M., Wang, Z., Sam, J., Belenguer, G., Fariñas, I., Elemento, O., Zhou, X., Parada, L.F., 2020. High-resolution mouse subventricular zone stem-cell niche transcriptome reveals features of lineage, anatomy, and aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117, 31448–31458. <https://doi.org/10.1073/pnas.2014389117>
- Xing, Y.L., Röth, P.T., Stratton, J.A.S., Chuang, B.H.A., Danne, J., Ellis, S.L., Ng, S.W., Kilpatrick, T.J., Merson, T.D., 2014. Adult Neural Precursor Cells from the Subventricular Zone Contribute Significantly to Oligodendrocyte Regeneration and Remyelination. *J. Neurosci.* 34, 14128–14146. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3491-13.2014>
- Yamaguchi, M., Mori, K., 2005. Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 9697–9702. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406082102>
- Yamasaki, R., Lu, H., Butovsky, O., Ohno, N., Rietsch, A.M., Cialic, R., Wu, P.M., Doykan, C.E., Lin, J., Coteleur, A.C., Kidd, G., Zorlu, M.M., Sun, N., Hu, W., Liu, L., Lee, J.-C., Taylor, S.E., Uehlein, L., Dixon, D., Gu, J., Floruta, C.M., Zhu, M., Charo, I.F., Weiner, H.L., Ransohoff, R.M., 2014. Differential roles of microglia and monocytes in the inflamed central nervous system. *Journal of Experimental Medicine* 211, 1533–1549. <https://doi.org/10.1084/jem.20132477>

- Yang, X., Guo, F., 2019. miR-342-3p suppresses cell migration and invasion in preeclampsia by targeting platelet-derived growth factor receptor α . *Molecular Medicine Reports* 20, 1772–1780. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10372>
- Yano, M., Hayakawa-Yano, Y., Mele, A., Darnell, R.B., 2010a. Nova2 regulates neuronal migration through an RNA switch in disabled-1 signaling. *Neuron* 66, 848–858. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.05.007>
- Yano, M., Hayakawa-Yano, Y., Mele, A., Darnell, R.B., 2010. Nova2 Regulates Neuronal Migration through an RNA Switch in Disabled-1 Signaling. *Neuron* 66, 848–858. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.05.007>
- Yano, M., Hayakawa-Yano, Y., Okano, H., 2016a. RNA regulation went wrong in neurodevelopmental disorders: The example of Msi/Elavl RNA binding proteins. *Int J Dev Neurosci* 55, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.01.002>
- Yao, J., Dai, Y., Liu, Z., Hu, W., Wan, Y., 2022. miR-342-3p Suppresses glioblastoma development via targeting CDK6. *Acta Biochimica Polonica* 69, 393–397. https://doi.org/10.18388/abp.2020_5830
- Yoon, Y., Kim, H.S., Jeon, I., Noh, J.-E., Park, H.J., Lee, S., Park, I.-H., Stevanato, L., Hicks, C., Corteling, R., Barker, R.A., Sinden, J.D., Song, J., 2020. Implantation of the clinical-grade human neural stem cell line, CTX0E03, rescues the behavioral and pathological deficits in the quinolinic acid-lesioned rodent model of Huntington's disease. *STEM CELLS* 38, 936–947. <https://doi.org/10.1002/stem.3191>
- Young, S., Lafourcade, C., Platel, J., Lin, T., Bordey, A., 2014. GABAergic striatal neurons project dendrites and axons into the postnatal subventricular zone leading to calcium activity. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8.
- Young, S., Platel, J.-C., Nielsen, J., Jensen, N., Bordey, A., 2010. GABAA increases calcium in subventricular zone astrocyte-like cells through L- and T-type voltage-gated calcium channels. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 4.
- Young, S.Z., Taylor, M.M., Wu, S., Ikeda-Matsuo, Y., Kubera, C., Bordey, A., 2012. NKCC1 Knockdown Decreases Neuron Production through GABAA-Regulated Neural Progenitor Proliferation and Delays Dendrite Development. *J. Neurosci.* 32, 13630–13638. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2864-12.2012>
- Yu, S., Zhou, Y., Niu, L., Qiao, Y., Yan, Y., 2022. Mesenchymal stem cell-derived exosome mir-342-3p inhibits metastasis and chemo-resistance of breast cancer through regulating ID4. *Genes Genom* 44, 539–550. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01200-1>
- Zappaterra, M.W., Lehtinen, M.K., 2012. The cerebrospinal fluid: regulator of neurogenesis, behavior, and beyond. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 2863–2878. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-0957-x>

- Zhang, H., Kolb, F.A., Jaskiewicz, L., Westhof, E., Filipowicz, W., 2004. Single Processing Center Models for Human Dicer and Bacterial RNase III. *Cell* 118, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.06.017>
- Zhang, J., Giesert, F., Kloos, K., Vogt Weisenhorn, D.M., Aigner, L., Wurst, W., Couillard-Despres, S., 2010. A powerful transgenic tool for fate mapping and functional analysis of newly generated neurons. *BMC Neurosci* 11, 158. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-158>
- Zhang, K., Zhao, T., Huang, X., Wu, L., Wu, K., Zhu, L., Fan, M., 2014. Notch1 mediates postnatal neurogenesis in hippocampus enhanced by intermittent hypoxia. *Neurobiology of Disease* 64, 66–78. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.12.010>
- Zhao, C., Deng, W., Gage, F.H., 2008. Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell* 132, 645–660. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.033>
- Zhao, C., Sun, G., Li, S., Lang, M.-F., Yang, S., Li, W., Shi, Y., 2010. MicroRNA let-7b regulates neural stem cell proliferation and differentiation by targeting nuclear receptor TLX signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 1876–1881. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908750107>
- Zhao, C., Sun, G., Li, S., Shi, Y., 2009. A feedback regulatory loop involving microRNA-9 and nuclear receptor TLX in neural stem cell fate determination. *Nat Struct Mol Biol* 16, 365–371. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1576>
- Zhao, M., Momma, S., Delfani, K., Carlén, M., Cassidy, R.M., Johansson, C.B., Brismar, H., Shupliakov, O., Frisén, J., Janson, A.M., 2003. Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 7925–7930. <https://doi.org/10.1073/pnas.1131955100>
- Zhao, Z., Zlokovic, B.V., 2017. Remote control of BBB: A tale of exosomes and microRNA. *Cell Res* 27, 849–850. <https://doi.org/10.1038/cr.2017.71>
- Zheng, W., Nowakowski, R.S., Vaccarino, F.M., 2004. Fibroblast Growth Factor 2 Is Required for Maintaining the Neural Stem Cell Pool in the Mouse Brain Subventricular Zone. *DNE* 26, 181–196. <https://doi.org/10.1159/000082136>
- Zhou, B., Zhu, Z., Ransom, B.R., Tong, X., 2021. Oligodendrocyte lineage cells and depression. *Mol Psychiatry* 26, 103–117. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-00930-0>
- Zhou, J., Zheng, X., Shen, H., 2012. Targeting RNA-Splicing for SMA Treatment. *Mol Cells* 33, 223–228. <https://doi.org/10.1007/s10059-012-0005-6>
- Zhu, C., Mahesula, S., Temple, S., Kokovay, E., 2019. Heterogeneous Expression of SDF1 Retains Actively Proliferating Neural Progenitors in the Capillary Compartment of the Niche. *Stem Cell Reports* 12, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.11.022>
- Zhu, Q., Zhao, X., Zheng, K., Li, H., Huang, H., Zhang, Z., Mastracci, T., Wegner, M., Chen, Y., Sussel, L., Qiu, M., 2014. Genetic evidence that Nkx2.2 and Pdgfra are major determinants of the timing of oligodendrocyte differentiation in the developing CNS. *Development* 141, 548–555. <https://doi.org/10.1242/dev.095323>

Zhu, W., Zhou, B., Rong, L., Ye, L., Xu, H., Zhou, Y., Yan, X., Liu, W., Zhu, B., Wang, L., Jiang, X., Ren, C., 2020. Roles of PTBP1 in alternative splicing, glycolysis, and oncogenesis. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 21, 122–136. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900422>

Zywitzka, V., Misios, A., Bunatyan, L., Willnow, T.E., Rajewsky, N., 2018. Single-Cell Transcriptomics Characterizes Cell Types in the Subventricular Zone and Uncovers Molecular Defects Impairing Adult Neurogenesis. *Cell Rep* 25, 2457-2469.e8. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.003>

Table des matières

Remerciements	5
Liste des abréviations	9
Chapitre I : la neurogenèse adulte	12
I.1. Perspective historique	12
I.1.a. Premières démonstrations	12
I.1.b. Une difficile reconnaissance	13
I.2. Neurogenèse adulte	15
I.2.a. Les foyers de neurogenèse	15
I.2.c. Définition des cellules souches	15
I.2.d. Origines embryonnaires des CSN	17
I.2.e. La neurogenèse hippocampique	20
I.2.f. Implications fonctionnelles de la neurogenèse	21
I.3. Les progéniteurs subventriculaires	23
I.3.a. Etapes de la neurogenèse sous-ventriculaire	23
I.3.b. Organisation de la ZSV	25
I.3.c. La grande migration	27
I.3.d. Hétérogénéité spatiale et microdomaines	28
I.3.e. L'oligodendrogenèse subventriculaire	31
I.4. Mécanismes moléculaires de la neurogenèse	32
I.4.a. Les marqueurs des populations	32
I.4.b. Des populations hétérogènes à l'échelle transcriptomique	34
I.4.c. Les principaux facteurs de transcription	36
I.4.d. Contrôles transcriptionnels : les modifications épigénétiques	37
I.4.e. Contrôles post-transcriptionnels	39
I.4.f. Hypoxie	40
Chapitre II: Régulations de la neurogenèse subventriculaire	41
II.1. Les signalisations locales : régulations paracrines	42
II.1.a. Signalisation calcique entre les CSN	42
II.1.b. La signalisation GABAergique	43
II.1.c. La signalisation Notch	43
II.2. Les signaux endocrines	45
II.2.a. Signaux sanguins	45
II.2.b. Les fractones	46

II.2.c. La signalisation BMP	47
II.2.d. La signalisation Sonic Hedgehog	48
II.2.e. Le flux du LCR	49
II.2.f. Signalisations nerveuses	50
Chapitre III : microARNs et neurogenèse	51
III.1. Biogenèse des miRNA	51
III.2. Les miRs et les gènes Sox	52
III.3. miRNAs régulant la balance quiescence/prolifération	54
II.5.c. Différenciation neuronale	55
Chapitre III : Potentiel thérapeutique de la neurogenèse	57
IV.1. Potentiel oligodendrogénique des progéniteurs neuraux	57
IV.1.a. Le lignage oligodendrocytaire	57
IV.1.b. Oligodendrogenèse physiologique	57
IV.2. Progéniteurs subventriculaires et remyélinisation	59
IV.2.a. Modèles de lésions démyélinisantes	59
IV.2.b. Implication des progéniteurs neuraux dans la remyélinisation	61
IV.2.d Inflammation subventriculaire	62
IV.3. Neurogenèse dans le cerveau âgé	63
IV.3.a. Vieillessement de la niche neurogénique	63
IV.3.b. Neurogenèse dans le cerveau humain âgé	65
IV.3.c. Mobilisation thérapeutique des progéniteurs neuraux	66
Objectifs	67
Article	69
Résultats complémentaires	112
Partie I : Réorientation des neuroblastes immatures en culture	112
Introduction	112
Résultats	113
Les NBi ne sont pas engagés dans la différenciation	113
L'hypoxie physiologique conserve la plasticité des NBi	115
La culture en hypoxie physiologique réoriente les progéniteurs neuraux vers un phénotype de précurseurs oligodendrocytaire	120
Les NBi réorientés colonisent le CC <i>in vivo</i>	124
Les NBi Dcx+ cultivés sont aussi réorientés en culture en hypoxie physiologique	127
Matériel et méthodes	130

Animaux et isolation des progéniteurs neuraux _____	130
Culture et différenciation des progéniteurs neuraux _____	130
Mesures d'ARN _____	131
Immunofluorescence _____	132
Partie 2 : Rôle du miR-342-3p dans la régulation de la neurogenèse _____	133
Introduction _____	133
Résultats _____	134
Le miR-342-3p inhibe des gènes de prolifération et de différenciation oligodendrocytaire _____	134
L'inhibition de l'activité miR-342-3p favorise la différenciation oligodendrocytaire et inhibe la différenciation neuronale _____	139
Matériel et méthodes _____	140
Culture et différenciation des progéniteurs neuraux _____	140
Transfection et transduction des progéniteurs neuraux cultivés _____	141
Immunofluorescence _____	141
Discussion _____	142
Hétérogénéité des NBi _____	142
Caractérisation du cycle cellulaire à l'échelle de la cellule unique _____	145
Influence du microenvironnement sur la progression vers la différenciation _____	146
Rôle des protéines d'épissage dans la neurogenèse _____	147
Potentiel de régénération <i>in vivo</i> _____	148
DCX et progéniteurs neuraux _____	150
Influence de la culture sur le potentiel des NBi _____	152
Réorientation des NBi en culture _____	152
Influence de la culture sur la plasticité des NBi _____	153
Rôle du miR-342 dans la neurogenèse _____	155
Conclusion et perspectives _____	157
Caractérisation des NBi D2 _____	157
Intérêt thérapeutique des progéniteurs subventriculaires _____	158
miR-342-3p _____	160
Bibliographie _____	162
Résumé _____	207
Abstract _____	207

Résumé : Potentiel thérapeutique des neuroblastes immatures de la zone sous-ventriculaire murine adulte

Chez les mammifères, la production de nouveaux neurones continue à l'âge adulte grâce à la persistance de cellules souches neurales (CSN) dans des niches neurogéniques, qui sont capables de produire les trois types cellulaires du lignage neural : astrocytes, oligodendrocytes et neurones. Physiologiquement, les CSN de la zone sous-ventriculaire (ZSV) peuvent proliférer pour produire des neuroblastes qui migrent vers le bulbe olfactif où ils formeront de nouveaux neurones fonctionnels. Dans cette thèse, un modèle génétique de souris permettant de suivre les neuroblastes et leur progénie a permis de caractériser une nouvelle sous-population abondante de progéniteurs neuronaux, les neuroblastes immatures (NBI), qui présentent des marqueurs de la différenciation neuronale, mais conservent leurs capacités prolifératives et leur plasticité, contrairement aux neuroblastes matures. Puis, la combinaison d'une analyse du transcriptome des populations neurogéniques avec le séquençage ARN des cellules individuelles de la ZSV a permis de mettre en lumière l'identité et l'hétérogénéité des différentes populations neurogéniques, fournissant des marqueurs spécifiques à chacune d'entre elles. Il en ressort un modèle alternatif de la neurogenèse précisant les étapes de l'engagement vers un destin neuronal. Dans l'ensemble, ces travaux mettent en lumière donc une population de NBI multipotente et abondante, dont la plasticité pourrait être exploitée en contexte thérapeutique dans le cadre d'atteintes neurodégénératives.

Par la suite, un micro-ARN régulateur de l'engagement vers le lignage neuronal, le miR-342-3p, a été identifié. *In vitro*, le miR-342-p a un effet de levier promouvant la différenciation neuronale et inhibant la différenciation oligodendrocytaire. A l'inverse, son inhibition inhibe la différenciation neuronale et favorise la différenciation oligodendrocytaire. Sa modulation dans un cadre thérapeutique pourrait donc orienter le destin des progéniteurs neuronaux pour stimuler la régénération des tissus dans le cadre de pathologies neurodégénératives ou démyélinisantes.

Mots-clés : neurogenèse adulte, oligodendrogenèse, micro-ARNs, cellules souches neurales.

Abstract: Therapeutic potential of immature neuroblasts from the adult mouse subventricular zone

In mammals, the production of new neurons throughout adulthood continues through the persistence of neural stem cells (NSC) in neurogenic niches that are able to produce the three cell types of the neural lineage: astrocytes, oligodendrocytes, and neurons. Physiologically, NSC from the mouse subventricular zone (SVZ) can proliferate and produce neuroblasts that migrate towards the olfactory bulb and produce new, functional neurons. In this thesis, a genetic murine model allowing the tracking of neuroblasts and their progeny was used to characterize a new abundant sub-population of neural progenitors, the immature neuroblasts (iNB), that exhibit markers of cells committed to a neuronal fate, but retain proliferative abilities and multipotency, conversely to mature neuroblasts. Then, a combination of bulk-transcriptomic analysis of the progenitor populations with large-scale RNA-seq of individual SVZ cells highlighted the identity and heterogeneity of the neurogenic populations, and provided markers specific to each of them. This offers an alternative model of neurogenesis detailing the steps of neuronal fate commitment. Overall, this research highlights a population of abundant, multipotent iNB and offers an alternative model for the dynamics of neurogenic populations and their commitment to a neuronal fate whose plasticity could be harnessed in a therapeutic context for the treatment of neurodegenerative diseases.

Subsequent experiments identified a micro-RNA regulating the commitment to the neuronal lineage, miR-342-3p. It acted as a switch *in vitro*, promoting neuronal differentiation and inhibiting oligodendroglial differentiation. Conversely, inhibition of miR-342-3p resulted in inhibited neuronal differentiation and favored oligodendroglial differentiation. Its modulation in a therapeutic context might therefore orient neural progenitors to stimulate tissue regeneration in neurodegenerative or demyelinating diseases.

Key words: Adult neurogenesis, oligodendrogenesis, micro-RNAs, neural stem cells.