



**HAL**  
open science

# Implication du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la remyélinisation par la testostérone

Narimène Asbelaoui

► **To cite this version:**

Narimène Asbelaoui. Implication du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la remyélinisation par la testostérone. Neurobiologie. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPASL063 . tel-04763444

**HAL Id: tel-04763444**

**<https://theses.hal.science/tel-04763444v1>**

Submitted on 2 Nov 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.

# Implication du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la remyélinisation par la testostérone

## Involvement of the chemokine receptor CXCR4 in remyelination by testosterone

**Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay**

ED 568 : Signalisations et réseaux intégratifs en biologie (BIOSIGNE)

Spécialité de doctorat : Sciences de la vie et santé

Graduate School • Sciences de la vie et santé. Référent : Faculté de médecine

Thèse préparée dans l'unité de recherche Maladies et Hormones du Système Nerveux (Université Paris Saclay, INSERM), sous la direction de **Abdelmoumen GHOUARI**, Maître de conférences universitaire

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 25 octobre 2022, par

**Narimène ASBELAOUI**

### Composition du Jury

<b>Marc DHENAIN</b> Directeur de recherche, CNRS	Président
<b>Lamia BOUSLAMA-OUEGLANI</b> Maître de conférences HDR, ICM	Rapporteur et examinatrice
<b>Angélique LEVOYE</b> Maître de conférences HDR, PARCC	Rapporteur et examinatrice
<b>Mehrnaz JAFARIAN-TEHRANI</b> Professeur, UMRS 1124	Examinatrice
<b>Géraldine SCHLECHT-LOUF</b> Professeur, UMR 996	Examinatrice
<b>Abdelmoumen GHOUARI</b> Maître de conférences HDR, U1195	Directeur de thèse

**Titre :** Implication du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la remyélinisation par la testostérone

**Mots clés :** Testostérone, récepteurs des androgènes AR, CXCR4, myéline, astrocyte

**Résumé :** Chez les hommes atteints de sclérose en plaques (SEP), une maladie démyélinisante affectant le système nerveux central, des niveaux réduits de testostérone (T) sont associés à la progression de la maladie, à une déficience neurologique et à une atrophie cérébrale. Nous montrons ici une coopération synergique entre la T et le récepteur de chimiokine CXCR4 dans la régénération de la myéline après une démyélinisation focale induite par la lysolécithine dans la moelle épinière ventrale de la souris. La migration dépendante de la T des astrocytes exprimant CXCR4, son ligand CXCL12 et le récepteur des androgènes dans la zone de démyélinisation était une condition préalable à la réparation de la myéline par les oligodendrocytes.

L'inhibition pharmacologique ou l'ablation conditionnelle du CXCR4 astrocytaire a empêché les effets de la T sur la migration des astrocytes et la remyélinisation. La présence d'astrocytes au sein de la lésion démyélinisée s'est également opposée à l'incursion des cellules de Schwann. Chez les patients atteints de SEP progressive, les astrocytes exprimant CXCR4 et AR (Androgen Receptor) entouraient les lésions de myéline, et leur présence était exclusive pour les cellules de Schwann. Ces résultats soulignent l'importance de la normalisation de la testostérone dans le cadre des thérapies combinées de remyélinisation

**Title :** Involvement of the chemokine receptor CXCR4 in remyelination by testosterone

**Keywords :** Testosterone, androgen receptor (AR), CXCR4, myelin, astrocyte

**Abstract :** In men with multiple sclerosis (MS), a demyelinating disorder affecting the central nervous system, reduced levels of testosterone (T) are associated with disease progression, neurological impairment and brain atrophy. Here, we show a synergistic cooperation between T and the chemokine receptor CXCR4 in myelin regeneration after focal lysolecithin-induced demyelination of the mouse ventral spinal cord. The T-dependent migration of astrocytes expressing CXCR4, its ligand CXCL12 and the androgen receptor into the area of demyelination was a prerequisite for myelin repair

by oligodendrocytes. Pharmacological inhibition or conditional ablation of astrocytic CXCR4 prevented the effects of T on astrocyte migration and remyelination. The presence of astrocytes within the demyelinated lesion also opposed the incursion of Schwann cells. In patients with progressive MS, astrocytes expressing CXCR4 and AR surrounded myelin lesions, and their presence was exclusive for Schwann cells. These findings highlight the importance of testosterone normalization as part of remyelinating combination therapies.

*Je souhaite dédier cette thèse à ma mère, partie trop tôt j'espère que d'en haut elle sera fière de moi.*

## Remerciements

Je remercie le Docteur **Marc DENAIN** d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Je désire également remercier le Dr. Lamia **BOUSLAMA-OUEGHLANI** ainsi que le Dr. **Angélique LEVOYE** d'avoir accepté d'être rapporteurs de mes travaux de thèse et pour l'attention et le temps qu'ils ont accordé à juger ce manuscrit. Je remercie aussi les Professeurs **Mehrnaz JAFARIAN-TEHRANI** et **Géraldine SCHLECHT-LOUF** d'avoir accepté de siéger dans ce jury.

Je souhaite remercier le Dr Schumacher de m'avoir accueilli dans son laboratoire ainsi que pour toutes les réunions scientifiques très enrichissantes et pour la transmission de son savoir.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon directeur de thèse le Dr **Abdel GHOUARI** pour m'avoir donné ma chance en master 2 et d'avoir accepté de m'ouvrir les portes pour cette aventure incroyable que représente la thèse. Tout au long de ces années, le Dr **Abdel GHOUARI** m'a énormément appris, transmis son savoir et m'a constamment boosté pour donner le meilleur de moi-même. Je souhaite le remercier pour sa patience, sa disponibilité (même en vacances) et sa pédagogie. D'un point de vue personnel, il m'est indispensable de souligner que ce fut très agréable de pouvoir d'échanger avec lui au quotidien. Je voudrais aussi lui exprimer mon profond respect et ma reconnaissance. Je finis par le tutoyer parce qu'il m'a souvent reproché de ne pas le faire : Merci pour tout ce que tu m'as appris, je te souhaite sincèrement de continuer à exceller scientifiquement !

Parce que la thèse est aussi une aventure humaine, je souhaite remercier **Nathalie Bâ**, qui m'a appris les techniques de coupe au microtome et qui est incontestablement ma plus belle rencontre du laboratoire ! tu es une femme extraordinaire qui m'a tellement soutenu émotionnellement tout au long de ces années et qui est devenue une vraie amie. Je ne trouve pas les mots pour t'exprimer ma gratitude pour tout ce que tu m'as apporté, dans les mauvais moments comme dans les meilleurs ! Je n'oublierai jamais tous nos fous rires « in the office » !!! Les imitations drôles entre deux manips qui nous ont menées à pleurer de rire sont gravées dans ma mémoire !!!! Merci du fond du cœur !

Je remercie aussi ma meilleure amie **Haoussa ASKIA** qui est ma deuxième sœur, je suis très fière de voir notre parcours depuis les bancs de la fac à aujourd'hui. Nous avons toujours été là l'une pour l'autre tout au long de ces années d'amitiés à se motiver et à se soutenir dans toutes les épreuves. Je n'oublierai jamais que nous avons partagé nos deux thèses ensemble surtout pour l'écriture du manuscrit où nous n'avons passé des soirées à écrire jusqu'à 4h du matin ! Félicitation encore pour ta thèse, je partage encore cette joie et cette fierté ! Tu es la sœur que je n'ai jamais eue, je serai toujours là quoi qu'il puisse se passer.

Je souhaite remercier **Karim**, qui a su me soutenir pendant cette thèse ou je n'ai pas toujours été très facile ! Merci d'avoir pris soin de moi, pour me faciliter le quotidien au maximum ! Tu as toujours été là dans les moments de doutes comme dans les moments de joie, tout en exprimant ton profond respect pour mon travail. Tu as été un véritable pilier et as contribué grandement à mon équilibre émotionnel. Je tiens fortement à te remercier pour ne pas m'avoir pris pour une folle lorsque je somnambulais de la myéline !!! Je suis à la fois fière, heureuse, et honorée d'avoir pu partager ma thèse à tes côtés. Merci infiniment pour tout ce que tu m'as apporté et pour ton soutien indéfectible, je t'en serai à jamais reconnaissante !

Je souhaite remercier toutes les personnes que j'ai pu rencontrer dans ce laboratoire et avec qui j'ai partagé de très bons moments : Omar Dounane, Abdelmoumen Kassoussi, Amina Zahaf, Neike Fernandez, Adil EL MESSAOUDI, Rachida Guennoun, Wassila Khelifi, Julien Giustiniani, Corentin Daguinot et Marie CAILLAUD.

Mes derniers remerciements vont à ma famille, mon père et mon frère. Merci pour votre soutien indéfectible ! Merci de m'avoir encouragée et d'avoir toujours cru en moi ! Je suis fière de notre parcours malgré les épreuves, nous avons su garder la tête haute et nous avons tous les trois accomplis nos objectifs de vies et en étant toujours soudés ! Je souhaite particulièrement exprimer ma fierté quant à l'homme que mon petit frère est devenu, tu es voué à faire de grandes choses, je suis extrêmement fière de toi ! Je vous aime infiniment !

# Table des matières

## INTRODUCTION

I.	Les hormones stéroïdiennes.....	1
A.	Stéroïdogénèse .....	1
B.	Neurostéroïdes .....	5
C.	L'hormone sexuelle mâle : la testostérone .....	7
1.	Synthèse et régulation de la testostérone .....	7
2.	Mode d'action du récepteur des androgènes .....	12
3.	Cofacteurs transcriptionnels du AR .....	19
4.	Expression du AR dans les cellules neurales .....	22
5.	Implication du récepteur des androgènes et de son ligand dans certaines pathologies.....	23
II.	Les cellules gliales et la myéline .....	24
A.	Les cellules gliales du système nerveux central .....	24
1.	La microglie .....	25
2.	Astrocytes .....	28
3.	Les oligodendrocytes : cellules myélinisantes.....	35
B.	Les cellules gliales périphériques : Les cellules de Schwann.....	41
1.	Développement et fonction des cellules de Schwann .....	41
2.	Remyélinisation des cellules de Schwann dans le SNC.....	43
C.	Structure et fonction de la myéline.....	44
1.	Structure de la myéline.....	44
2.	Les protéines de la myéline.....	48
3.	Régulation de la myélinisation .....	51
D.	La sclérose en plaque (SEP).....	53
1.	Les formes de la SEP .....	55
2.	Les caractéristiques des lésions de la SEP .....	56
3.	Traitements de la SEP .....	59
E.	Modèles de démyélinisation.....	60
1.	L'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE) .....	60
2.	Démyélinisation chronique d'origine virale .....	60
F.	La remyélinisation .....	62
1.	Origine des OL remyélinisants.....	62
2.	Activation, recrutement et différenciation des OPC lors de la remyélinisation .....	64
3.	Rôle clé de l'inflammation .....	66
4.	Le Vieillessement, facteur d'échec de la remyélinisation .....	66
5.	Nouvelles Approches de thérapies de remyélinisation .....	67
6.	Remyélinisation : rôles des androgènes.....	68
III.	Les chimiokines et leurs récepteurs.....	70
A.	Structure des chimiokines.....	70
B.	Rôle des chimiokines .....	71
C.	Le ligand CXCL12 .....	72
1.	Identification .....	72
2.	Expression .....	73
3.	Régulation.....	73
D.	Les récepteurs de chimiokines : structure et régulation .....	74
E.	Le récepteur de chimiokine CXCR4.....	77
1.	Identification .....	77

2.	Structure .....	77
3.	Expression et régulation .....	77
F.	Le récepteur atypique (ACKR3: CXCR7) .....	79
IV.	Liaison de la chimiokine CXCL12 à son récepteur CXCR4.....	80
A.	Rôle physiologique de l'interaction entre CXCL12 et CXCR4.....	81
B.	Signalisation du récepteur de chimiokine CXCR4.....	82
1.	Protéine G dépendant .....	82
2.	Protéine G indépendant.....	83
V.	Modulation de l'activité du CXCR4.....	84
A.	Protéolyse du récepteur CXCR4 et de son ligand .....	84
B.	Modifications post-traductionnelles (glycosylation, sulfatation, phosphorylation).....	85
1.	Glycosylation .....	85
2.	Sulfatation.....	85
3.	Phosphorylation .....	85
4.	Internalisation et dégradation du CXCR4.....	86
C.	Inhibiteurs du CXCR4 .....	89
1.	Antagoniste de du CXCR4.....	89
2.	Antagonistes peptiques .....	90
3.	Anticorps ciblant CXCR4.....	90
VI.	Implication de l'axe CXCL12/CXCR4 dans différentes pathologies.....	91
A.	Infection par le virus VIH.....	91
B.	Syndrome de WHIM .....	92
C.	Implication dans les cancers .....	92
D.	Maladies neurodégénératives : Alzheimer et SEP.....	94
1.	Implication du CXCR4 dans la maladie d'Alzheimer .....	94
2.	Implication du CXCR4 dans la SEP .....	97
VII.	Objectifs de la thèse .....	100
VIII.	Matériel & méthodes supplémentaires .....	139
IX.	Résultats supplémentaires .....	140
X.	Discussion .....	148



## TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1 : INTERNALISATION DU CHOLESTÉROL DANS LA MITOCHONDRIE.....	2
FIGURE 2 : LA STÉROÏDOGENÈSE.....	4
FIGURE 3 : BIOSYNTHÈSE DES HORMONES STÉROÏDIENNES.....	9
FIGURE 4 : BIOSYNTHÈSE ET MÉTABOLISME DE LA TESTOSTÉRONE.....	10
FIGURE 5 : AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-GONADIQUE.....	11
FIGURE 6 : STRUCTURE MOLÉCULAIRE DU GÈNE ET DE LA PROTÉINE DU RÉCEPTEUR DES ANDROGÈNES (AR).....	13
FIGURE 7 : STRUCTURE CRYSTALLINE DE LA RÉGION DBD DU RÉCEPTEUR DES ANDROGÈNES.....	15
FIGURE 8 : STRUCTURE CRISTALLOGRAPHIQUE DU DOMAINE DE LIAISON AU LIGAND (LBD) DU AR LORS DE SA LIAISON AVEC LA DIHYDROTESTOSTÉRONE (DHT).....	16
FIGURE 9 : MODÈLE DES INTERACTIONS N/C ET DES CORÉGULATEURS DU RÉCEPTEUR AUX ANDROGÈNES.....	17
FIGURE 10 : SIGNALISATION GÉNOMIQUE DU RÉCEPTEUR AUX ANDROGÈNES.....	18
FIGURE 11 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA TRANSACTIVATION DU RÉCEPTEUR DES ANDROGÈNES DÉPENDANTE ET INDÉPENDANTE DU LIGAND.....	19
FIGURE 12 : ACTIVATION ET RÉPRESSION DE L'EXPRESSION DES GÈNES PAR LE AR.....	20
FIGURE 13 : RÉGULATION DE LA TRANSCRIPTION DU RÉCEPTEUR DES ANDROGÈNES VIA LE RECRUTEMENT DES COACTIVATEURS ET DES CORÉPRESSEURS.....	21
FIGURE 14 : SCHÉMAS MONTRANT LA GLIOGENÈSE DANS LES ZONES PROGÉNITRICES EMBRYONNAIRES ET ADULTES.....	25
FIGURE 15 : LA MICROGLIE INDUIT ET PARTICIPE À LA RÉPONSE DES MALADIES DU SNC.....	27
FIGURE 16 : DIFFÉRENTES CLASSES D'ASTROCYTES DANS LE CERVEAU HUMAIN.....	29
FIGURE 17 : MÉCANISME DE TRANSFORMATION DU GLUCOSE PAR LES ASTROCYTES.....	30
FIGURE 18 : RÔLES DES ASTROCYTES DANS L'INFLAMMATION DU SNC.....	33
FIGURE 19 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DU DÉVELOPPEMENT DES OLIGODENDROCYTES (OL) ET DES FACTEURS DE TRANSCRIPTION QUI CONTRIBUENT À LEUR PROGRESSION.....	36
FIGURE 20 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES ZONES D'ÉMERGENCES DES CELLULES PROGÉNITRICES D'OLIGODENDROCYTES (OPC) AU COURS DU DÉVELOPPEMENT.....	38
FIGURE 21 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES MARQUEURS DE LA LIGNÉE OLIGODENDROGLIALE SPÉCIFIQUES DES DIFFÉRENTS STADES DE DÉVELOPPEMENT À PARTIR DES CELLULES PROGÉNITRICES NEURONALES (NPC) JUSQU'ÀUX OLIGODENDROCYTES MÉLINISANTES.....	40
FIGURE 22 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA MATURATION DES CELLULES DE SCHWANN À PARTIR DE LA CRÊTE NEURALE.....	42
FIGURE 23 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA MYÉLINISATION DANS LE SNC.....	45
FIGURE 24 : ILLUSTRATION SCHÉMATIQUE DE LA STRUCTURE DE LA MYÉLINE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL.....	47
FIGURE 25 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE LA RÉPARTITION LIPIDIQUE ET PROTÉIQUES DE LA GAINE DE MYÉLINE.....	48
FIGURE 26 : REPRÉSENTATION DE LA PRÉVALENCE DE LA MALADIE DE LA SCLÉROSE EN PLAQUE À TRAVERS LE MONDE.....	54
FIGURE 27 : DIFFÉRENTES FORMES DE SEP. AUGMENTATION DU HANDICAP À TRAVERS LE TEMPS.....	56
FIGURE 28 : VUE D'ENSEMBLE DES LÉSIONS DE LA SEP ET DE LEURS ACTIVITÉS.....	58
FIGURE 29 : PROCESSUS DE RECRUTEMENT ET DE MATURATION DES OPC LORS DE LA DÉMYÉLINISATION.....	64
FIGURE 30 : STRUCTURE DES CHIMIOKINES REPRÉSENTÉS SELON LES CLASSES.....	70
FIGURE 31 : STRUCTURE TRI-DIMENSIONNELLE DES CHIMIOKINES.....	71
FIGURE 32 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DE L'INTERACTION ENTRE LES RÉCEPTEURS DE CHIMIOKINES ET LEURS LIGANDS, DES MOLÉCULES DE SURFACE CELLULAIRES SÉCRÉTÉES AINSI QUE DES MOLÉCULES DE SÉCRÉTIONS PAR DES AGENTS PATHOGÈNES CHEZ LES MAMMIFÈRES.....	75
FIGURE 33 : STRUCTURE DU RÉCEPTEUR À SEPT DOMAINES TRANSMEMBRANAIRE CXCR4.....	76
FIGURE 34 : CASCADE DE SIGNALISATION DU RÉCEPTEUR DE CHIMIOKINE CXCR4.....	84
FIGURE 35 : SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA RÉGULATION DU TRAFIC U CXCR4 PAR LES GRKS ET LES ARRESTINES.....	88
FIGURE 36 : STRUCTURE MOLÉCULAIRE DE L'AMD3100.....	89
FIGURE 37 : EFFET DE LA DIMINUTION DU CXCR4 SUR LE CROSSTALK DE LA MICROGLIE ET DES ASTROCYTES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	96
FIGURE 38 : ÉTUDE DES COMPOSANTS MYÉLINIQUES DES SOURIS CXCR4+/1013.....	140

FIGURE 39: ANALYSES DE L'EXPRESSION DES GÈNES ASSOCIÉES AUX COMPOSANTS MYÉLINIQUES PAR RT-QPCR DES SOURIS CXCR4 <sup>+/1013</sup> .....	141
FIGURE 40: RÔLE DE LA MICROGLIE (CELLULES IBA1+) DANS LA REMYÉLINISATION PAR LA TESTOSTÉRONE APRÈS LÉSION DE LA MOELLE ÉPINIÈRE INDUITE PAR LA LPC. ....	142
FIGURE 41 : REMYÉLINISATION SPONTANÉE CHEZ LES SOURIS FEMELLES NON OVARIETOMISÉES (NON OVX) .....	144
FIGURE 42: LA REMYÉLINISATION PAR L'OESTRADIOL CHEZ LES SOURIS MÂLES ET FEMELLES N'IMPLIQUE PAS LE RECEPTEUR DE CHIMIOKINE CXCR4 .....	146

## Liste des abréviations

17 $\beta$ -HSD	17 $\beta$ -hydroxystéroïdes déshydrogénases
3 $\beta$ -HSD	3 $\beta$ -hydroxystéroïdes déshydrogénases
5 $\alpha$ -DHT	5 $\alpha$ -dihydrotestostérone
5 $\alpha$ -DHP	5 $\alpha$ -dihydroprogesterone
ACKR	Atypical Chemokine Receptor
ACTH	Hormone adrénocorticotrope
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine diphosphate
AF-1	Activation function-1
AIP	Aryl hydrocarbon receptor Interacting Protein
AnkG	Ankyrine-G
ANS	Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle
ANT	Adeninenucleotide transporter
APC	Adenomatous polyposis coli
APOE	Apolipoprotéine E
AR	Récepteur des androgènes
ARE	Elément de réponses aux androgènes
ARG-1	Arginase-1
ARN	Acide RiboNucléique
ATP	Adénosine triphosphate
A $\beta$	Peptide amyloïde bêta
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BMP	Bone morphogenetic protein
CA1/2	Cornu Ammonis 1/2
CAF	Cellules fibroblastes humains associés au cancer
CEC	Carcinome épidermoïde
CISK	Cytokine-independent survival kinase
CMH	Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe
CNP	2'3'-cyclic nuclotide phosphohydrolase
CPZ	Cuprizone
CREB	C-AMP Response Element-binding protein
CS	Cellules de Schwann
CSN	Cellules souches neurales
CYP	Cytochrome P
DAG	Diacylglycérol
DAMP	Damage-associated molecular pattern
DHEA	Déhydroépiandrostérone
DHT	Dihydrotestostérone
DIS	Critère de dissémination dans l'espace
DIT	Critère de dissémination dans le temps
DRG	Dorsal root ganglion
E2	Estradiol
EAAT1/2	Le transporteur d'acides aminés exciteur 1 et 2
EAE	Encéphalomyélite auto-immune expérimentale

EDSS	Expanded Disability Status Scale
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Récepteur du facteur de croissance épidermique
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Facteur de croissance des fibroblastes
FSH	Hormone de stimulation folliculaire
GAG	Glycosaminoglycanes
GalC	Galactocéroside
GEF	Guanine exchange factor
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale
GFP	Protéine fluorescente
GLUT	Transporteur de glucose
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor
GPC	Cellules précurseurs des granules du gyrus denté
GRK	G-protein receptor kinase
HAT	Histone acétyltransférase
HDAC	Histone déacétylase
HIF-1 $\alpha$	Hypoxia-inducible factor 1
HMGB1	High mobility group box )
HSD	Hydroxysteroid dehydrogenase
HSP	Protéines de choc thermiques
HSPG	Heparan sulfate proteoglycans
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukine
INF	Interféron
IPCs	Cellules souches pluripotentes induites
IRM	Imagerie par résonance magnétique
JAK	Janus Kinases
LAM	Leucémie myéloïde aigüe
LBD	Ligand-binding domain
LCM	Microdissection par capture laser
LESTR	Leukocyte-derived seven-transmembrane domain receptor
LH	Hormone lutéinisante
LHRH	Luteinizing hormone-releasing hormone
LLC	Leucémie lymphoïde chronique
LPC	Lysolécithine
LPS	Lipopolysaccharides
LT	Lésion + implant testostérone
LT $\beta$ R	Lymphotoxin $\beta$ receptor
LV	Lésion + implant vide
MA	Maladie d'Alzheimer
MAG	Glycoprotéine associée à la myéline
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
mAR	Membrane androgen receptor
MBP	Myelin Basic Protein

MCHII	Complexe majeur d'histocompatibilité
MCT	Monocarboxylates transporter
MIF	Macrophage migration inhibitor factor
MIP-1 $\alpha$	Macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$
MMP	Métalloprotéases matricielles
MOG	Myelin oligodendrocyte glycoprotein
MPZ	Myelin protein zero
NAWM	Normal-appearing white matter
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NCoR	Nuclear receptor co-repressor
NES	Nuclear exclusion signal
NGF	Nerve growth factor
NK	Natural Killer
NLS	Nuclear localization sequence
NPC	Cellules progénitrices des neuronales
NR	Nuclear receptor
NRG	Neureguline
NTD	Domaine N-terminal du récepteur des androgènes
OL	Oligodendrocyte
OPC	Précurseurs d'oligodendrocyte
PO	Protein zero
p300/CBP	Famille des coactivateurs p300-CBP
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern
PBS	Phosphate-buffered saline
PBSF	Facteur de croissance stimulateur des cellules pré-B
CAF	Fibroblastes humains associés au cancer
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDGFR $\alpha$	Platelet-derived growth factor receptor A
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
Akt	Protéine kinase B
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PLC	Phospholipase C
PLP	Myelin proteolipid protein
SNP	Système nerveux périphérique
PPMS	Sclérose en plaques progressive primaire
PRMS	Sclérose en plaques progressive récurrente
PSA	Acide polysialique
PTX	Parathyroïdectomie
RCPG	Récepteurs couplés aux protéines G
RIM	Zone périlésionnelle d'une plaque
RRMS	Sclérose en plaques récurrente-rémittente
SDF-1	Stromal cell-derived factor
SEP	Sclérose en plaques
SHBG	Sex hormone-binding globulin
SHBGR	Sex hormone-binding globulin receptor
SHH	Protéine Sonic hedgehog
SMRT	Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor

SNC	Système nerveux central
SPMS	Sclérose en plaques secondaire progressive
SRC	Steroid receptor coactivateur
SVZ	Zone subventriculaire
SWI/SNF	SWItch/Sucrose Non-Fermentable
TCR	T-cell receptor
TFIIIF	Transcription factor II F
TGF	Transforming Growth Factor
TLR	Récepteur Toll-like
TMEV	Encéphalomyélite virus de Theiler
TNF	Facteurs de nécrose tumorale
TRAIL	Tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand
TSPO	Protéine translocatrice
VDAC	Voltage-dependent anion channel
VEB	Virus d'Epstein-Barr
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VHL	Maladie de Von Hippel-Lindau
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VPH	Virus papillome humain
WHIM	Verrues hypogammaglobulinémie infections myélokathexis
YY1	Ying Yang 1

# INTRODUCTION

## I. Les hormones stéroïdiennes

Chez les mammifères, la production d'hormones stéroïdiennes se fait au niveau des organes endocriniens : le cortex surrénalien, les ovaires et testicules ainsi que le placenta lors de la grossesse. Toutes les hormones stéroïdiennes sont synthétisées à partir du cholestérol, qui, une fois métabolisé par plusieurs enzymes, permet l'obtention d'hormones stéroïdiennes adrénales (corticostéroïdes, cortisol et aldostérone) et d'hormones stéroïdiennes gonadales telles que la progestérone, l'estradiol et la testostérone. Ces enzymes ont été classés en deux principales classes de protéines, les cytochromes P450 et les hydroxy stéroïdes deshydrogénases (Miller 1988).

Les hormones stéroïdiennes agissent en se liant à des protéines (récepteurs) intracellulaires spécifiques qui fonctionnent à la fois comme des transducteurs de signaux et des facteurs de transcription afin de moduler l'expression de gènes cibles. L'identification de ces récepteurs par des techniques d'injections d'hormones marquées, d'autoradiographie ou de fractionnements protéiques radioactifs a permis leur classification en cinq classes : les récepteurs des minéralocorticoïdes, les récepteurs des estrogènes, les récepteurs des progestagènes, les récepteurs des androgènes et les récepteurs des glucocorticoïdes. Le clonage moléculaire ainsi que la comparaison des séquences ont révélé une structure des ligands hautement conservée et des mécanismes communs affectant la transcription des gènes.

### A. Stéroïdogénèse

La stéroïdogénèse est un processus initié par la conversion du cholestérol en prégnéolone après le clivage de sa chaîne latérale par le cytochrome P450<sub>sc</sub> (side chain clivage également appelé CYP11A1, codée par le gène CYP11A1) dans les mitochondries. Le transport du cholestérol vers les mitochondries est facilité par un complexe protéique, le transductosome, impliquant entre autres, la protéine activatrice de la stéroïdogénèse StAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein) et le TSPO (translocator protein 18kDa) (Papadopoulos et al. 2015; Arevalo, Azcoitia, and Garcia-Segura 2015; Arakane et al. 1996), **Figure 1**. Le transfert intra-mitochondrial du cholestérol constitue une première étape limitante de la stéroïdogénèse. Une fois dans la mitochondrie, la chaîne latérale du cholestérol est clivée par le cytochrome P450<sub>sc</sub> qui est la deuxième étape limitante de la stéroïdogénèse.



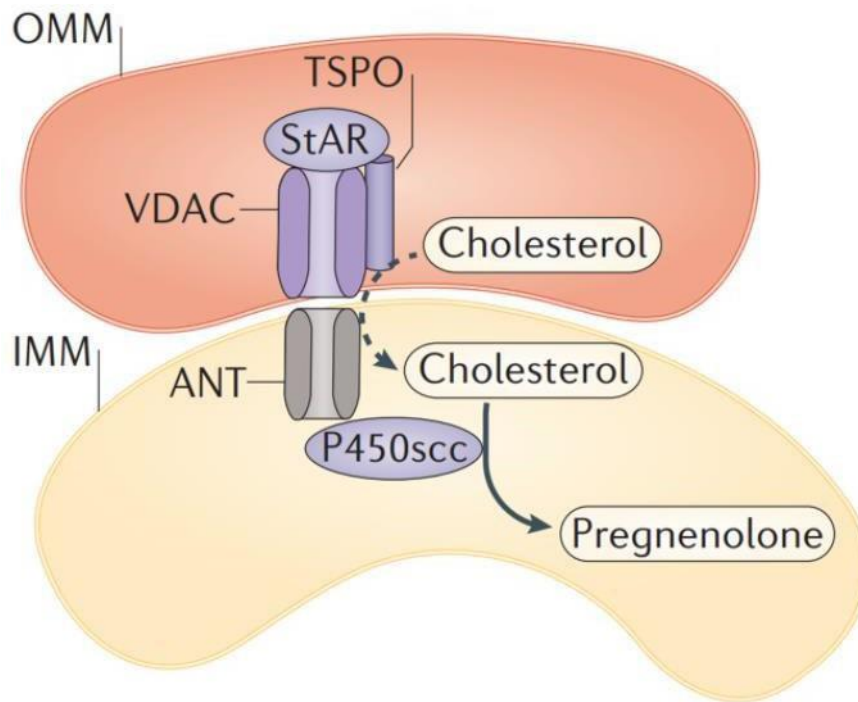


Figure 1 : Internalisation du cholestérol dans la mitochondrie.

La liaison au TSPO (translocator protein) favorise le transport du cholestérol vers la membrane interne de la mitochondrie (IMN). Le TSPO forme un complexe avec les protéines VDAC (voltage-dependent anion channel) et StAR (Steroidogenic Acute Regulatory protein) dans la membrane mitochondriale externe (OMN) et la ANT (adenine nucleotide transporter) dans la membrane mitochondriale interne. Modifiée d'après (Arevalo, Azcoitia, and Garcia-Segura 2015).

La prégnénone est ensuite catalysée par une série d'enzymes de la mitochondrie, mais également du réticulum endoplasmique menant à l'obtention de plusieurs autres stéroïdes **Figure 2**. L'accessibilité de ces enzymes dans un tissu donné détermine les stéroïdes fonctionnels résultants dans une glande ou un tissu donné. Ainsi, l'étape de transport du cholestérol libre du cytoplasme vers les mitochondries et la conversion du cholestérol en prégnénone constituent deux étapes cruciales de la stéroïdogénèse. Le cholestérol provient d'un pool synthétisé au sein de la cellule à partir de l'acétate, de l'ester de cholestérol stocké dans les gouttelettes lipidiques intracellulaires et de l'absorption de lipoprotéines de basse densité contenant du cholestérol.

Dans les cellules stéroïdogènes chroniquement stimulées, le cholestérol d'origine plasmatique est la source la plus importante. Le cytochrome P450 (CYP) et les hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) sont les deux principales classes d'enzymes qui catalysent les réactions conduisant à la biosynthèse des stéroïdes.

En général, comme pour les récepteurs stéroïdiens, les hormones stéroïdiennes sont classées en cinq groupes : glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes, androgènes, œstrogènes et progestatifs. Le cortisol est le principal représentant des glucocorticoïdes chez les mammifères, y compris chez l'homme tandis que chez les rongeurs, il s'agit de la corticostérone. La glande surrénale est la principale source de glucocorticoïdes et de minéralocorticoïdes. Les glucocorticoïdes contrôlent le métabolisme cellulaire

et la fonction des cellules immunitaires alors que les minéralocorticoïdes maintiennent l'équilibre du sel et de l'eau. L'aldostérone est le minéralocorticoïde le plus important. Les androgènes (par exemple, la testostérone), les œstrogènes (par exemple, l'estradiol et l'estrone) et les progestagènes (également connus sous le nom de progestatifs) tels que la progestérone sont synthétisés par les gonades et le placenta. Ces hormones sexuelles contrôlent la fonction reproductive normale. Les voies de biosynthèse des principaux représentants de ces classes d'hormones stéroïdiennes sont illustrées, **Figure 2.**

Une fois le cholestérol converti en prégnénolone, ce dernier va agir comme précurseur de toutes les hormones stéroïdes. Une première enzyme, la 17 $\alpha$ -hydroxylase, va permettre son hydroxylation et sa conversion en 17 $\alpha$ -hydroxy prégnénolone. La 3 $\beta$ -HSD oxyde ce substrat et forme la progestérone. Cette dernière est à nouveau hydroxylée par la 21-hydroxylase et forme la désoxycorticostérone. Tous les minéralocorticoïdes sont synthétisés à partir de la désoxy-corticostérone. La 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone est produite à partir de la progestérone ou de la 17 $\alpha$ -hydroxyprégnénolone. La 21-hydroxylase convertit la 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone en 11-déoxycortisol, d'où les glucocorticoïdes (par exemple, le cortisol) sont synthétisés. La 17 et la 20 lyase agissent à la fois sur la 17 $\alpha$ -hydroxyprégnénolone et la 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone afin de former respectivement la déhydroépiandrostérone et l'androstènedione. Ces derniers métabolites agissent comme précurseurs de la biosynthèse de la testostérone et des œstrogènes.

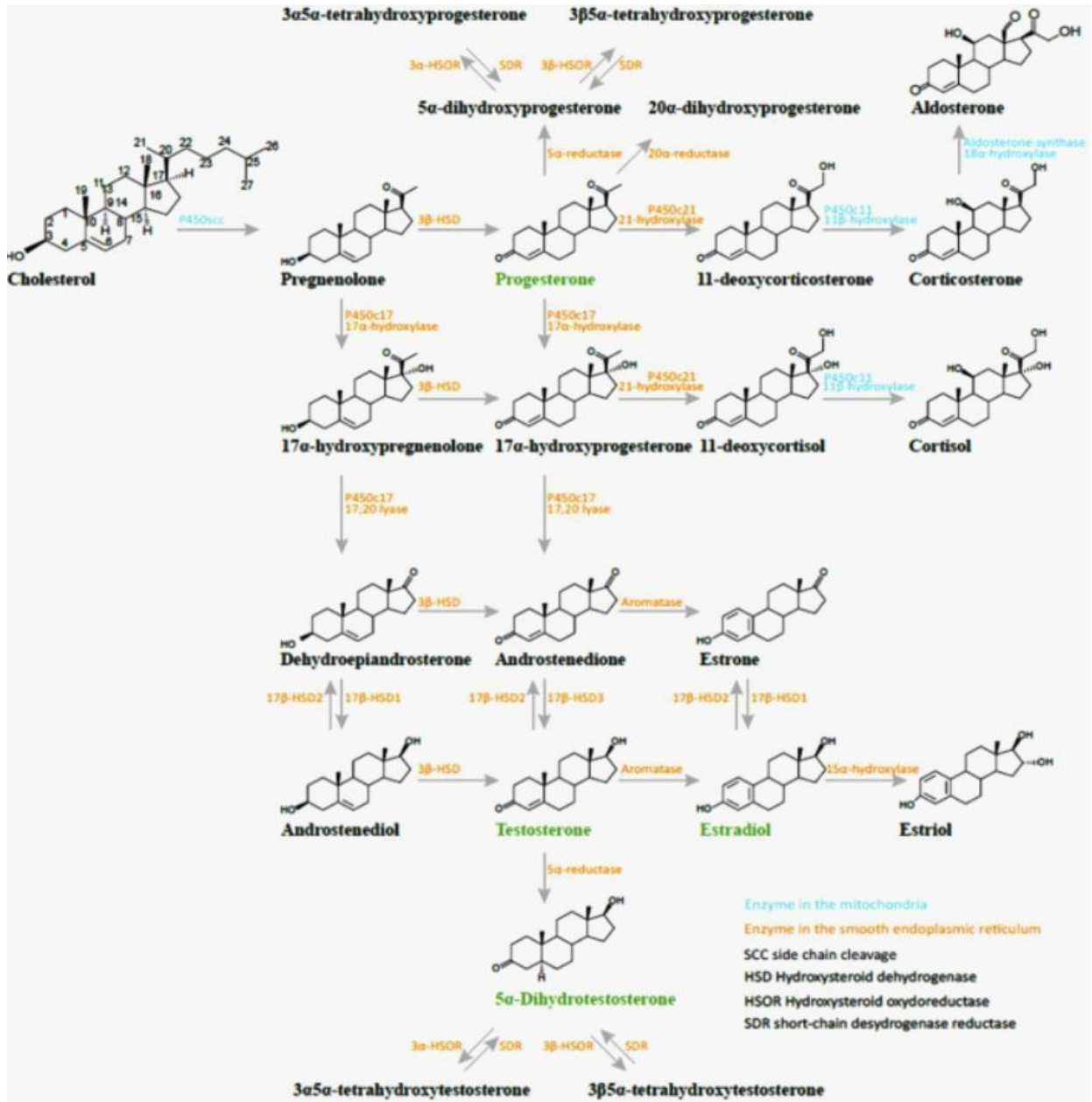


Figure 2 : La stéroïdogénèse.

Voies de biosynthèse des hormones stéroïdes à partir du cholestérol. Les principaux stéroïdes (progestérone, testostérone, dihydrotestostérone et estradiol) sont indiqués en vert et les enzymes de stéroïdogénèse présentes dans la mitochondrie et dans le réticulum endoplasmique sont indiquées en bleu et orange respectivement. Modifié d'après (Miller and Auchus 2011)

## B. Neurostéroïdes

La synthèse *de novo* des stéroïdes à partir du cholestérol dans le cerveau a été identifiée pour la première fois par le professeur Emile Baulieu, ce qui a permis l'émergence du terme "neurostéroïdes" en référence à leur site de synthèse (Goascogne et al. 1989; Baulieu 1997). Chez l'humain, la présence du clivage de la chaîne latérale du cholestérol par le cytochrome P450, qui convertit le cholestérol en prégnénolone, une étape limitante de la synthèse des stéroïdes, a été détectée pour la première fois dans le cerveau humain par immunocytochimie (Goascogne et al. 1989). Il existe néanmoins un dimorphisme sexuel au niveau de l'ARNm du P450c17 avec une augmentation significative de son niveau chez la femme comparée à l'homme (Watzka et al. 1999). Ainsi, l'existence de la synthèse de stéroïdes au niveau du système nerveux central est indéniable.

Initialement, il a été admis que la synthèse des neurostéroïdes se limitait à la prégnénolone, à la progestérone et à leurs métabolites immédiats, alors que l'on considérait que la testostérone et l'œstradiol étaient apportées au cerveau par les glandes endocrines stéroïdogènes (Baulieu, Robel, and Schumacher 2001). En effet, plusieurs éléments ont étayé cette hypothèse, à commencer par l'effet important de la castration sur les fonctions et structure du cerveau mais également par l'absence de détection cérébrale chez le rat du cytochrome P450c17 qui catalyse la conversion de la prégnénolone en déhydroépiandrostérone (DHEA) ou de la progestérone en androstènedione. Comme mentionné précédemment, ces deux métabolites sont deux précurseurs essentiels à la synthèse des androgènes (Mellon and Deschepper 1993) **Figure 1**. Cependant d'autres études ont invalidé cette hypothèse en montrant une expression de l'ARNm du P450c17 dans des régions cérébrales embryonnaires de rat notamment au niveau des neurones et des astrocytes (Strömstedt and Waterman 1995). D'autres études ont confirmé la présence des neurostéroïdes tels que la progestérone, la dihydroprogestérone, la DHEA, la testostérone et l'œstradiol après castration et surrénalectomie des rats et des souris (Labombarda et al. 2006) ou indirectement par l'analyse de l'expression des enzymes (P450sc, aromatasase, 17 $\beta$ -HSD, 3 $\beta$ -HSD et 5 $\alpha$ -réductase) permettant leur biosynthèse dans différentes régions du cerveau (Mensah-Nyagan et al. 1999; Ukena, Kohchi, and Tsutsui 1999; Ibanez et al. 2003; Ishii, Ikenaka, and Pfeiffer 2007). De plus, la 3 $\beta$ -HSD (3 $\beta$ -hydroxystéroïdes) a été largement détectée dans différentes régions du cerveau, à savoir, le bulbe olfactif, le striatum, le cortex, thalamus, hypothalamus, septum, hippocampe, habenula, et cervelet (Guennoun et al. 1995; Pelletier 2010). Contrairement aux rongeurs, des niveaux significatifs de 3 $\beta$ -HSD sulfatés ont été mesurés dans le plasma et le cerveau humain (Liere et al. 2009).

L'ensemble de ces études confirme donc l'existence d'une activité stéroïdogénique autonome au sein du système nerveux central (SNC). Cependant, des résultats suggèrent que l'activité

neurostéroïdogénique pourrait être influencée par les stéroïdes périphériques. En effet, après castration, le tissu nerveux modifie ses niveaux de stéroïdes neuroactifs en réponse aux changements qui se produisent dans le plasma (Caruso et al. 2010). La majeure partie des neurostéroïdes bioactifs sont produits par la voie impliquant la synthèse de l'allopregnanolone, qui est un dérivé  $3\alpha$ ,  $5\alpha$  réduit de la progestérone et concerne principalement la progestérone et ses dérivés (dihydroprogestérone et allopregnanolone) ainsi que la testostérone et ses dérivés (dihydrotestostérone et estradiol). Ces neurostéroïdes exercent des effets variés au sein du système nerveux: la reproduction, la neuroprotection, la neurorégénération, la plasticité synaptique, la douleur, le comportement et la cognition (Garcia-Ovejero et al. 2005; Mukai et al. 2006; Labombarda et al. 2013; Schumacher et al. 2012; Ghomari et al. 2006). Il est important de noter que l'expression des enzymes de la neurostéroïdogénèse change dans certaines conditions pathologiques notamment dans le cas des pathologies démyélinisantes. En effet, dans le modèle de démyélinisation par la cuprizone, l'expression de la P450 $\text{scc}$  et de la  $5\alpha$ -réductase diminue dans l'hippocampe, le cortex et le corps calleux pendant la période de démyélinisation et revient aux niveaux des contrôles pendant la remyélinisation (Leicaj et al. 2018). De même, l'expression de la  $3\alpha$ -HSD décroît dans le cerveau de souris soumis au modèle d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE). Chez l'homme on observe au niveau des lésions de sclérose en plaques, une régulation positive de l'ARNm de la  $3\beta$ -HSD chez les femmes mais pas chez les hommes (Luchetti et al. 2014). Dans une autre étude, une régulation négative des transcrits de la  $5\alpha$ -réductase de type 1 et de la  $3\alpha$ -HSD a été rapportée dans le cerveau des patients atteints de sclérose en plaques (Noorbakhsh et al. 2011). Par ailleurs, Une étude réalisée par Caruso et al. a montré une augmentation des niveaux de prégnénolone et une diminution des niveaux de  $5\alpha$ -dihydroprogestérone ( $5\alpha$ -DHP), de  $5\alpha$ -dihydrotestostérone ( $5\alpha$ -DHT) et d'estradiol dans le liquide céphalorachidien d'hommes atteints de sclérose en plaques rémittente (RR) (Caruso et al. 2014). Cependant, des études récentes ont également rapporté des résultats contradictoires concernant le statut stéroïdien des patients atteints de sclérose en plaques (SEP). En effet, des niveaux bas de neurostéroïdes ont été mesurés dans la substance blanche de patients SEP par rapport aux patients témoins (Noorbakhsh et al. 2011). Ces concentrations réduites de stéroïdes sexuels ont été corrélées à des niveaux sériques plus élevés de cytokines pro-inflammatoires (Avila et al. 2018). D'autre part, chez les patientes atteintes de SEP, des niveaux plus élevés de stéroïdes circulants ont été mesurés, y compris pour la prégnénolone, la progestérone, l'allopregnanolone et leurs conjugués polaires, pouvant influencer l'activité neuronale et affecter l'équilibre entre neuroprotection et excitotoxicité (Kanceva et al. 2015). Finalement, de nombreuses autres études ont rapporté différents rôles des stéroïdes dans le processus de myélinisation et remyélinisation (Ghomari et al. 2020).

## C. L'hormone sexuelle mâle : la testostérone

### 1. Synthèse et régulation de la testostérone

#### a) Les androgènes

Les androgènes englobent plusieurs hormones stéroïdes qui peuvent être sécrétées *de novo* par les gonades et les glandes surrénales ou produites dans différents tissus à partir de précurseurs circulants. Selon leur capacité naturelle à se lier au récepteur des androgènes (AR), ils peuvent être classés en deux sous-groupes : les vrais androgènes (actifs), représentés par la testostérone (T) et son métabolite 5 $\alpha$ -réduit, la 5 $\alpha$ -dihydrotestostérone (5 $\alpha$ -DHT), et les pro-androgènes (faibles), dont la déhydroépiandrostérone (DHEA), le sulfate de déhydroépiandrostérone et l'androstènedione (A), qui commencent à être actifs lorsqu'ils sont convertis en T et en 5 $\alpha$ -DHT (Schiffer, Arlt, and Storbeck 2018).

Les androgènes sont des hormones sexuelles mâles, capables de développer et de maintenir les organes reproducteurs masculins, les caractéristiques sexuelles secondaires ainsi que d'assurer des modifications nécessaires au rôle de l'homme dans la reproduction (Handelsman 2011). Chez les deux sexes, ils influencent le maintien de la compétence reproductive, le comportement sexuel, le contrôle glycémique, le profil lipidique, le métabolisme osseux, l'érythropoïèse et participent à des processus associés aux fonctions cérébrales (Matsumoto et al. 2008; Miller and Auchus 2011; Bianchi et al. 2021).

Dans le SNC, les neurones ont longtemps été considérés comme les principales cibles cellulaires de la testostérone. Les motoneurones bulbo-caverneux de la moelle spinale lombaire du rat sont l'une des populations neuronales sur lesquelles les effets neurotrophiques de la testostérone ont été largement explorés. Ces motoneurones innervent les muscles striés du pénis et sont plus nombreux et plus grands chez les mâles, principalement en raison des effets de la testostérone sur les muscles cibles pendant le développement et sur les neurones et les muscles à l'âge adulte (Cooke et al. 1998; Raskin et al. 2012). Aussi, les effets neuroprotecteurs de la testostérone ont été rapportés très tôt, principalement dans des cultures de cellules neuronales, avec une protection des neurones cérébelleux de rat en culture contre le stress oxydatif (Ahlbom, Prins, and Ceccatelli 2001), des neurones hippocampiques de rat contre la toxicité de la protéine  $\beta$ -amyloïde (Pike 2001) et des neurones humains isolés du tissu cérébral fœtal contre l'apoptose due à une carence sérique (Hammond et al. 2001). Il est important de noter que les effets neurotrophiques et neuroprotecteurs de la testostérone dans le SNC impliquent principalement une signalisation directe de la testostérone via le récepteur des androgènes (AR), décrit plus bas. Il a été observé par imagerie par résonance magnétique (IRM) chez des garçons adolescents

que la testostérone via son AR joue un rôle important dans la détermination du calibre des axones au sein des trajets de la substance blanche (Perrin et al. 2008; Perrin et al. 2009)

### *b) Voie de biosynthèse de la testostérone*

Chez l'homme le principal androgène circulant est la testostérone. Sa synthèse est majoritairement assurée par les testicules dans les cellules de Leydig, mais elle peut aussi être réalisée en faible quantité par les glandes surrénales, **Figure 3**. En outre, on retrouve une production infinitésimale de l'hormone au sein du cerveau dont l'action locale est importante pour sa physiologie (Baulieu 1997; King et al. 2002). Les cellules de Leydig vont assurer la synthèse de la testostérone à partir de son substrat : le cholestérol. Ces dernières, vont assurer sa production *de novo* à partir de l'Acétyl CoA, mais vont préférentiellement utiliser le cholestérol extrait des lipoprotéines plasmatiques. De plus, les gouttelettes lipidiques intracellulaires qui contiennent des esters de cholestérol peuvent constituer des stocks du substrat (Rommerts 2004). L'étape critique de la stéroïdogénèse, a lieu dans la mitochondrie où le clivage de la chaîne latérale du cholestérol va permettre la formation de la prégnénolone. Le passage de la prégnénolone vers le réticulum endoplasmique va engendrer son hydroxylation en position 17 par la 17 $\alpha$ -hydroxylase afin d'obtenir la 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolone. Le clivage de la chaîne latérale de ce dernier conduit à la formation de la DHEA (Déhydroépiandrostérone). Enfin, l'action successive de 3 $\beta$ -HSD (3 $\beta$ -hydroxysteroid deshydrogenase) et de la 17 $\beta$ -HSD (17 $\beta$ -hydroxysteroid deshydrogenase) conduit à la formation de la testostérone. Par ailleurs, au niveau des tissus périphériques la synthèse de testostérone s'effectue à partir de deux intermédiaires DHEA et androstènedione secrétées par les glandes surrénales.

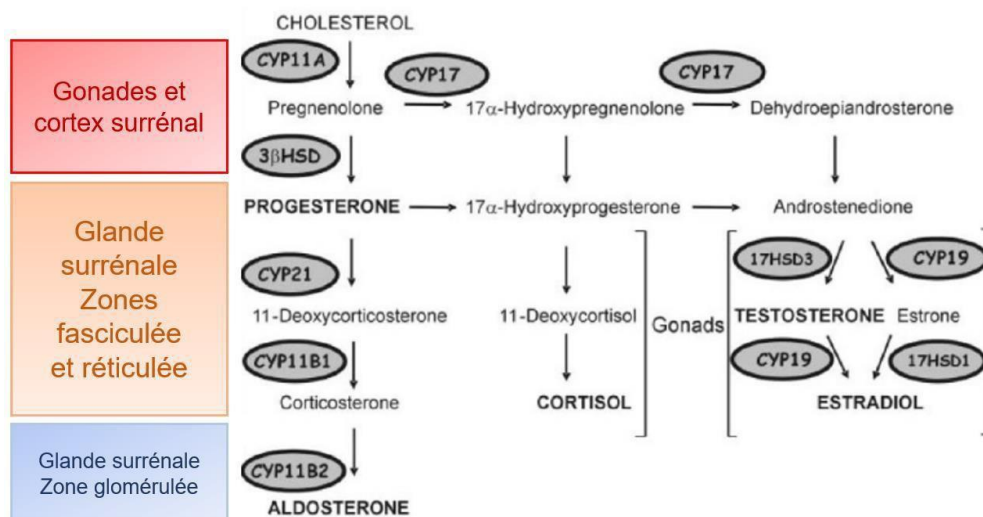


Figure 3 : Biosynthèse des hormones stéroïdiennes.

Selon les tissus de biosynthèse des hormones stéroïdiennes, on observe quelques spécificités enzymatiques. En effet, les cellules de Leydig vont procéder à l'expression de l'enzyme de la 17  $\alpha$ -hydroxylase (CYP17) et non pas celles des enzymes CYP11 et CYP21. Modifié d'après (Payne and Hales 2004)

Les taux cérébraux de testostérone ne reflètent pas nécessairement leurs taux circulants, car la testostérone peut être synthétisée localement *de novo* ou à partir de stéroïdes précurseurs surrénaliens circulants. Les preuves sont principalement basées sur l'expression et l'activité des enzymes stéroïdogènes et la persistance de faibles quantités de testostérone et de ses métabolites dans le cerveau après ablation des glandes endocrines stéroïdogènes (Munetsuna et al. 2009; Tobiansky, Wallin-Miller, et al. 2018; Fester and Rune 2021). Plus récemment, des études ont fourni des preuves que la synthèse *de novo* de la testostérone se produit dans les neurones de l'hippocampe des rongeurs (Hojo et al. 2004; Hojo and Kawato 2018). De plus, les androgènes peuvent également être synthétisés dans le cortex préfrontal médian, le noyau accumbens et l'aire tegmentale ventrale du rat, où ils sont impliqués dans la régulation des fonctions exécutives (Oh et al. 2018). Bien que la castration ait éliminé la testostérone en circulation, l'hormone, même à des taux très faibles, est restée présente dans ces régions cérébrales jusqu'à 6 semaines, ce qui confirme sa synthèse cérébrale localisée (Bielecki et al. 2016).

Cette synthèse locale est cohérente avec les effets de la gonadectomie sur les fonctions et la structure du cerveau et avec les mesures ne détectant pas dans le cerveau du rat le cytochrome P450c17, enzyme qui catalyse la conversion de la prégnénolone en déhydroépiandrostérone (DHEA) ou de la progestérone en androstènedione, deux précurseurs obligatoires des androgènes, **Figure 4** (Mellon and Deschepper 1993). La 5 $\alpha$ -DHT ne peut pas être convertie en estradiol (E2) par l'aromatase, et c'est pour cette raison qu'elle est couramment utilisée dans les plans expérimentaux pour s'assurer que la



signalisation médiée par l'AR est impliquée dans les effets de la testostérone. Cependant, il faut savoir que la 5 $\alpha$ -DHT peut être convertie de manière réversible en 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -androstane-3,5-diol (3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol), qui agit sur le récepteur d'estrogène (Er $\beta$ ) et est impliqué dans la régulation de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien (Handa, Sharma, and Uht 2011).

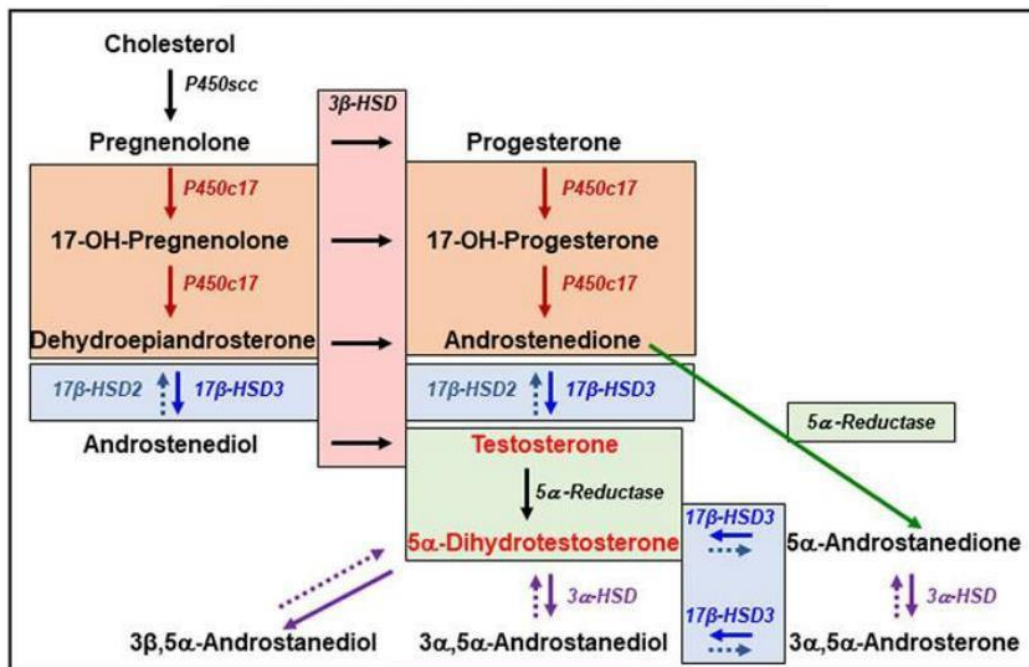


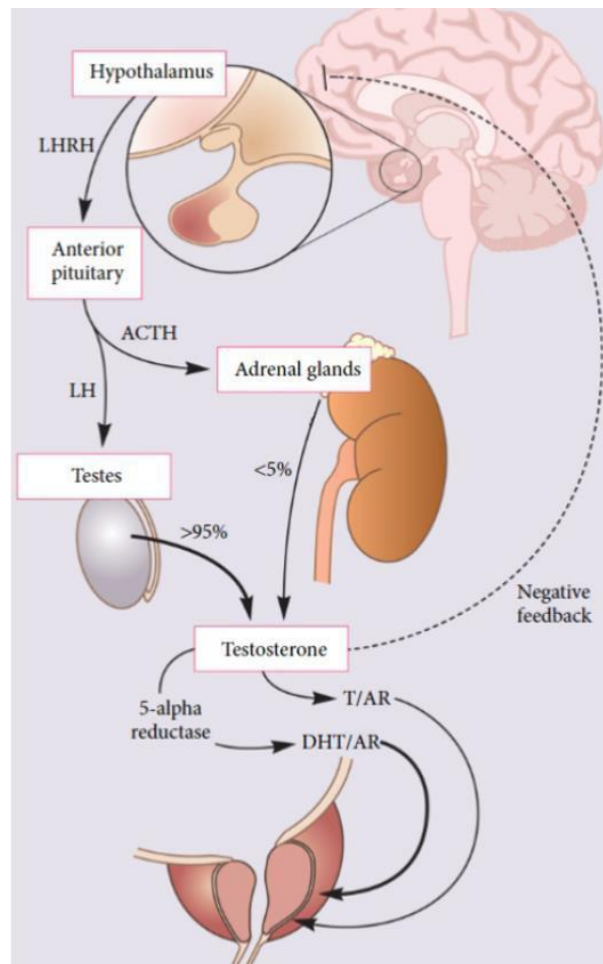
Figure 4 : Biosynthèse et métabolisme de la testostérone.

Le cholestérol est le précurseur de toutes les hormones stéroïdes, sa conversion en prégnénolone est réalisée par le cytochrome P450sc. L'androsténone, précurseur direct de la testostérone, résulte de la conversion de la DHEA par le 3 $\beta$ -HSD ou de la progestérone par le P450c17. Le cytochrome P450c17 catalyse à la fois les réactions de 17 $\alpha$ -hydroxylase et de 17,20-lyase. La réduction de l'androsténone en testostérone est catalysée par le 17 $\beta$ -HSD3. La conversion de la DHEA en androsténone correspond à une voie alternative de biosynthèse de la testostérone. L'activité transcriptionnelle de la testostérone médiée par l'AR est amplifiée par sa 5 $\alpha$ -réduction en 5 $\alpha$ -DHT. Deux métabolites de la 5 $\alpha$ -DHT, le 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -diol et le 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol, sont, respectivement, des activateurs des récepteurs GABAA et de l'ER $\beta$ . Modifié d'après (Schumacher et al. 2021).

### c) Régulation de synthèse et transport de la testostérone

Chez l'homme, la synthèse des androgènes est finement régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire. En effet, l'hypothalamus induit la sécrétion de la LH-RH (Luteinizing hormone-releasing hormone) dont l'interaction avec ces récepteurs spécifiques situés au niveau de l'hypophyse entraîne la production de la LH (hormone lutéinisante) et de l'ACTH (hormone corticotrope). La LH stimule la formation de la testostérone par les cellules de Leydig, tandis que l'ACTH induit la synthèse de l'hormone par les glandes surrénales. Le taux de testostérone est régulé par une boucle de rétrocontrôle négatif. Si la testostérone est libérée en quantité trop importante, elle inhibe les sécrétions de LH-RH et de LH par

l'axe hypothalamo-hypophysaire, ce qui réduit sa production, **Figure 5**. Chez la femme, les androgènes sont synthétisés dans les ovaires. La stéroïdogénèse ovarienne est plus complexe car les étapes enzymatiques sont partagées entre les cellules de la granulosa et de la thèque, qui entourent l'ovocyte et forment un follicule. La stéroïdogénèse est initiée dans des cellules de la granulosa, sous l'influence de la LH, qui, par l'intermédiaire de l'AMPC, stimule l'expression de la P450scc (Voutilainen et al. 1986). Ainsi, la prégnénolone et la progestérone diffusent à partir de cellules granuleuses vers les cellules de la thèque adjacente, où elles peuvent être sollicitées par la P450c17 et la 3 $\beta$ -HSD pour produire l'androstènedione. De petites quantités d'androstènedione sont sécrétées ou converties en testostérone, et l'autre partie des androstènediones retournent aux cellules granuleuses où elles sont converties en estrone et en estradiol par la P450aromatase et la 17  $\beta$ -HSD, respectivement, sous l'influence de la FSH.



**Figure 5 : Axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.**

La LH-RH sécrétée par l'hypothalamus induit la libération de l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone corticotrope (ACTH) par l'hypophyse antérieure. Ces dernières stimulent à leur tour la libération de la testostérone par les cellules de Leydig (>95% de la production totale) et par les glandes surrénales (<5%), respectivement. Une fois produite la testostérone (T) est convertie en dihydrotestostérone (DHT) par la 5 $\alpha$ -réductase. Ces deux métabolites peuvent tous deux être activés le récepteur des androgènes (AR). Modifié d'après (Lamb, Massie, and Neal 2014)

Par ailleurs, comme mentionné précédemment, la production majeure de la testostérone est assurée par les cellules de Leydig. Une fois produite, la testostérone diffuse librement à travers la membrane de ces dernières. Dans le plasma, la testostérone circule sous 3 formes : 2% sont retrouvés sous forme libre (seules formes utilisables par les tissus), 65% sont liées à des protéines de transport des stéroïdes les SHBG (Sex Hormone-binding globulin) et enfin 33% sont liés à l'albumine (Dunn, Nisula, and Rodbard 1981; Hammond 2016; Le et al. 2012). Contrairement au complexe Testostérone/Albumine, le complexe SHBG/testostérone présente une liaison de forte affinité ce qui permet à la fois d'éviter sa dégradation dans le foie, mais également de le caractériser comme étant un prédicteur du taux de testostérone dans le sang (Selby 1990). La testostérone biodisponible est donc constituée du complexe Testostérone/Albumine et de la testostérone libre dont le mécanisme de diffusion vers les cellules cibles est passif. Une fois entrée dans le cytoplasme, l'hormone est convertie par la 5 $\alpha$ -réductase en un androgène puissant : la 5 $\alpha$ -DHT (5 $\alpha$ -dihydrotestostérone) permettant une forte activation du récepteur aux androgènes (Kinter and Anekar 2022), et par conséquent une forte transactivation des gènes cibles du AR et une amplification du signal de la testostérone à travers son récepteur (Wilson et al. 2002).

## 2. Mode d'action du récepteur des androgènes

### a) Structure du récepteur des androgènes

Le récepteur des androgènes (AR) est un facteur de transcription appartenant à la famille des récepteurs nucléaires. Le gène codant la protéine comporte 8 exons qui s'étendent sur 90kb. Sa localisation est recensée au niveau du chromosome X en position Xq11-12. La traduction de l'ARNm du gène permet l'obtention d'une protéine de 919 acides aminés dont l'analyse structurale témoigne d'une grande homologie avec la famille des récepteurs stéroïdes nucléaires, **Figure 6**. En effet, on dénombre 4 domaines distincts : un domaine de transactivation NH<sub>2</sub> terminal, un domaine de liaison à l'ADN, un domaine de liaison du ligand COOH terminal et une région charnière « hinge region » (Koochekpour 2010).

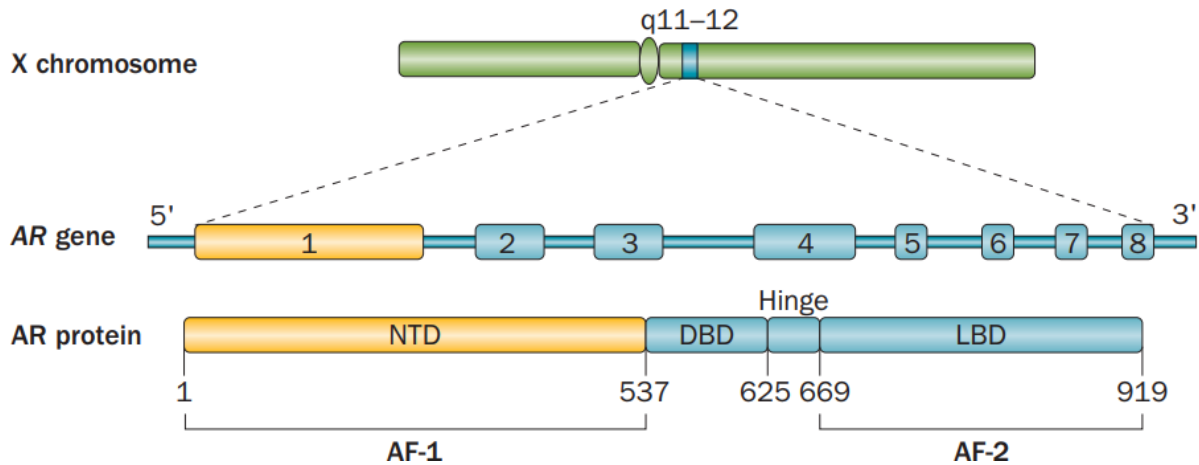


Figure 6 : Structure moléculaire du gène et de la protéine du récepteur des androgènes.

**AF-1** : Fonction d'activation ; **AR** : Récepteur des androgènes ; **DBD** : domaine de liaison à l'ADN ; **LBD** : Domaine de liaison du ligand ; **NTD** : domaine amino-terminal. D'après (Lorente et al. 2015)

### (1) Le domaine N-terminal (NTD)

Le domaine N-terminal (NTD) est codé par l'exon 1 du gène du AR et s'étend sur 555 acides aminés. Cette région est très importante pour la conformation et l'activité du récepteur puisqu'elle permet la traduction de plus de la moitié de la protéine (Bennett et al. 2010). Contrairement aux autres domaines de la protéine, le domaine NTD présente une flexibilité particulière, ce qui lui permet d'interagir avec de multiples partenaires (Tan et al. 2015).

La partie N-terminale contient le premier site de transactivation AF-1 (Activation fonction 1). Ce site présente deux sous unités TAU-1 et TAU-5 qui vont participer au recrutement de cofacteurs après présentation des motifs LxxLL (x désignant un acide aminé quelconque). Par exemple, le facteur général de transcription TFIIF (Transcription factor II F) va interagir avec TAU-1 tandis que le SRC-1 (Steroid receptor coactivateur 1) va préférentiellement se lier au TAU-5 (Reid et al. 2003). Une interaction indirecte est possible entre les sous unités TAU-1 et TAU-5. En effet, TAU-5 favorise le recrutement de SRC-1 alors que TAU-1 va contribuer à son atténuation (Callewaert, Van Tilborgh, and Claessens 2006; Claessens et al. 2008). De plus, TAU-1 et TAU-5 présentent deux motifs amphipatiques, FQNLF (23-27acides aminés) et WHTLF (acides aminés 433-437), respectivement. La présence de ces motifs est nécessaire non seulement pour l'interaction avec les cofacteurs, mais également pour l'interaction du NTD avec la partie C-terminale du AR lors de sa liaison au ligand (Bennett et al. 2010).

En outre, le domaine NTD contient des répétitions de poly-glutamine (codon CAG) et poly-glycine (codon GGC). Ces répétitions affectent l'activité de transactivation du AR, puisqu'il a été démontré que des répétitions plus courtes de ces séquences conduisent à une transactivation du AR plus élevée. A

l'inverse des répétitions plus longues vont entraîner une diminution de l'activité du récepteur et vont être notamment responsable de maladie neurodégénérative telles que Le syndrome de Kennedy, également connu sous le nom d'amyotrophie spinale et bulbaire (SBMA) (Bennett et al. 2010; Li and Al-Azzawi 2009).

## (2) Le domaine de liaison à l'ADN (DBD)

Le domaine de liaison à l'ADN (DBD) est une région de 556 à 623 résidus, située au centre du récepteur. Cette région présente la particularité d'être riche en cystéine ce qui est hautement conservé parmi les récepteurs nucléaires (Freedman et al. 1988). L'analyse de la structure cristalline du AR a mis en évidence deux anses protéiques maintenu à leur base par 4 résidus cystéines, qui sont eux-mêmes stabilisés par un ion zinc, aussi désignée comme « zinc fingers » (Freedman 1992). Le premier doigt de zinc comporte une boîte P (P-box) permettant la reconnaissance et la fixation du récepteur sur l'ADN. Le deuxième doigt de zinc est impliqué dans la dimérisation du récepteur ainsi que dans la stabilisation de l'interaction ADN-récepteur, **Figure 7**. En effet, après dimérisation, le récepteur se lie à des séquences palindromiques de types 5'- GGA/TTACAnnnTGTCT-3' IR3 (inverted repeat3) aussi appelées éléments de réponses aux androgènes ARE (Androgen Response Element). Cependant, cette séquence qui correspond aux ARE classiques, peut également être reconnue par d'autres récepteurs nucléaires de la même classe, notamment par les récepteurs de la progestérone, des glucocorticoïdes ou des minéralocorticoïdes. D'autres part, la répétition directe ou inversée de la séquence 5'-TGTCT-3' module l'action du AR. En cas de répétitions directes, la disposition du AR sur l'ADN est réalisée en « tête à queue » tandis que les répétitions inversées induisent une disposition « en tête à tête » (Tan et al. 2015). Ainsi, la disposition de la séquence consensus au niveau de l'ADN permet de favoriser une régulation sélective des gènes par le AR. Effectivement, l'étude de souris transgéniques où le AR se lie uniquement aux AREs classiques, a mis en évidence le rôle de cette interaction dans la régulation de gènes impliqués dans la masse musculaire et osseuses. En parallèle, la liaison du AR aux AREs sélectifs a été associée à la régulation de gènes engagés dans le développement des organes reproducteurs tels que Rhox5 (Reproductive homeobox X-linked gene 5) (Schauwaers et al. 2007). Enfin, la liaison du AR aux AREs sélectifs va impliquer l'extension carboxy terminale du DBD (Verrijdt, Haelens, and Claessens 2003).

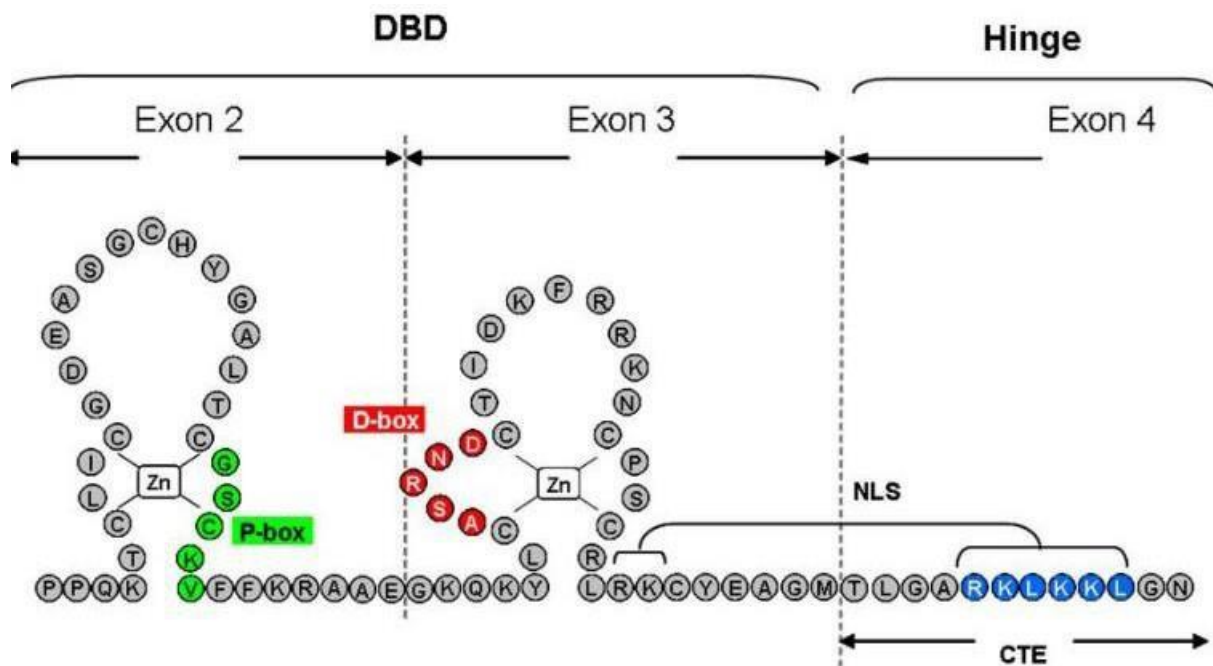


Figure 7 : Structure cristalline de la région DBD du récepteur des androgènes.

Chaque lettre représente un acide aminé. Les résidus de la boîte P sont indiqués en vert, les résidus de la boîte D en rouge et en bleu se trouve le NLS désignant les résidus impliqués dans la séquence de localisation nucléaire. Les fragments qui sont codés par l'exon 2, l'exon 3 et une partie de l'exon 4 sont indiqués. Le CTE indique l'extension carboxyle terminale impliquée dans la liaison à l'ADN, le trafic intracellulaire et la transactivation. D'après (Claessens et al. 2008)

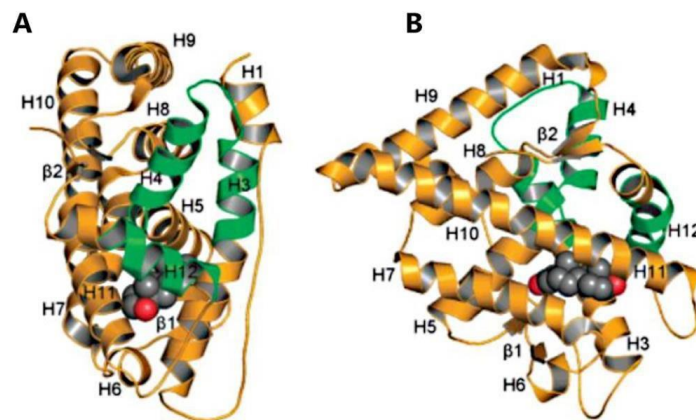
### (3) La région charnière

La région charnière, constituée de 50 acides aminés basiques et située à la jonction des régions DBD et LBD. Une partie de la région s'étend sur la partie C-terminale de la région DBD, **Figure 7**. Le motif  $^{629}\text{RKLKKL}^{634}$  de la deuxième partie de du NLS (nuclear localization signal) va interagir avec l'importine  $\alpha$  induisant la translocation du récepteur vers le noyau (Clinckemalie et al. 2012). D'autre part, l'identification d'un motif PEST (riche en proline, glutamate, serine, et thréonine) a révélé une activité de dégradation des protéines à courte demi-vie par le protéasome médiée par l'ubiquitine (Rechsteiner and Rogers 1996). D'autres part, les mutations de ce motif ont été associées à des pathologies chez des patients atteints du syndrome d'insensibilité partielle, complète et légère aux androgènes (Gottlieb et al. 2012). Enfin, cette région participe également au maintien du AR dans le cytoplasme en absence de ligand. En effet, son interaction avec des protéines telles que la protéine  $\alpha\text{SGT}$  (Small Glutamine tetratricopeptide repeat containing protein  $\alpha$ ) permet la formation de complexes avec des protéines de choc thermique (Hsp70 et Hsp90) empêchant ainsi sa translocation au sein du noyau (Clinckemalie et al. 2012).

#### (4) Le domaine de liaison au ligand LBD

La région LBD (domaine de liaison au ligand) du récepteur aux androgènes est impliquée dans la liaison avec ses ligands (Testostérone/DHT). Contrairement aux récepteurs nucléaires qui sont constitués de 12 hélices  $\alpha$ , le domaine LBD est constitué de 11 hélices  $\alpha$  ainsi que de 2 feuillets  $\beta$  organisés en 3 couches et formant un sandwich  $\alpha$ -hélicoïdale antiparallèles. En effet, la première couche de cette structure est réalisée par les hélices 1 et 3 tandis que les hélices 4 et 5 vont consolider la couche centrale. La dernière couche est quant à elle assemblée à partir des hélices 6,7,10 et 12. Lors de la reconnaissance du récepteur par son ligand, le domaine LBD subit un changement de conformation induisant un repliement de l'hélice 12, permettant sa stabilisation grâce à des liaisons hydrophobes et hydrogènes consolidées par le deuxième feuillet  $\beta$ . Ce mécanisme se produit au sein d'une poche de liaison impliquant à la fois l'hélice 5, la partie N-terminale de l'hélice 3 ainsi que les parties C-terminales des hélices 10 et 11, **Figure 8**.

D'autres part, les 18 acides aminés impliqués dans l'interaction directe au ligand ont été identifiés. La mutation d'un seul de ces acides aminés conduit à une altération de la reconnaissance spécifique du ligand par son récepteur. Par exemple, chez des patients présentant une mutation du T877A, le AR est activé de manière incongrue par un anti-androgène (le flutamide).



**Figure 8 :** Structure cristallographique du domaine de liaison au ligand (LBD) du AR lors de sa liaison avec la DHT.

A. Vue de face ; B. Vue représentant la liaison du ligand au domaine LBD. Les atomes constituant le ligand sont : le carbone (en noir) et l'oxygène (en rouge). L'AF-2 (deuxième fonction de transactivation) est constituée des hélices 3, 4 et 12 représentés en vert. D'après (Gao, Bohl, and Dalton 2005)

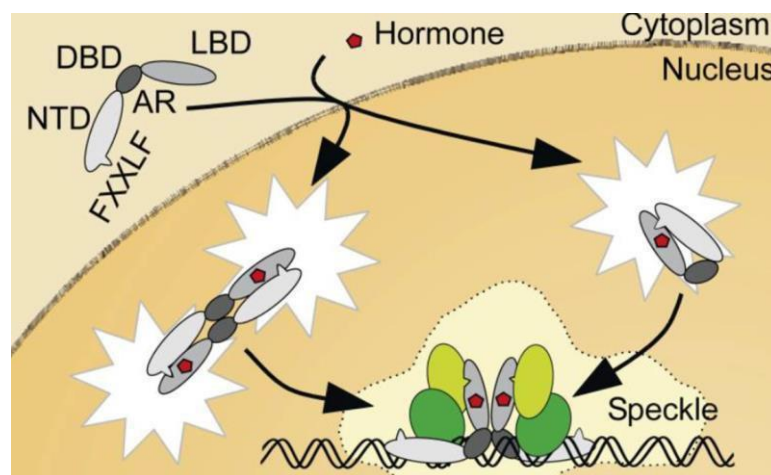
Après reconnaissance du ligand, le changement de conformation de la partie LBD du AR entraîne la formation d'une deuxième fonction de transactivation (AF-2) facilitant ainsi, le recrutement de cofacteurs. Comme mentionnée précédemment, les ARs vont préférentiellement se lier aux motifs FxxFL contrairement aux autres récepteurs nucléaires. Ce mécanisme est assuré par la AF-2 qui va se



fixer à des motifs <sup>23</sup>FQNLF<sup>23</sup> situés dans le NTD appelé interaction N/C. Ainsi, le recrutement de cofacteurs présentant un motif FxxFL n'est plus possible. En parallèle, l'interaction N/C induit le recrutement du complexe SWI/SNF (Switch/Sucrose Non Fermentable) entraînant un remodelage de la chromatine afin de renforcer la liaison du AR sur les AREs des gènes cibles. Une fois la fixation du AR établie, on assiste à une perte d'interaction N/C facilitant l'arrivée de cofacteurs.

Par ailleurs, en absence de ligand, le NES (nuclear exclusion signal) de la région NTD est dominante par rapport au NLS de la région DBD et de la région charnière, ce qui favorise le maintien du AR dans le cytoplasme (Saporita et al. 2003), **Figure 9**.

Toutefois, dans un modèle de mutation du motif FxxLF du NTD, une étude a démontré le rôle du cofacteur SRC-2 dans la restauration de l'interaction N/C. Ces résultats démontrent que l'interaction N/C serait indirecte et impliquerait donc certains cofacteurs.



**Figure 9 : Modèle des interactions N/C et des corégulateurs du récepteur aux androgènes.**

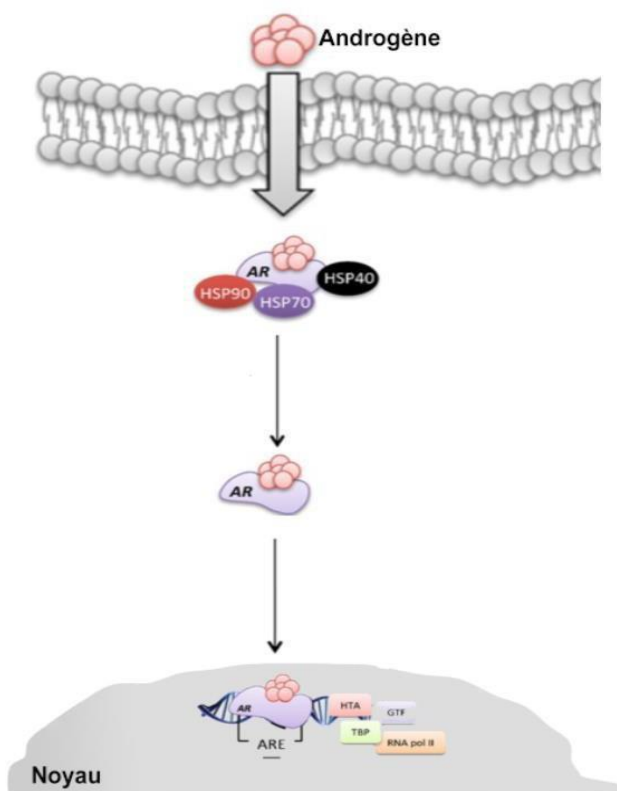
La liaison du AR avec son ligand entraîne la fixation de la partie C-terminal de ce dernier au NTD, permettant sa translocation dans le noyau. Ces interactions sont inter- ou intra-moléculaires. Le AR se fixe alors sur les éléments de réponses aux androgènes perturbant ainsi l'interaction N/C et favorisant l'accès aux cofacteurs. D'après (van Royen et al. 2007)

### *b) La voie génomique*

A l'état basal, en absence du ligand, le AR se trouve principalement au niveau du cytoplasme où il se lie à des protéines de choc thermique (HSP), dont la fixation serait médiée par des protéines du cytosquelette qui participeraient également à la modulation du changement de conformation en vue d'une liaison efficace au ligand (Bennett et al. 2010; Pietri et al. 2016). La voie classique de signalisation des ARs est communément appelée voie génomique ou canonique. Cette voie repose sur la diffusion du ligand à travers la membrane plasmique afin de pénétrer dans le cytoplasme et de se lier au AR. Ce



mécanisme entraîne une dissociation des protéines chaperonnes et la translocation du complexe ligand/récepteur vers le noyau afin d’initier sa dimérisation. Une fois dimérisé, le AR se fixe sur les éléments de réponses aux androgènes (ARE) et module la transcription des gènes (Grino, Griffin, and Wilson 1990) **Figure 10** et **Figure 11A**. La liaison du AR à un ARE spécifique entraîne le recrutement d’enzyme histone acétyltransférase (HAT) et d’un certain nombre de co-régulateurs essentiels. Cet événement favorise la liaison de protéines de liaison TATA (TBP) ainsi que de facteurs généraux de transcription tels que l’ARN polymérase II. Ainsi, la transcription et la régulation des gènes par les androgènes sont initiées.



**Figure 10 : Signalisation génomique du récepteur aux androgènes.**

La signalisation du AR par la voie génomique implique une diffusion de l'androgène (testostérone) à travers la membrane plasmique, son entrée dans le cytoplasme entraînant la dissociation des protéines chaperonnes au AR. La fixation du AR à son ligand mène à sa translocation dans le noyau où sa fixation sur les AREs induit l’expression de gènes cibles. Modifié d’après (Lucas-Herald et al. 2017)

### *c) La voie non génomique*

Le AR peut activer des voies de signalisations non transcriptionnelles à effets rapides. En effet, le mode d’action non génomique du AR est médié par l’activation de protéines cytoplasmiques, de canaux ioniques et/ou de facteurs de transcription. Des études ont montré des interactions entre le AR et des intermédiaires de la voie de signalisation des MAPK (“Mitogen Activated Protein Kinase”) et PI3K/Akt

(“Phospholinoside 3-kinase/Akt”), **Figure 11B**. Outre la forme libre, les androgènes pourraient également agir sous forme de complexe, notamment avec les protéines SHBG via la fixation au récepteur SHBGR couplé aux protéines G (Foradori, Weiser, and Handa 2008; Michels and Hoppe 2008). De plus, on recense la présence de récepteurs non conventionnels du AR appelés mAR (pour “membrane androgen receptor”) au niveau de la membrane des SHBGR. Enfin, les androgènes sont également capables de moduler l’activité des canaux ioniques.

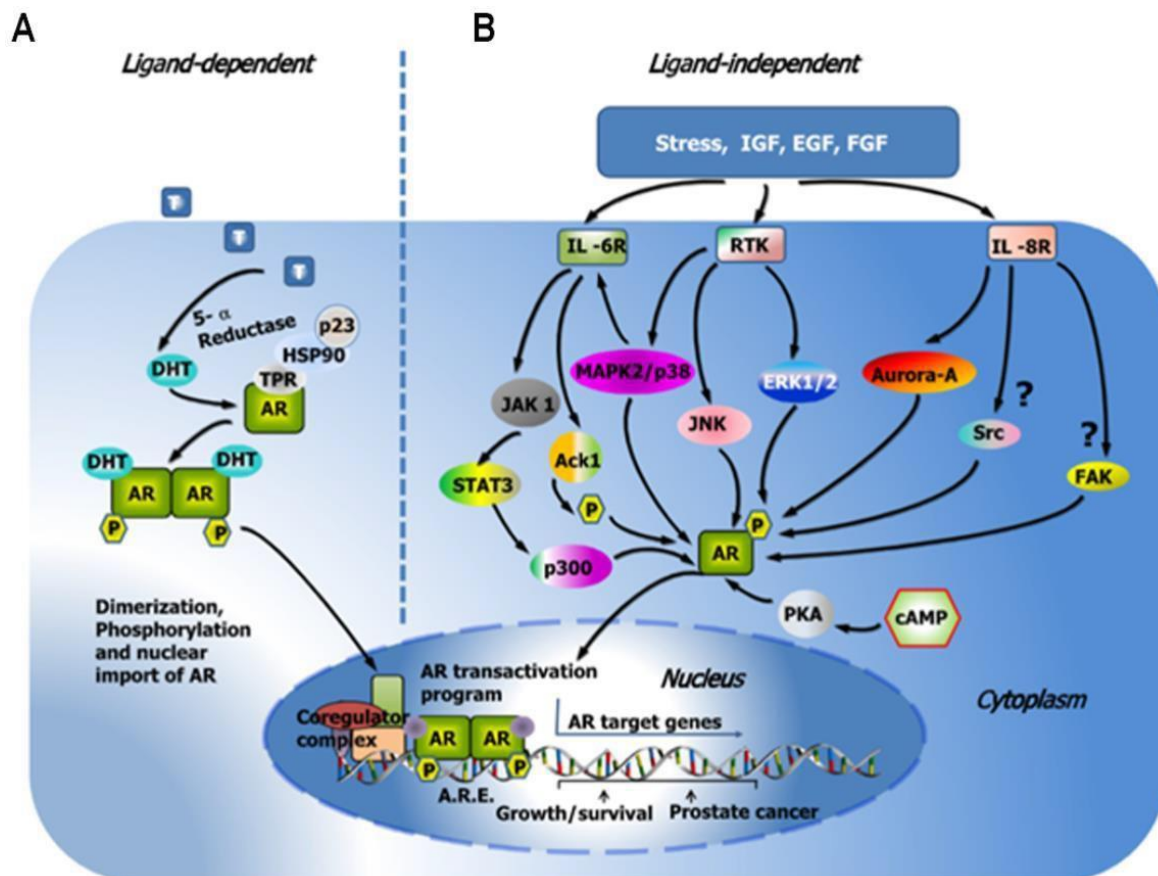


Figure 11 : Représentation schématique de la transactivation du récepteur des androgènes (AR) dépendante et indépendante du ligand.

Au cours de la voie d'activation indépendante du ligand, le AR est activé par des antagonistes du AR et des ligands autres que la DHT. La transactivation du AR par cette voie conduit à l'activation des cibles génomiques et des voies de signalisation impliquant divers facteurs non canoniques, notamment IL-6, IL-8, divers facteurs de croissance, de coactivateurs, de l'AMP cyclique et des kinases. Plusieurs étapes putatives de ces voies restent non caractérisées. D'après (Shukla et al. 2016)

### 3. Cofacteurs transcriptionnels du AR

#### a) Coactivateurs

Comme évoqué précédemment, après fixation sur les ARE, le AR fait appel à des coactivateurs permettant l’initiation de la transcription de gènes cibles. Ces derniers sont impliqués dans des

processus de remodelage de la chromatine, notamment dans la modification du niveau d'acétylation ou de méthylation des histones (Perissi and Rosenfeld 2005; Heemers and Tindall 2007). Parmi ces coactivateurs, on retrouve le SRC-1, SRC-2 et SRC-3 appartenant à la famille des p160 (Shang, Myers, and Brown 2002; Walsh et al. 2012). Ces derniers vont interagir avec les parties AF-1 et AF-2 du AR afin d'induire le recrutement d'autres coactivateurs tels que les p300, p300/CBP (CREB Binding Protein) ou encore p/CAF (p300/CBP associated factor) qui présentent une forte activité avec les histones acetyls transférases (HAT) (Shang, Myers, and Brown 2002; Heemers and Tindall 2007). De plus, le coactivateur SRC-1 joue un rôle précurseur dans le remodelage de la chromatine puisque sa liaison au complexe SWI/SNF constitue l'étape critique de la transcription des gènes. Ainsi, les coactivateurs sont nécessaires au déclenchement de la machine transcriptionnelle des gènes régulés par le AR, **Figure 12**. maté

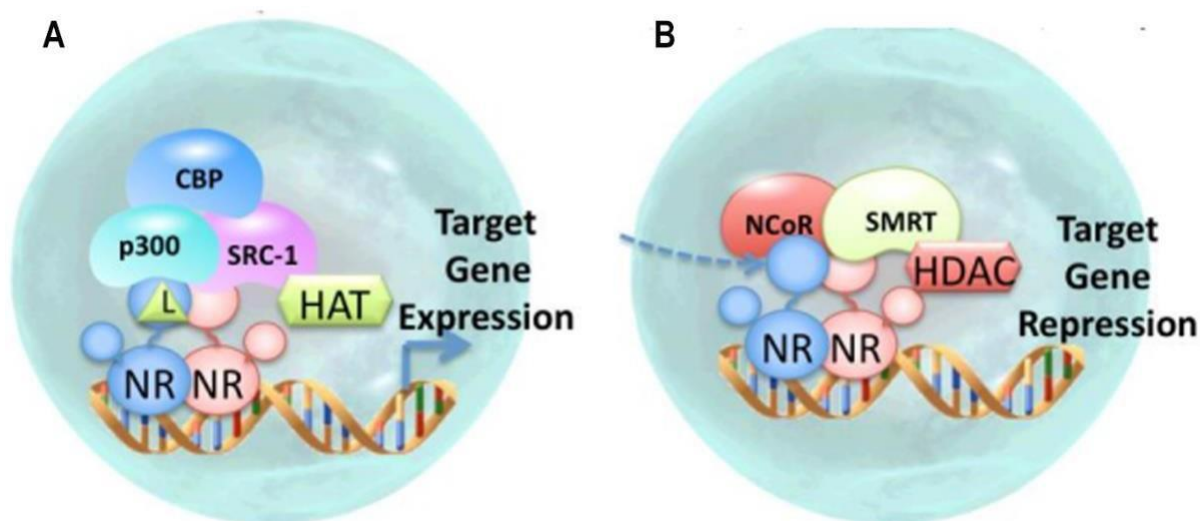


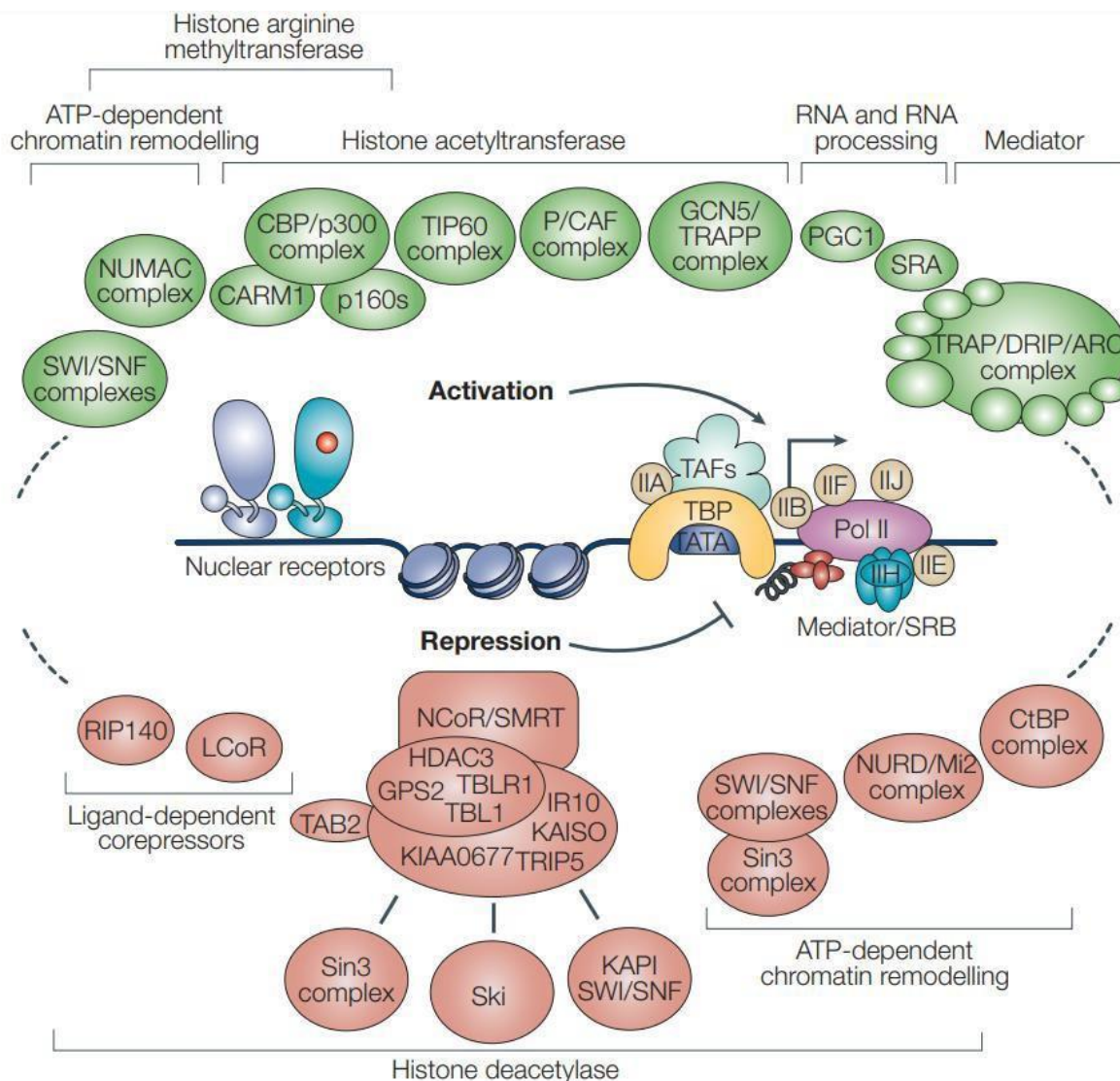
Figure 12 : Activation et répression de l'expression des gènes par le AR.

Les récepteurs nucléaires (ex : AR) recrutent des co-activateurs après liaison du ligand (L) pour activer les gènes cibles et des co-répresseurs en absence du ligand pour réprimer l'expression des gènes. Abréviations: L : ligand ; NR, nuclear receptor; SRC (Steroid Receptor Co-activator) ; histone déacétylase (HDAC) ; histone acetyltransferase (HAT) ; co-activateurs (CBP/P300 et p160) ; NCoR (Nuclear receptor co-repressor) et SMRT (silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor). Adaptée de (<http://nrresource.org>)

### *b) Corépresseurs*

La transcription des gènes par le AR peut également être réprimée via des corépresseurs. Ces derniers peuvent par exemple inhiber la translocation nucléaire du AR. En effet, le DAX-1 (Dosage-Sensitive Sex Reversal Adrenal Hypoplasia Congenita Critical Region on the X Chromosome Gene 1), un récepteur nucléaire, présente une activité corepressive du AR puisqu'il contribue à sa rétention dans le cytoplasme (Holter et al. 2002). D'autre part, certains corépresseurs comme le SMRT (silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor) peuvent interagir et se lier avec le domaine NTD du AR (en absence ou en présence du ligand). Il entre alors en compétition avec le coactivateur SRC-2

afin de perturber l'interaction N/C du AR via le recrutement des HDAC (Liao et al. 2003). De plus, l'activité du AR peut aussi être réprimée par le corépresseur NcoR (Nuclear Receptor Corepressor) qui agit en inhibant l'interaction N/C ainsi que la liaison du AR au coactivateur (Wang, Hsu, and Chang 2005), **Figure 13**.



**Figure 13 : Régulation de la transcription du récepteur des androgènes via le recrutement de coactivateurs et corépresseurs.**

Les coactivateurs sont représentés (en rouge) et les corépresseurs (en vert). Ces derniers sont impliqués dans de nombreuses fonctions et sont associés à des activités enzymatiques. La machinerie transcriptionnelle est favorisée par les complexes médiateurs. D'après (Perissi and Rosenfeld 2005)

#### 4. Expression du AR dans les cellules neurales

Le récepteur des androgènes est exprimé dans le cortex et l'hippocampe adulte où il est exprimé de manière prédominante dans les zones de Cornu Ammonis1 (CA1) et CA2/3 (Simerly et al. 1990; Kerr et al. 1995; Kritzer 2004; Raskin et al. 2012). De plus, la combinaison des techniques de traçage rétrograde et d'immunomarquage du AR ont montré que la projection du cortex préfrontal vers l'aire tegmentale ventrale est enrichie en AR (Aubele and Kritzer 2012). De par sa fonction de facteur de transcription, la protéine AR se trouve généralement dans le noyau, cependant, l'immunoréactivité du AR a également été révélée dans les axones et les dendrites au niveau de l'amygdale et du cortex cérébral (DonCarlos et al. 2003; DonCarlos et al. 2006). Dans ces sites non classiques, le AR pourrait jouer un rôle dans les effets comportementaux rapides associés aux androgènes. L'analyse de l'hippocampe du rat mâle endéveloppement, a révélé que les concentrations d'ARNm augmentent progressivement du 1er au 14e jour post-natal et sont maintenues jusqu'à l'âge adulte (Kimoto et al. 2010). Des données similaires ont été rapportées chez la souris où les concentrations d'ARNm hippocampique augmentent de manière significative à partir des niveaux basaux du 5<sup>ème</sup> jours post-natal (JPN) chez les mâles et du 1<sup>er</sup> JPN chez les femelles jusqu'au 7<sup>ème</sup> JPN (Mogi et al. 2015). Cette même étude a également montré, une augmentation significative des concentrations de transcription corticale entre le 19<sup>ème</sup> jour embryonnaire et le 7<sup>ème</sup> JPN chez les deux sexes. Une étude plus récente a confirmé l'augmentation progressive des concentrations d'ARNm entre le jour de la naissance jusqu'au 21<sup>ème</sup> JPN dans le cortex et l'hippocampe de la souris à la fois chez les mâles et chez les femelles (Tsai et al. 2015).

Ainsi, on retrouve une prédominance neuronale du phénotype des cellules immunoréactives au AR dans le cerveau antérieur des rongeurs mâles au stade embryonnaire et à l'âge adulte. Néanmoins, des études chez le singe rhésus adulte ont mis en évidence l'expression du AR au niveau de cellules gliales telles que les astrocytes ainsi qu'une petite proportion d'oligodendrocytes. A noter que la présence du AR au niveau des cellules de la microglie n'a pas été détectée (Finley and Kritzer 1999). Contrairement aux rongeurs, l'analyse du cortex temporal de biopsies humaines a révélé une expression protéique du AR neuronale, mais également sur l'ensemble des cellules gliales à savoir les oligodendrocytes, les astrocytes ainsi que la microglie (Puy et al. 1995).



## 5. Implication du récepteur des androgènes et de son ligand dans certaines pathologies

Chez le rongeur la présence de la testostérone a été identifiée (à des niveaux inférieurs) après 6 semaines de castration, bien que la testostérone circulante soit totalement éliminée confirmant ainsi sa synthèse au niveau du cerveau (Tobiansky, Korol, et al. 2018). Par ailleurs, les androgènes et les œstrogènes ont été détectés au niveau du cortex préfrontal médian, du noyau accumbens et de l'aire tegmentale ventrale du rat, où ils peuvent être impliqués dans la régulation des fonctions exécutives (Raskin et al. 2012; Cook et al. 2014).

Les effets bénéfiques des hormones stéroïdiennes, notamment de la testostérone, sur la myéline, ont été démontré d'abord dans l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE), le modèle animal le plus couramment utilisé pour étudier la pathologie de la SEP (Constantinescu et al. 2011). Les niveaux physiologiques de la testostérone sont protecteurs chez les souris mâles atteintes d'EAE, car leur castration aggrave l'évolution de la maladie (Palaszynski et al. 2004; Voskuhl and Gold 2012). Aussi, plusieurs études ont rapporté qu'un faible taux de testostérone est associé à l'invalidité chez les hommes atteints de SEP (Wei and Lightman 1997; Chitnis 2018) confirmant ainsi le rôle neuroprotecteur de la testostérone. Des niveaux réduits de testostérone ont été aussi observés chez les femmes atteintes de la SEP et ont été corrélés à une augmentation des lésions cérébrales ainsi que des défauts cognitifs chez ces malades (Tomassini et al. 2005). Chez la souris, le traitement exogène avec la testostérone a eu des effets protecteurs sur la myéline et anti-inflammatoires menant à une amélioration des symptômes de l'EAE chez les deux sexes (Dalal, Kim, and Voskuhl 1997; Palaszynski et al. 2004). D'autres modèles d'étude de la SEP ont permis de montrer qu'une absence de testostérone chez le rongeur induite par la castration bloque la remyélinisation spontanée des lésions à la fois dans des modèles de démyélinisation chronique (Hussain et al. 2013) et aiguë (Bielecki et al. 2016). A l'inverse, l'administration exogène de la testostérone à des taux physiologiques permet de restaurer la gaine de myéline à la fois chez le mâle castré et chez la femelle ovariectomisée. Les premières études documentant les effets bénéfiques d'un traitement à la testostérone dans l'EAE ont permis l'ouverture d'un essai clinique pilote. Bien qu'aucun effet n'ait été constaté sur les lésions actives, chez les dix hommes malades de SEP recrutés pour cet essai, une réduction de l'atrophie cérébrale a été observée menant à l'amélioration des performances cognitives, des effets anti-inflammatoires et une réduction de la perte de matière grise corticale (Sicotte et al. 2007; Kurth et al. 2014).

D'autres études ont montré l'importance d'autres hormones stéroïdiennes, en particulier des œstrogènes et aussi de la progestérone dans la régénération de la myéline. Elles ont aussi montré

des effets protecteurs chez les souris EAE, ainsi que chez les femmes atteintes de la SEP (Sicotte et al. 2002; Khalaj et al. 2013). Outre, l'altération des niveaux de stéroïdes a également été recensée dans d'autres pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (Luchetti et al. 2011), de Parkinson (di Michele et al. 2013) ou encore lors d'accidents vasculaires cérébraux (Guennoun et al. 2015). Ainsi, l'implication des stéroïdes au niveau du SNC ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques.

## II. Les cellules gliales et la myéline

### A. Les cellules gliales du système nerveux central

Les cellules gliales ont été pour la première fois identifiées au XIX<sup>ème</sup> et XX<sup>ème</sup> siècles par les neuroscientifiques Rudolf Virchow, Camillo Golgi, Santiago Ramón y Cajal et Pío del Río-Hortega. Ces derniers ont d'abord suggéré que ces cellules jouaient uniquement un rôle dans le soutien du système nerveux central en agissant comme « une colle nerveuse ». Au sein des mammifères et en fonction de l'espèce, ces cellules représentent 33 à 66% de la masse cérébrale totale (Azevedo et al. 2009; Herculano-Houzel 2014). Du fait de leur importante proportion, ces cellules ont suscité l'intérêt de nombreux chercheurs. Par la suite, leur caractérisation a permis la classification des cellules gliales en microglie et macroglie. Cette dernière comprend la névroglie épithéliale, les cellules épendymaires, et la névroglie interstitielle, composée d'astrocytes et d'oligodendrocytes (matures et progéniteurs d'oligodendrocytes, OPC)

La macroglie et les neurones du SNC en développement dérivent des cellules neuroépithéliales qui tapissent les ventricules cérébraux et le canal rachidien. Vers le jour embryonnaire (E) 9-10 chez la souris, des vagues progressives de neurogenèse commencent dans les régions caudales de la moelle épinière et se poursuivent dans le sens rostral, ainsi que le long de gradients ventraux-dorsaux et latéraux-médians dans le cerveau. En effet, durant la neurogenèse chez les Vertébrés, les cellules neuroépithéliales se transforment en cellules de la glie radiaire, **Figure 14** (Rowitch and Kriegstein 2010). Cette transformation a lieu dès le début de la neurogenèse dans la plupart des régions du SNC, cependant elle est plus tardive dans la moelle épinière et la rétine (McDermott, Barry, and McMahon 2005; Allen and Lyons 2018). Dans la plupart des régions du SNC la glie radiaire disparaît au cours du développement, se transformant en cellules épendymaires au sein du plexus choroïde, lieu de synthèse du liquide céphalorachidien (Hertz 2014).

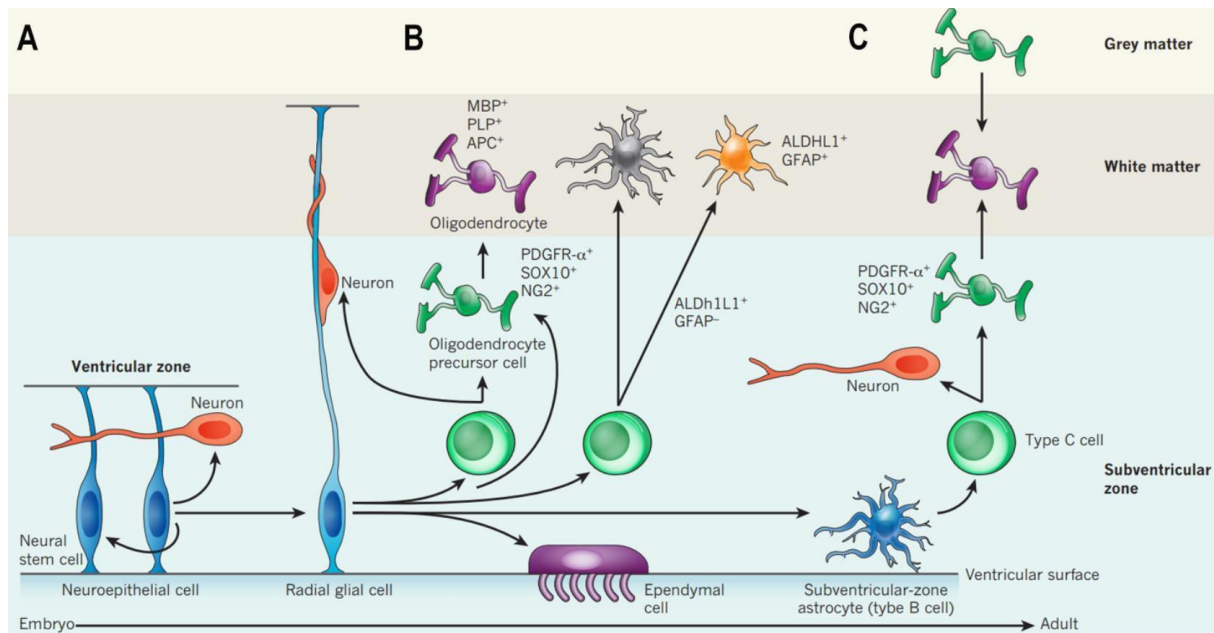


Figure 14 : Schémas montrant la gliogenèse dans les zones progénitrices embryonnaires et adultes.

Les cellules neuroépithéliales (ou cellules souches neurales) donnent naissance aux neurones et à la glie radiale qui est à l'origine des astrocytes, des oligodendrocytes, des OPC et des cellules épendymaires. **A.** l'auto-renouvellement des cellules neuro-épithéliales ; **B.** Les cellules gliales radiales produisent des cellules progénitrices intermédiaires et des cellules précurseurs d'oligodendrocytes (OPC), qui à leur tour produisent respectivement des neurones et des oligodendrocytes ; **C.** Chez les adultes, les oligodendrocytes sont produits par deux voies indépendantes : les cellules de type B de la zone corticale subventriculaire produisant des cellules amplificatrices de transit (appelées cellules de type C), qui génèrent à leur tour des OPC ainsi que des oligodendrocytes. Les flèches noires indiquent l'auto-renouvellement ou la différenciation d'un type cellulaire à un autre. ALDH1L1: aldehyde dehydrogenase 1 family member L1; APC: adenomatous polyposis coli; GFAP: glial fibrillary acidic protein; MBP: myelin basic protein; PDGFR- $\alpha$ : platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$ ; PLP: proteolipid protein. D'après (Rowitch and Kriegstein 2010)

## 1. La microglie

### a) Fonction de la microglie en condition homéostatique

La microglie constitue jusqu'à 10% de l'ensemble des cellules du SNC. Ce sont les cellules immunocompétentes et phagocytaires du système nerveux central (Aguzzi, Barres, and Bennett 2013). Il a longtemps été admis que les macrophages des tissus se différenciaient à partir des monocytes circulants produits dans la moelle osseuse (van Furth and Cohn 1968). Plus tard, il a été démontré que la microglie dérive de précurseurs embryonnaires ayant colonisé les tissus avant la naissance. De plus, contrairement aux autres cellules gliales, la microglie ne provient pas du tissu ectodermique, mais de précurseurs du sac vitellin et se maintient à l'âge adulte par prolifération locale, indépendamment des monocytes (Kettenmann et al. 2011). Au stade embryonnaire, la colonisation du parenchyme cérébrale se fait via la circulation sanguine au jour embryonnaire 9,5 (Hoeffel et al. 2015; Ginhoux and Williams



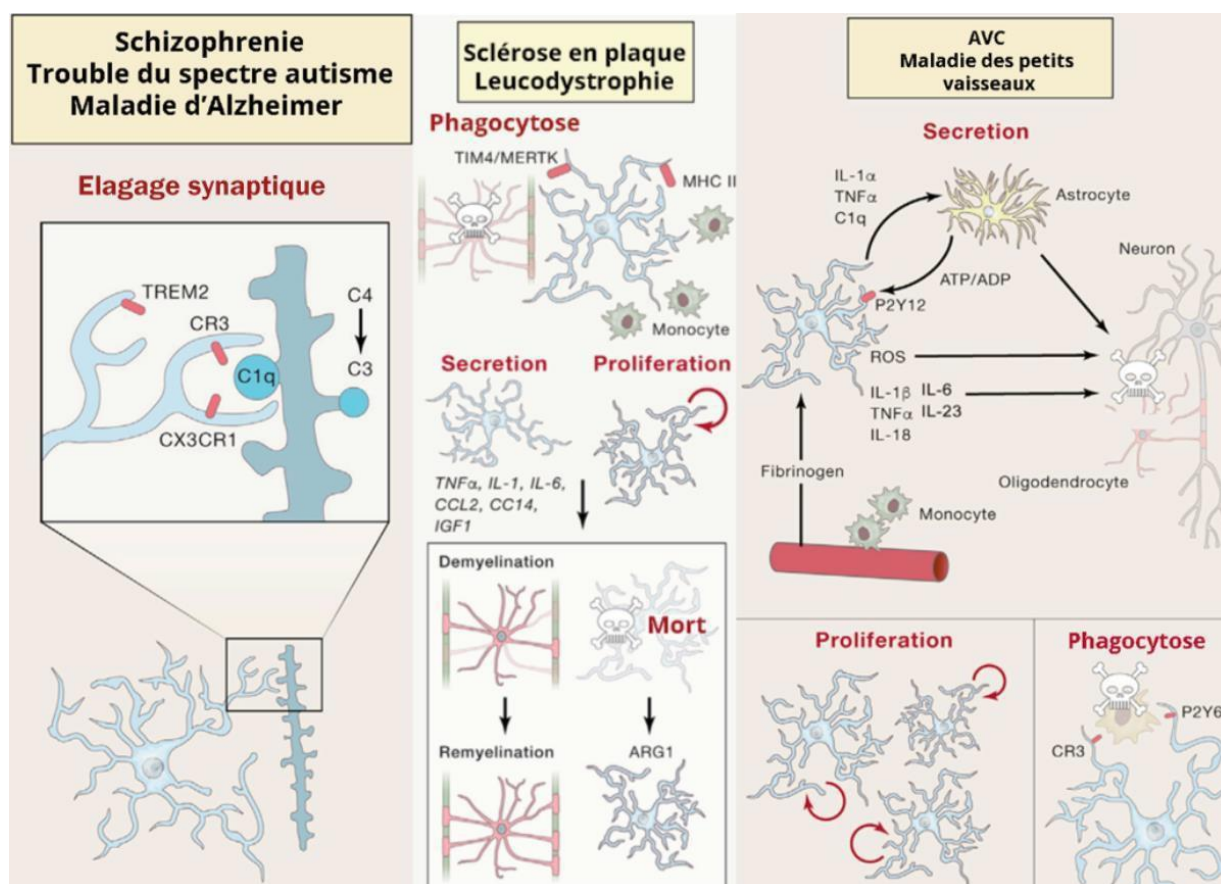
2016). À ce stade, la microglie adopte une forme amiboïde mobile dépourvue de ramifications, ce qui témoigne de leur activation cellulaire (Lawson, Perry, and Gordon 1992). À l'âge adulte, la microglie exprime une combinaison de marqueurs tels que Iba1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1), CD11b, Lysozyme M et CX3CR1. L'expression du gène *cxc3r1* joue un rôle clé dans l'élimination des neurones apoptotiques par phagocytose. Au cours du développement, la microglie participe à la régulation de la neurogenèse. De plus, l'étude de souris CX3CR1<sup>CreER</sup> (dont l'inactivation conditionnelle du gène *cxc3r1* de la microglie est inducible par le tamoxifène) a montré une perte de la formation synaptique associée à des défauts d'apprentissage chez la souris (Parkhurst et al. 2013). D'autre part, l'activation de la microglie chez la souris adulte estréalisée via l'activité tonique du canal potassique THIK-1 permettant d'induire la ramification et la surveillance microgliale (Madry et al. 2018).

Récemment des études transcriptomiques comparatives ont permis l'identification d'une nouvelle protéine transmembranaire TMEM119, spécifique de la microglie (Zhang et al. 2014; Bennett et al. 2016) ce qui constitue un nouvel outil indispensable à l'observation et à la compréhension des processus homéostatiques exercés par la microglie.

#### *b) Fonction de la microglie en conditions pathologiques*

L'une des caractéristiques de la microglie repose sur leur transformation en réponse à des pathologies du système nerveux central comme décrit par les premières études de Pío del Río-Hortega (Hortega 1921). Cette transformation se déroule comme un continuum, avec des étapes intermédiaires impliquant des changements dans l'expression des gènes, de morphologie, de motilité, de migration, de phagocytose, de prolifération et de la mort, **Figure 15**. En effet, dans les minutes qui suivent une blessure aigüe, les processus microgliaux convergent vers le site de la lésion du SNC et, quelques heures à quelques jours plus tard, la microglie réactive s'installe sur le site où elle évolue vers des formes amiboïdes ou hyper ramifiées (Stence, Waite, and Dailey 2001; Davalos et al. 2005; Nimmerjahn, Kirchhoff, and Helmchen 2005). La chimiotaxie de la microglie vers le site lésé est assurée via l'activation du récepteur microgliale P2Y12, qui va ensuite se fixer à l'ATP (ou ADP) sécrété par les cellules neuronales (Davalos et al. 2005; Haynes et al. 2006). Dans un contexte inflammatoire induit par l'injection de lipopolysaccharides (LPS), la réponse microgliale est induite par des cytokines sériques transitoires et n'est pas stimulée par le TLR2 (Toll Like Receptor 2) dont l'infiltration du parenchyme cérébral est restreinte (Banks and Robinson 2010; Shemer et al. 2020). En effet, ce dernier est connu comme étant un récepteur impliqué dans l'activation de la microglie, suite à son interaction avec l' $\alpha$ -synucléine présente au niveau de la substance grise et de l'hippocampe de patients atteints de la maladie de Parkinson (Dutta et al. 2021). Ces résultats suggèrent que la réponse microgliale observée dans des maladies neurodégénératives est distincte de celle induite par l'inflammation. Par ailleurs,

une autre étude a démontré une différence phénotypique microgliale entre le mésencéphale et le striatum ce qui témoigne d'une hétérogénéité région dépendante (Abellanas et al. 2019; Süß et al. 2020). De plus, elle peut présenter un profil pro-inflammatoire dit « M1 » ou anti-inflammatoire dit « M2 » (Guo, Wang, and Yin 2022). Enfin, dans un modèle de sclérose en plaques murin, en réponse à la démyélinisation, la microglie présente des différences de niveaux d'expression de marqueurs inflammatoires ainsi que de marqueurs liés au CMH-II (Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II) **Figure 15**. Ces mêmes différences sont observées chez les patients atteints de la SEP, confirmant ainsi une hétérogénéité microgliale (Hammond 2016; Masuda et al. 2020).



**Figure 15 : La microglie induit et participe à la réponse des maladies du SNC.**

Les cellules microgliales représentées en bleu clair subissent des transformations en réponse aux pathologies. La phagocytose excessive des synapses est réalisée par les récepteurs du complément (C3 et C4), de la fractalkine (CX3CR1) et des purines contribuant à des maladies neurologiques et psychiatriques. La microglie réactive sécrète des cytokines pro-inflammatoires telles que : l'IL-1b, le TNF-a, l'IL-18, l'IL-6, ou l'IL-23, qui agissent sur les cellules neuronales et sur les cellules immunitaires dérivées de la périphérie (monocytes) pendant la neuroinflammation. La microglie peut également acquérir un phénotype pro-régénératif et exprimer l'arginase 1 (ARG1) et l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor One). Des phénotypes microgliaux associés à des maladies caractérisées par des signatures transcriptomiques spécifiques dont la détection est notamment recensée dans les cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer et de la sclérose en plaques. Modifié d'après (Uriarte Huarte et al. 2021).

## 2. Astrocytes

Les astrocytes ont été décrits pour la première fois au XIX<sup>ème</sup> siècle par Michael von Lenhossék. L'identification de leurs morphologies étoilées ont permis d'établir leur caractérisation en deux sous-groupes. On distingue les astrocytes protoplasmiques qui présentent de nombreuses ramifications courtes, situés dans la substance grise et les astrocytes fibreux localisés au niveau de la substance blanche (Andriezen 1893). En outre, il existe certaines cellules astrogliales spécialisées, comme les cellules de Müller dans la rétine et les cellules gliales de Bergmann dans le cervelet (Emsley and Macklis 2006). Santiago Ramón y Cajal a mis en évidence une régionalisation spécifique des astrocytes dans le cerveau humain, suggérant ainsi une potentielle hétérogénéité fonctionnelle (García-Marín, García-López, and Freire 2007). En effet, en fonction du micro-environnement, les astrocytes ont le potentiel de promouvoir ou d'arrêter l'inflammation et la neurodégénérescence.

### *a) Structure et rôle métabolique des astrocytes dans le SNC*

Dans le SNC des mammifères, les astrocytes représentent environ 20 à 40 % du nombre total de cellules cérébrales (Herculano-Houzel 2014). Les astrocytes sont des cellules dites « étoilées » de par leur morphologie définie par un corps cellulaire allongé et de nombreuses ramifications qui s'étendent jusqu'à 200 µm chez l'homme contre 30 à 60 µm chez le rongeur (Oberheim et al. 2009; Oberheim, Goldman, and Nedergaard 2012). Cette particularité est illustrée lorsque les astrocytes interagissent entre eux afin d'établir un réseau aussi appelé « syncytium » permettant la diffusion de petites molécules telles que des acides aminés, mais également d'ions K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> ou Na<sup>+</sup> (Giaume 2010; Giaume and Naus 2013). Des études par imagerie, sur des tissus humains post-mortem, ont permis de dresser différentes structures d'astrocytes qui sont caractérisés par une forte expression de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) (Oberheim, Goldman, and Nedergaard 2012). De plus, quatre classes d'astrocytes GFAP<sup>+</sup> structurellement et anatomiquement distinctes existent dans le cerveau humain (**Figure 16**) : interlaminaire, situé dans les couches I et II ; protoplasmique dans les couches III et IV ; projections variqueuses dans les couches V et VI ; et astrocytes fibreux dans la substance blanche (Oberheim et al. 2006; Vasile, Dossi, and Rouach 2017), **Figure 16.**

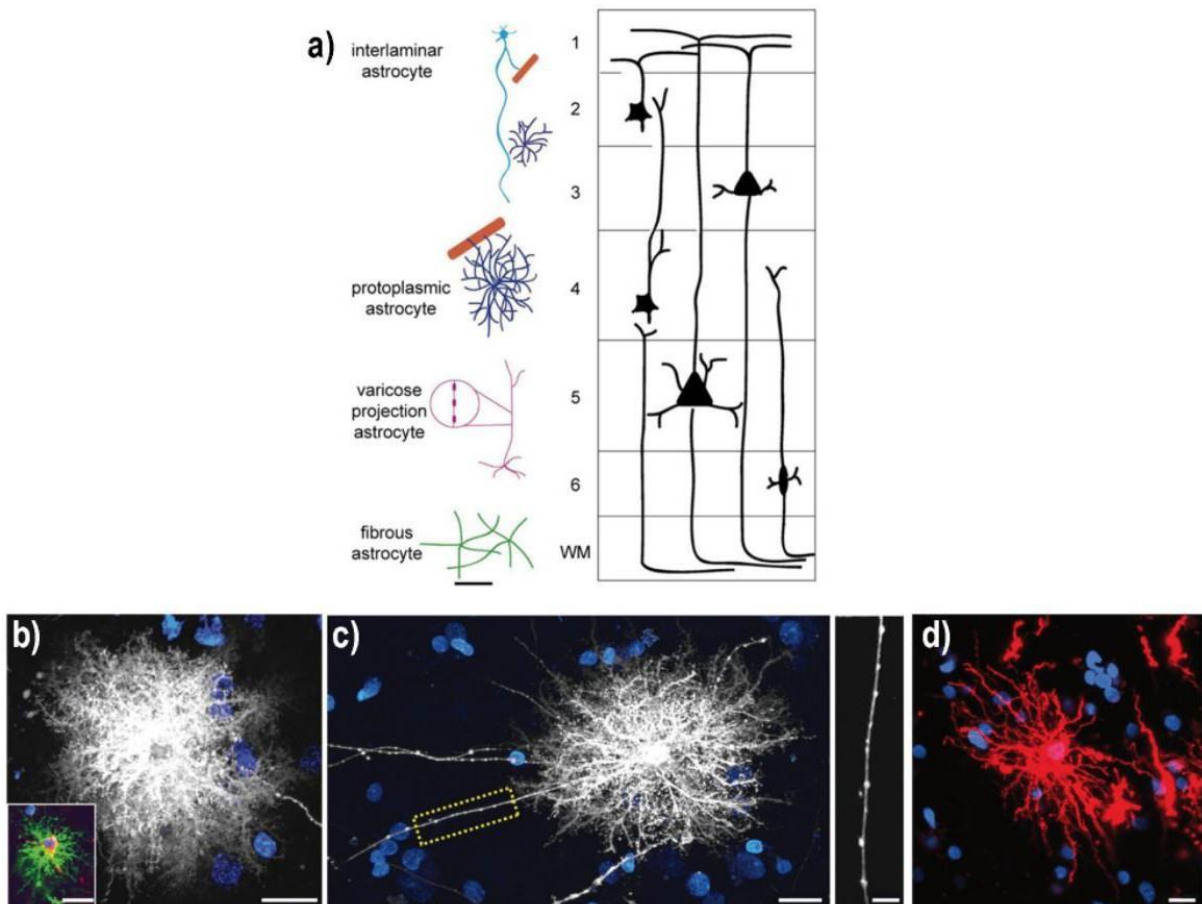


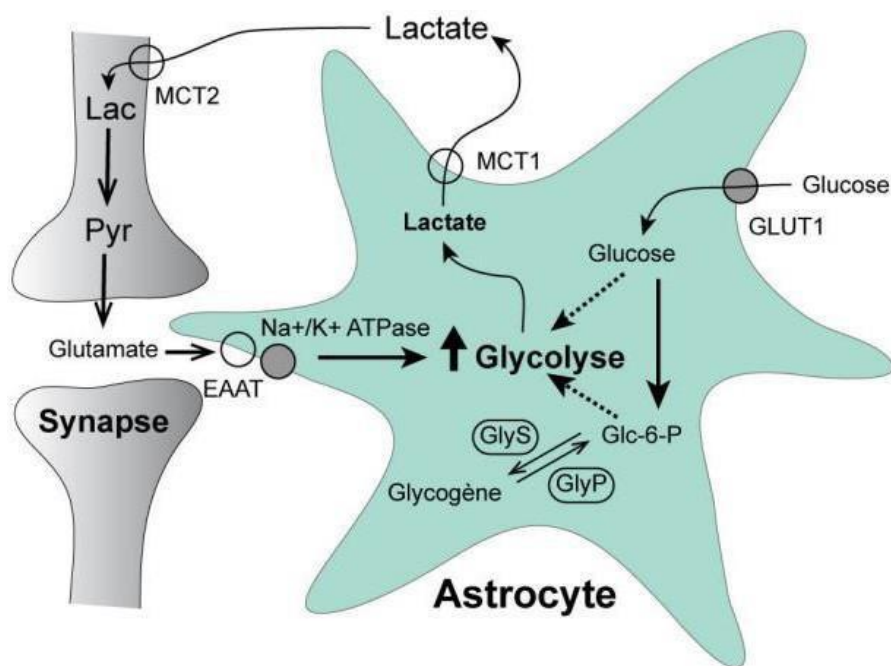
Figure 16 : Différentes classes d'astrocytes dans le cerveau humain.

(a) Localisation des quatre types distincts d'astrocytes humains dans les différentes couches du cortex. Barre d'échelle 100  $\mu\text{m}$ . (b) Présentation d'un astrocyte protoplasmique humain marqué au dioxyde de carbone. En médaillon, colocalisation avec la GFAP (vert). Barres d'échelle 20  $\mu\text{m}$  ; (c) Projection variqueuse (à gauche) et vue agrandie de la zone indiquée par la boîte jaune (à droite), qui met en évidence les varicosités le long des processus. Barres d'échelle à gauche, 20  $\mu\text{m}$  ; à droite, 10  $\mu\text{m}$ . (d) Présentation d'astrocyte fibreux humain. Barre d'échelle 20  $\mu\text{m}$ . Modifié d'après (Vasile, Dossi, and Rouach 2017)

### b) Rôle des astrocytes dans l'homéostasie

Les astrocytes dérivent de cellules neurales de la zone subventriculaire (SVZ) d'où elles migrent le long de la glie radiale afin de coloniser le SNC. Au stade mature, les cellules astrocytaires participent à des processus d'homéostasie cérébrale tels que le recyclage des neurotransmetteurs, la balance ionique, la modulation de la synaptogénèse ainsi que le maintien de la barrière hématoencéphalique (BHE). Cette barrière est désignée comme constituant « la limite gliale », où les astrocytes entourent les cellules endothéliales, les péricytes et la lame basale (Alvarez, Katayama, and Prat 2013; Sofroniew 2015). Par ailleurs, ces dernières participent au support structural et trophique des neurones grâce à l'expression de canaux potassiques, permettant le nettoyage extracellulaire modulent l'excitabilité neuronale. À l'inverse, la diminution des canaux potassiques conduit à une augmentation du potassium

extracellulaire et augmente significativement l'excitabilité neuronale, ce qui contribue aux processus pathologiques observés notamment dans les maladies d'Huntington et de Parkinson (Silver, Deas, and Erecińska 1997; Somjen 2002; Khakh et al. 2017). En parallèle, une élévation des ions potassiques est corrélée à une augmentation des ions calciques, favorisant la sécrétion de lactate par les astrocytes. Le lactate est alors utilisé par les neurones afin de répondre à leur besoin énergétique. De plus, les astrocytes permettent de répondre au besoin énergétique en glucose du SNC. En effet, bien que le cerveau représente 2% du poids total du corps, sa consommation en glucose s'élève à plus de 25% (Mergenthaler et al. 2013). Pour répondre à ce besoin, les astrocytes dont les pieds tapissent la BHE captent le glucose de la circulation sanguine par le biais de transporteurs (GLUT) afin de réaliser sa transformation en lactate. Ce dernier est alors libéré dans le domaine extracellulaire neuronal, permettant ainsi sa transformation en ATP qui constitue le substrat énergétique des neurones **Figure 17**. Ce phénomène est désigné par le terme de l'ANS pour « Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle » (Pellerin and Magistretti 1994).



**Figure 17 : Mécanisme de transformation du glucose par les astrocytes.**

Le glucose libre est absorbé par les astrocytes via leurs transporteurs GLUT1 où il est converti en glucose-6-phosphate (Glc-6-P). Le Glc-6-P est ensuite transformé en glycogène par le glycogène synthase (GlyS), puis stocké par les astrocytes. Lors d'une plus grande demande énergétique, le mécanisme de glycogénolyse permet la production de Glc-6-P par l'intermédiaire du glycogène phosphorylase (GlyP) pour la glycolyse. La transmission synaptique induit la glycolyse astrocytaire et donc la production de lactate par absorption du glutamate présent dans la fente synaptique par les récepteurs EAAT. Ceci augmente la consommation de glucose et/ou la dégradation du glycogène dans les astrocytes. Le lactate produit par les astrocytes est transporté dans l'espace extracellulaire par le MCT1 (transporteur au monocarboxylate) et absorbé par les neurones grâce au MCT2. Les neurones peuvent convertir le lactate (Lac) en pyruvate (Pyr) par phosphorylation oxydative. D'après (Stobart and Anderson 2013)

L'implication des astrocytes dans la mort neuronale par excitotoxicité résulte d'un dysfonctionnement des transporteurs de glutamate astrocytaire tels que le EAAT1 et 2 (le transporteur d'acides aminés excitateur 1 et 2) (Schousboe and Waagepetersen 2005). Ces derniers participent à la régulation du glutamate généré par les cellules neuronales (Duan et al. 1999; Anderson and Swanson 2000). Ainsi, un relargage excessif de glutamate conduit à une pathogénicité notamment retrouvée dans des maladies neurodégénératives. Tous ces éléments témoignent donc du rôle des astrocytes dans l'homéostasie et le contrôle synaptique à l'état physiologique.

*c) Rôle des astrocytes dans le contexte pathologique de la sclérose en plaques (SEP)*

Les astrocytes réactifs participent à la fois à la neurotoxicité, mais aussi à la neuroprotection de la SEP. La caractérisation des astrocytes réactifs de la SEP, a permis de mettre en évidence un sous-ensemble de cellules définies par l'expression d'une protéine du complément C3, du facteur de transcription MAF bZIP (MAFG) (Wheeler et al. 2020), combiné au facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF). L'expression simultanée de ces acteurs favorise l'inflammation et la neurodégénérescence au cours de la maladie (Liddel et al. 2017). À l'inverse, un sous-ensemble d'astrocytes anti-inflammatoires a été identifié par l'expression de la glycoprotéine 1 de la membrane associée au lysosome (LAMP1 ; également connue sous le nom de CD107a) et du ligand inducteur d'apoptose lié au facteur de nécrose tumorale (TRAIL, également connu sous le nom de TNFSF10) (**Figure 18**). L'expression conjointe de LAMP1 et TRAIL par les astrocytes, va permettre de limiter la pathogénèse de l'EAE en induisant l'apoptose des lymphocytes T via la signalisation du récepteur de mort TRAIL 5 (Sanmarco et al. 2021). Par ailleurs, les astrocytes participent également à l'infiltration des leucocytes et notamment des lymphocytes T via l'expression de molécules pro-apoptotiques telles que les récepteurs de mort FASL et TRAIL (Wang et al. 2013; Sanmarco et al. 2021). Cependant, la réponse astrocytaire est régulée par les lymphocytes T. En effet, l'IL-10 produit par ces derniers limite l'activation des astrocytes et limite la neuroinflammation (Mayo et al. 2016). En outre, la signalisation déclenchée par le GM-CSF, une cytokine importante pour l'activité pathogène des lymphocytes T de la SEP (Becher, Tugues, and Greter 2016; Wicks and Roberts 2016), favorise la différenciation des astrocytes pathogènes dirigés par le MAFG. Ces astrocytes ne sont plus en mesure de répondre aux besoins métaboliques neuronaux ni de limiter le stress oxydatif et vont en parallèle exercer une activation des programmes transcriptionnels qui vont favoriser l'inflammation et la neurodégénérescence (Wheeler et al. 2020; Clark et al. 2021). La signalisation des GM-CSF limite également les fonctions anti-inflammatoires des astrocytes en autorégulant l'expression du TRAIL, ce qui témoigne du rôle clé de cette cytokine dans la régulation de l'équilibre entre les sous-ensembles d'astrocytes pro- et anti-inflammatoires de la SEP (Clark et al. 2021).



Parmi, les nombreux événements pathologiques de la SEP, on retrouve un métabolisme anormal des sphingolipides (Alaamery et al. 2021). En effet, les récepteurs de la sphingosine 1-phosphate (S1P) ont été démontrés comme étant surexprimés par les astrocytes au niveau des lésions chroniques de la SEP. Les chercheurs ont procédé à la déplétion spécifique du S1P au sein des astrocytes, ce qui a conduit à une diminution de la démyélinisation et de la perte axonale (Choi et al. 2011).

Les modifications de la méthylation de l'ADN ont été associées à la pathogenèse de la SEP (Huynh and Casaccia 2013). Les chercheurs se sont donc intéressés à une population d'astrocytes pathogènes retrouvés dans la SEP dont l'expression est définie par une diminution du facteur de transcription NRF-2 et une expression accrue de MAFG. En effet, dans un contexte d'inflammation du SNC, l'homodimérisation du MAGF entre en compétition avec le NRF2 et se lie à des éléments de réponse de l'ADN afin de favoriser le recrutement d'ADN méthyltransférases (Katsuoka and Yamamoto 2016). La méthylation de l'ADN est alors réalisée, ce qui conduit à une expression accrue de MAFG dans les astrocytes favorisant les activités pathogéniques des astrocytes et l'inflammation du SNC, en régulant à la baisse la signalisation NRF2 (Bordon 2020).

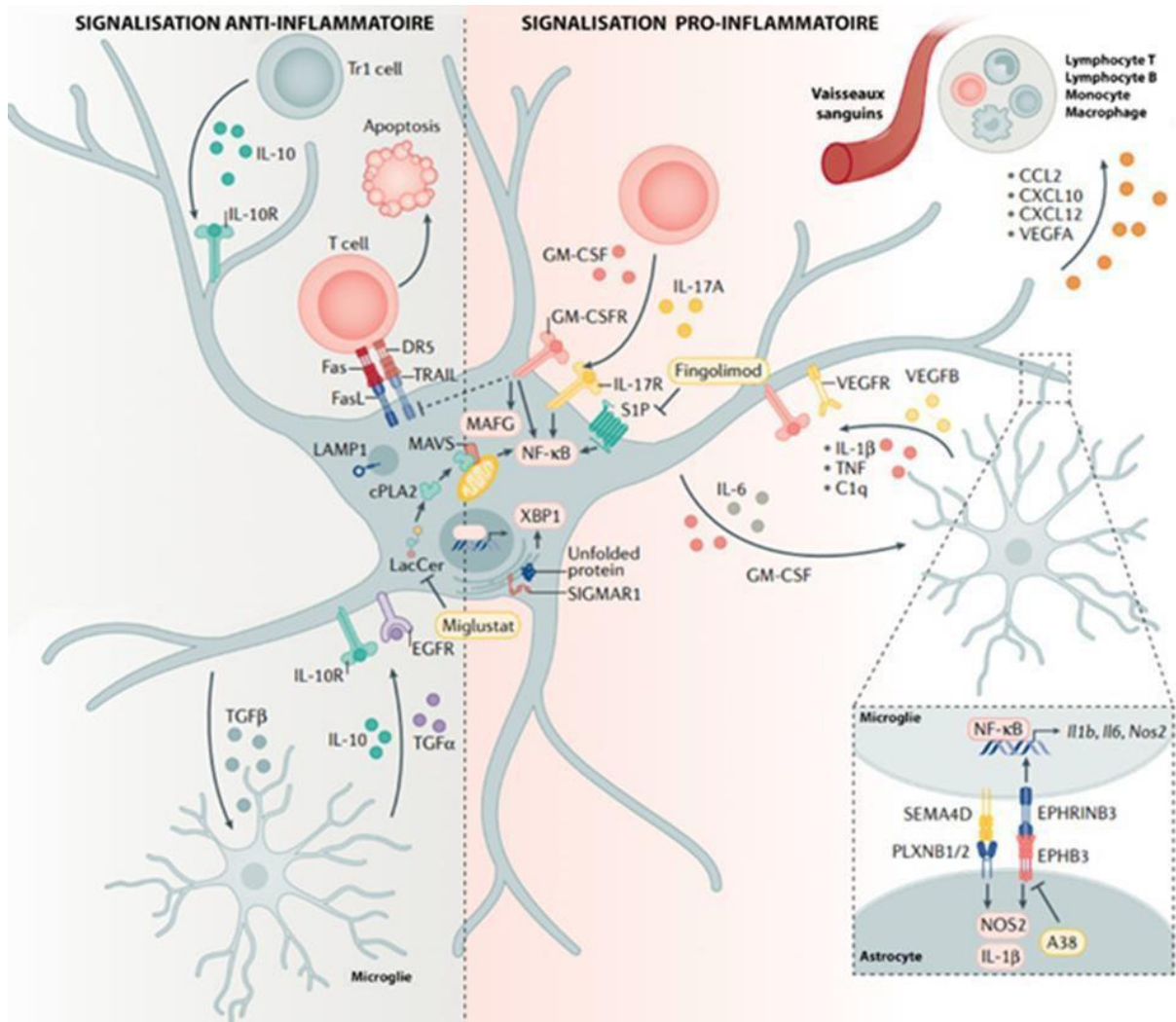


Figure 18 : Rôles des astrocytes dans l'inflammation du SNC.

Les astrocytes sont des acteurs actifs dans l'inflammation du système nerveux central (SNC), où ils ont à la fois des rôles pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. En raison de leurs interactions avec d'autres cellules et molécules du SNC, les astrocytes sécrètent différentes cytokines, chimiokines et molécules neuromodulatrices dont ; cPLA2, phospholipase A2 cytosolique ; CXCL12, C-X-C motif chemokine ligand 12; phospholipase A2 ; CXCL10, C-X-C motif chemokine ligand 10 ; DR5 récepteur de mort 5 ; EGFR récepteur du facteur de croissance épidermique ; EPHB3 récepteur de l'éphrine type B ; EPHNB3 éphrine B3 ; GM-CSF facteur stimulant la colonie decolony-stimulating factor ; IFNγ interféron-γ ; LacCer lactosylceramide

;LAMP1, glycoprotéine 1 de la membrane associée aux lysosomes ; MAFG facteur de transcription MAF Bzip ; MAVS protéine de signalisation antivirale mitochondriale ;NF-κB facteur nucléaire-κB ; PLXNB plexine B ; SEMA4D semaphorine4D ; S1P, sphingosine 1-phosphate SIGMAR1 récepteur sigma 1 protéine chaperon au niveau du réticulum endoplasmique ; TGF, facteur de croissance transformant ; TNF facteur de nécrose tumorale ; Tr1 lymphocyte T régulateur de type 1 ; TRAIL TNF-related apoptosis-inducing ligand ; VEGF, vascular endothelial vasculaire endothélial ; XBP1, protéine 1 de liaison à la boîte X. Modifié d'après (Lee, Wheeler, and Quintana 2022)



Le dialogue entre les astrocytes et d'autres cellules gliales notamment la microglie et les oligodendrocytes peut contribuer aux processus pathogènes ou au contraire à un retour vers des conditions homéostatique. Les interactions entre les astrocytes et la microglie, par l'intermédiaire de composants tels que la semaphorine4D- plexineB1/2 et l'ephrinB3-EPHB3, favorisent l'inflammation du SNC (Clark et al. 2021).

Quant aux oligodendrocytes (OL), les astrocytes leur assurent un support trophique. En effet, le fer présent dans la circulation sanguine est capté par les pieds astrocytaires de la BHE afin de favoriser plusieurs fonctions enzymatiques des OL, telles que les enzymes du métabolisme énergétique, notamment la chaîne respiratoire mitochondriale, les complexes protéiques I-IV, qui l'utilisent comme cofacteur (Stephenson et al. 2014; Jiasi Li et al. 2016). Lorsque les OL sont privés de Fer, on assiste à une altération des mécanismes de prolifération et de différenciation des OPCs menant à un retard de remyélinisation. De plus, la privation de fer conduit à une distribution anormale des OL ce qui est corroboré, chez les patients SEP dont l'altération du métabolisme du fer est décrite dans des études précédentes (Morath and Mayer-Pröschel 2002; Stephenson et al. 2014).

Par ailleurs, des études précédentes ont montré que le syncytium astrocytaire établit des jonctions avec les oligodendrocytes médiés par les connexines 43 et 30 (Orthmann-Murphy, Abrams, and Scherer 2008; Giaume and Naus 2013), et s'avère fortement impliqué dans le phénomène de myélinisation. En effet, la déplétion totale, chez la souris, de la connexine 30 et de la connexine 43 spécifique aux astrocytes, entraîne une diminution du nombre d'OL matures ainsi qu'une diminution de l'une des protéines majeures de la myéline du SNC (MBP) (Lutz et al. 2009). De plus, la diminution d'expression des connexines 47 et 32 par les OL contribue à l'exacerbation des scores neurologiques des souris EAE (Encéphalomyélite Auto-immune Expérimentale, voir plus bas), ce qui est en concordance avec les observations des plaques actives des patients SEP (Masaki 2015; Papanephytou et al. 2018).

La nécessité des astrocytes réactifs dans le phénomène de remyélinisation médié par les OL a été largement décrite (Blakemore, Gilson, and Crang 2003; Talbott et al. 2005; Bielecki et al. 2016; Lohrberg et al. 2020). Lors d'une démyélinisation, les astrocytes adoptent pour une forme dite réactive caractérisée par une hypertrophie et augmentation des expressions des protéines de la GFAP et de la vimentine. L'activation des astrocytes réactifs est stimulée par la sécrétion de l'IL-1 $\beta$  par la microglie, entraînant l'expression du facteur neurotrophique ciliaire CTNF, favorisant la myélinisation *in vitro* (Nash, Ioannidou, and Barnett 2011). De plus, les astrocytes réactifs secretent des facteurs trophiques tels que le facteur inhibiteur de la leucémie (LIF) et le BDNF qui participent à la survie des OL dans les phénomènes de remyélinisations (Butzkueven et al. 2002; Miyamoto et al. 2015). Inversement, l'absence de réactivité des astrocytes est directement associée à un défaut de migration et/ou de

différenciation des OPC notamment dans les lésions chroniques de SEP (de Castro, Bribián, and Ortega 2013; Franklin and Ffrench-Constant 2017).

### 3. Les oligodendrocytes : cellules myélinisantes

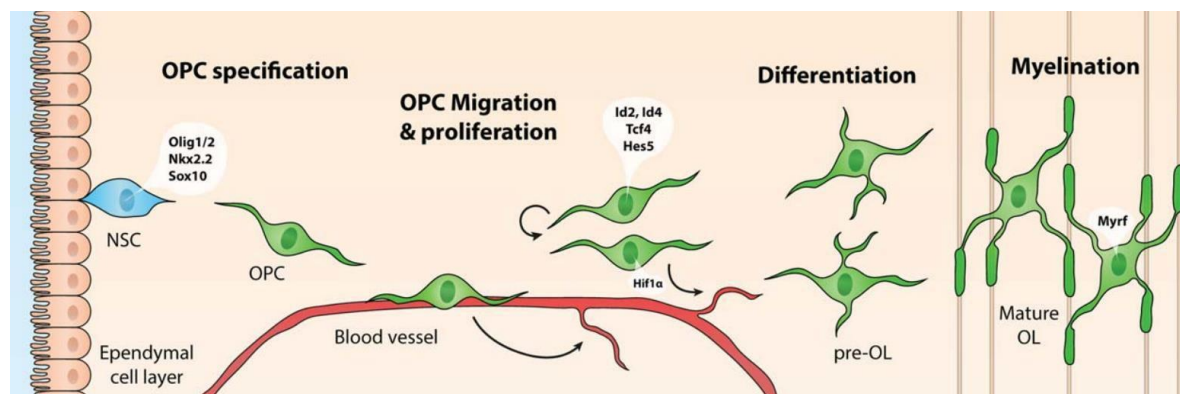
Les oligodendrocytes (OL) sont les cellules spécialisées dans la synthèse de la gaine de myéline du SNC. Leurs nombreux prolongements cytoplasmiques permettent d'enrouler plusieurs axones afin d'assurer leurs isollements ainsi que d'augmenter la conduction de l'influx nerveux (Nashmi and Fehlings 2001; Hartline and Colman 2007). Outre la production de myéline, les OL fournissent un important soutien trophique aux neurones (Garbern et al. 2002; Fünfschilling et al. 2012; Nave and Werner 2014; Duncan et al. 2020).

#### a) *Oligodendrogénèse*

Les oligodendrocytes (OL) sont les dernières cellules gliales générées après les neurones et les astrocytes au cours du développement. La production d'OL est initiée au niveau du cerveau antérieur et à partir de progéniteurs d'oligodendrocytes (OPC) dont la synthèse est réalisée sous forme de plusieurs vagues. Chez la souris, une première vague a lieu au jour embryonnaire E12,5 à partir de la glie radiale ventrale située dans la zone ventriculaire de l'éminence ganglionnaire médiane (Kessar et al. 2006; Young et al. 2007; Obernier and Alvarez-Buylla 2019). Les OPC vont alors exprimer la protéine Nkx2.1. Chez l'homme, ce même processus a lieu dès la 7,5<sup>ème</sup> semaine de gestation (Buchetet et al. 2011). Au fur et à mesure du développement, les éminences ganglionnaires latérales et caudales (Gsh2 positif) génèrent des OPC dès E15.5 (seconde vague). Enfin la troisième et dernière vague d'OPC provient des précurseurs corticaux Emx1+ (Naruse et al. 2016) au jour post natal 0 qui proviennent des zones ventriculaires dorsales (Kessar et al., 2006). De plus, il a été démontré que l'ablation d'une seule vague d'OPC n'affecte pas leur nombre total ou la myélinisation dans le cortex adulte, ce qui suggère un mécanisme de compensation entre les vagues de générations d'OPC au cas où l'une d'entre elles serait affectée (Kessar et al., 2006 ; Richardson et al 2006).

Tous les OPC migrent à partir de la zone ventriculaire pour peupler l'ensemble du télencéphale où ils constituent 5% de la population cellulaire totale et, ce sont celles qui prolifèrent le plus (Levine, Reynolds, and Fawcett 2001; Dawson et al. 2003). Afin de réaliser la myélinisation des axones du SNC, la migration des OPC doit s'effectuer de leur site d'origine vers la substance blanche en développement (Lachapelle et al. 1983). Du fait de la distance spatiale, les OPC vont migrer le long des vaisseaux sanguins. Ce processus est régulé par la voie de signalisation Wnt (Tsai et al. 2016; Niu et al. 2019). Leur prolifération excessive subséquente, en particulier dans la substance blanche, conduit à un pool

abondant de progéniteurs dans tout le cerveau et la moelle épinière (Miller et al. 1997). Ces OPC dérivées de cellules souches neurales (CSN) se différencient en OL immatures pré-myélinisantes (pré-OL) et finalement en OL matures qui entrent en contact avec les axones neuronaux afin d’initier la synthèse de la gaine de myéline (**Figure 19**) (Emery 2010; van Tilborg et al. 2018).



**Figure 19 : Représentation schématique du développement des oligodendrocytes (OL) et des facteurs de transcription qui contribuent à leur progression.**

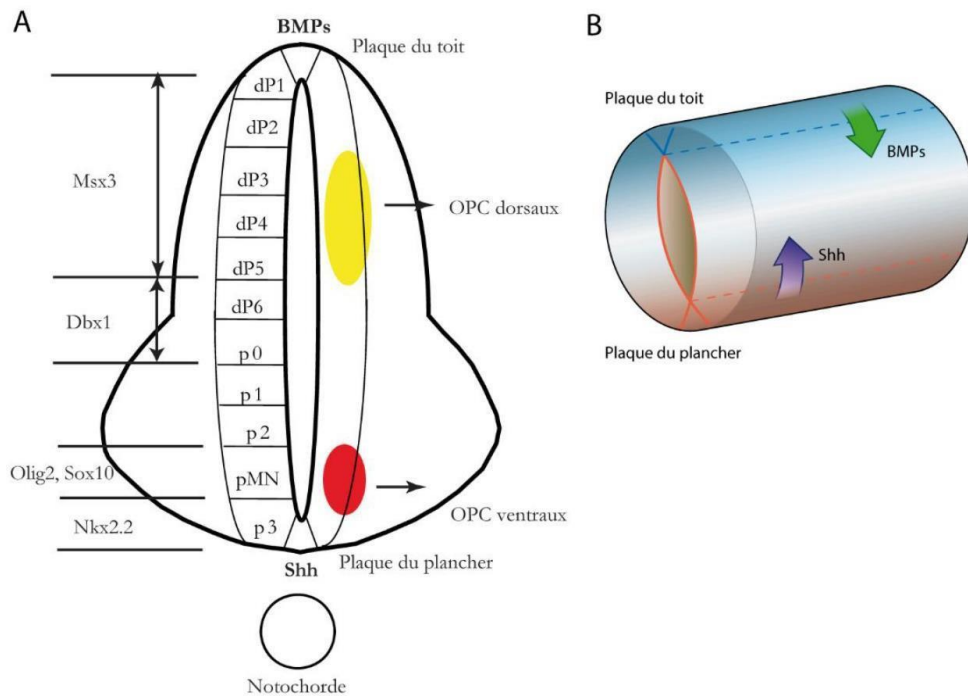
Les OPC proviennent des zones neuroépithéliales entourant les ventricules, où les cellules souches neurales (NSC) se différencient en OPC sous l'influence des facteurs de transcription Olig1/2, Nkx2.2 et Sox10 spécifiques aux OL. Les OPC migrent vers un site approprié le long des vaisseaux sanguins. Leur prolifération est régulée par des facteurs de transcription tels que Id2, Id4, Tcf4 et Hes5. Ensuite, les OL se différencient en OL pré-myélinisants (pré-OL) et finalement en OL matures afin d’envelopper les axones neuronaux de gaines de myéline. D’après (van Tilborg et al. 2018).

De plus en plus d’études suggèrent que les OPC et les OL matures ont des fonctions diversifiées. Ces études transcriptomiques, protéomiques et électrophysiologiques suggèrent que ces fonctions spécifiques seraient liées à l’état cellulaire et à son environnement plutôt qu’au type cellulaire. Néanmoins, ces signatures pourraient être interprétées par la présence de populations spécifiques d’OPC donnant peut-être naissance à des populations d’oligodendrocytes spécifiques (Marques et al. 2016; Spitzer et al. 2019; Kamen et al. 2022)

Il est intéressant de noter que les OPC exprimant le Nkx2.1 sont rapidement éliminés au cours de la vie postnatale sans que cela n’affecte le nombre total d’OPC. En effet, une étude a montré que la délétion conditionnelle de Nkx2.1, Gsh2 ou Emx1 des OPC n’est pas délétère puisque les OPC restants, vont rapidement se développer afin de régénérer un nombre normal de cellules dans le cerveau mature (Kessaris et al. 2006). Bien que les OPC aient une capacité proliférative importante, une partie des OPC générés au cours du développement est maintenue tout au long de l’âge adulte dans un état immature à prolifération lente, ou quiescente (Dawson et al. 2003). Ce phénomène est illustré dans la répartition des OPC au niveau de la substance blanche et grise. En effet, alors que les OPC de la substance blanche prolifèrent et se différencient en oligodendrocytes myélinisants, ceux présents

au niveau de la substance grise sont quiescents ou prolifèrent lentement (Dimou et al. 2008). Malgré les différences régionales d'expression des marqueurs, les OPC adultes expriment les mêmes marqueurs que les cellules OPC embryonnaires (Blakemore and Franklin 2008). Ces derniers peuvent être ainsi, identifiés tout au long de la vie en fonction de leur expression du récepteur mitogénique : le récepteur  $\alpha$  du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR $\alpha$ ) (Rivers et al. 2008), le protéoglycane NG2 (Zhu, Bergles, and Nishiyama 2008) et des facteurs de transcription tels que SOX10 et OLIG2 (Fancy, Zhao, and Franklin 2004), **Figure 20**. Par ailleurs, au cours du développement des vertébrés, l'un des morphogènes majeurs est le Sonic Hedgehog (Shh). En effet, la protéine Hedgehog (Shh) est nécessaire à la formation de la plupart des OPC au cours de l'embryogenèse précoce (Orentas et al. 1999; Cai et al. 2005). Cette dernière est produite par la notochorde, qui est essentielle au développement de l'axe dorso-ventral du SNC (van Straaten and Drukker 1989; Echelard et al. 1993). Les OPC et les motoneurones proviennent de zones similaires du tube neural ventral au cours du développement et ont besoin de quantités égales de Shh pour apparaître. Cependant, des expériences *in vitro* de cellules déficientes en Shh ont démontré que la protéine n'est pas indispensable pour la formation des OPC (Roelink et al. 1994; Pringle et al. 1996), tandis que les souris dépourvues de notochorde présentent un phénotype plus sévère avec une absence de développement d'OPC (Pringle et al. 1996). (Cai et al. 2005) ont corroboré ces résultats *in vivo*, en démontrant la génération indépendante de Nkx6 et de Shh d'une sous-population d'OPC ce qui témoigne de l'implication d'autres voies moléculaires. En effet, la Shh est importante pour la synchronisation de la génération des OPC, comme l'a montré une étude récente (Hashimoto et al. 2018). En outre, la production des OPC par la seconde vague semblerait être induite par le FGF (Fibroblaste Growth Factor) ainsi que par la protéine BMP (Bone Morphogenetic Protein), indépendamment de la Shh (Fogarty, Richardson, and Kessaris 2005; Rowitch and Kriegstein 2010; Zhu et al. 2011), **Figure 20**.

Finalement, des mécanismes épigénétiques étroitement régulés, tels que la méthylation de l'ADN et la modification des histones, ont été récemment mis en évidence dans la régulation de la différenciation des OPC qui sont distinctes, dans différents stades de développement et dans la régénération de la myéline (Tiane et al. 2019).



**Figure 20 : Représentation schématique des zones d'émergences des cellules progénitrices d'oligodendrocytes (OPC) au cours du développement.**

**A.** Les facteurs Shh et BMP entraînent la division du tube neural en plusieurs domaines progéniteurs autour du canal central. Cette paternisation du tube neural entraîne l'expression spécifique de facteurs de transcription dans chaque domaine. En fonction de ces facteurs, deux zones représentées en rouge et en jaune donnent naissance aux deux vagues d'OPC au cours du développement (Kettenmann and Ransom 2013). **B.** Le neuroépithélium primitif du tube neural est modelé par des signaux organisateurs. Ces signaux émanent de la plaque de plancher ventrale (comme la SHH, en violet) et la plaque de toit (BMPs et WNTs, vert). D'après (Rowitch and Kriegstein 2010).

### b) Distribution des OPC et des OL dans le CNS

Les OPC ne représentent que 5 à 8 % de l'ensemble des cellules gliales (Levine, Reynolds, and Fawcett 2001) et sont répartis uniformément dans la substance blanche et la substance grise. Les OPC étant légèrement moins abondantes dans la substance grise (Levine, Reynolds, and Fawcett 2001). Cette hétérogénéité régionale est à l'origine de différences comportementales entre les OPC de la substance blanche et de ceux de la substance grise. En effet, les OPC exprimant le marqueur NG2+, en culture organotypique de cerveau, montrent une réponse proliférative plus importante au PDGF $\alpha$ , tandis que les OPC de la substance grise semblent être moins réactifs. De surcroît, leur analyse morphologique et génétique présente un défaut de maturation comparé aux OPC de la substance blanche (Hill et al. 2013; Lentferink et al. 2018). *In vivo*, davantage d'OPC se différencient en OL myélinisants comparé à ceux observés dans la substance grise dont l'expression des OPC se retirent au stade immature avec le marquage NG2+ (Dimou et al. 2008; Kang et al. 2010). Ces éléments suggèrent l'existence d'une réserve potentielle d'OPC à l'âge adulte. Dans le SNC adulte, la génération d'oligodendrocytes à partir des OPC est ralentie, ce sont donc les OPC de la substance blanche qui participent à environ 20 % de la

différenciation des OL myélinisants au niveau du corps calleux des souris, contre 5% dans le cortex (Rivers et al. 2008). Cependant, 20 % des cellules de la lignée oligodendrogliale de la substance grise corticale sont des oligodendrocytes différenciés puisqu'elles expriment le marqueur de maturation CNP (2',3'-Cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase). Toutefois, elles ne sont pas capables de myéliniser les axones. Récemment, les chercheurs ont démontré que les cellules NG2+ corticales sont très dynamiques. Elles entretiennent leur nombre par des processus de prolifération, de différenciation et d'autorépulsion (Hughes et al. 2013).

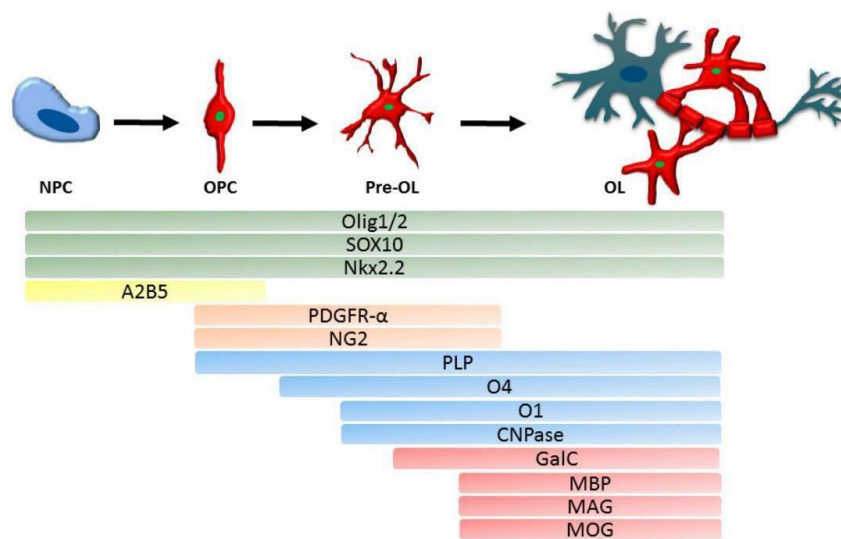
### *c) Marqueurs de développement des OPC*

Les OPC nouvellement formés sont caractérisés par l'expression de l'ARNm DM-20 codant pour un isoforme de la protéine majeure de la myéline PLP (protéine protéolipidique) (Timsit et al. 1995). Il existe de nombreux marqueurs qui permettent d'identifier le stade de développement des OL. Les plus importants sont représentés dans la **Figure 21**. Une fois les OPC engagés dans la voie de différenciation, ils peuvent être reconnus par le marqueur de surface A2B5 (Fok-Seang and Miller 1994). Cependant, des études *in vitro* ont montré que les cellules exprimant ce marqueur pouvaient également se différencier en cellules progénitrices d'astrocytes, appelées O-2A (cellules progénitrices d'oligodendrocytes de types 2 astrocytes) (Raff, Abney, and Miller 1984). En effet, ces cellules se différencient de manière constitutive en OL, cependant les signaux du micro-environnement peuvent rediriger la voie de différenciation vers les astrocytes (Hughes et al. 1988).

Les pré-oligodendrocytes s'engagent vers un axone cible et perdent ainsi leur bipolarité. Dès lors, la synthèse de la myéline est initiée. À ce stade de différenciation, les pré-oligodendrocytes sont caractérisés par l'expression de trois principaux marqueurs associés à la myéline, avec tout d'abord le CNPase, les marqueurs de surfaces cellulaires O4 et O1 (Sommer and Schachner 1981; Braun et al. 1988). La CNPase possède deux isoformes dont l'expression différentielle est dépendante du stade de différenciation. En effet, les OPC semblent exprimer l'isoforme le plus grand tandis que les OL myélinisant vont exprimer les deux isoformes de la protéine (Scherer et al. 1994). En outre les marqueurs O4 vont préférentiellement être exprimés par les OPC tardifs alors que le O1 est un marqueur spécifique des oligodendrocytes pré-myélinisant (Jakovcevski et al. 2009) **Figure 22**. Les oligodendrocytes matures myélinisants, sont caractérisés par la production

de protéines de la myéline, mais également par deux facteurs de transcription génétiquement apparentés, mais fonctionnellement différents (Olig1 et Olig2 ) (Zhou, Wang, and Anderson 2000; Zhou and Anderson 2002:1), dont l'expression est recensée tout au long du lignage oligodendrocytaire.

Les protéines de la myéline comprennent la protéine basique de la myéline (MBP) (Brunner et al. 1989; Linnington, Webb, and Woodhams 1984), qui est exprimée sur la surface cytoplasmique de la membrane cellulaire (Barbarese et al. 1988), la protéine transmembranaire PLP (Timsit et al. 1995; Michalski et al. 2011) (Timsit et al. 1995; Michalski et al. 2011), la glycoprotéine associée à la myéline (MAG) (Trapp et al. 1988) (Trapp 1990), le marqueur membranaire galactocérobroside (GalC) (Raff et al. 1978), et le marqueur de surface myéline-oligodendrocyte glycoprotéine (MOG) (Brunner et al. 1989). La MBP et la MAG apparaissent pour la première fois entre le 5<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour postnatal dans les oligodendrocytes murins du SNC tandis que la MOG apparaît un à deux jours plus tard (Dubois-Dalq et al. 1986). Il est intéressant de noter que la PLP a récemment été décrite comme étant exprimée dans les cellules Olig2+/PDGFR-α+ murines, ce qui en fait un marqueur précoce des OPC ayant un rôle dans l'extension des processus cellulaires (Harlow et al. 2014).



**Figure 21 : Représentation schématique des marqueurs de la lignée oligodendrogliale spécifiques des différents stades de développement à partir des cellules progénitrices neuronales (NPC) jusqu'aux oligodendrocytes mélinisants.**

A2B5 est un marqueur des cellules progénitrices neuronales (NPC) et des cellules progénitrices oligodendrocytaires (OPC), tandis que les marqueurs Olig1 et 2 ainsi que Sox10 et Nkx2.2 sont exprimés tout au long du processus de différenciation des OL. Les OPC et les pré-oligodendrocytes (pré-OL) sont caractérisés par l'expression de PDGFR-α et de NG2. Les marqueurs PLP, O4, O1 et CNPase sont exprimés lors de la transition des OPC vers les OL différenciés, tandis que les oligodendrocytes différenciés, myélinisants, sont caractérisés par l'expression des protéines de la myéline (MBP, MAG, MOG, GalC). NPC : cellule progénitrice neuronale ; OPC : cellule progénitrice oligodendrocytaire ; OL : oligodendrocyte ; PDGFR-α : récepteur A du facteur de croissance dérivé des plaquettes ; NG2 : antigène neuronal-gliale 2 ; PLP : protéine protéolipidique ; CNPase : 2',3'-Cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase ; MBP : protéine basique de la myéline ; MAG : glycoprotéine associée à la myéline ; MOG : glycoprotéine myéline-oligodendrocyte. D'après (Kuhn et al. 2019).

#### d) *Les oligodendrocytes non myélinisants*

De nouvelles preuves suggèrent que les OPC ont une capacité immunomodulatrice. De fait, les OPC expriment des récepteurs de cytokines (Baerwald and Popko 1998; Bonora et al. 2014) et évaluent leur micro-environnement grâce à leurs extensions des filopodes (Kirby et al. 2006). En réponse à des signaux inflammatoires, les OPC peuvent migrer vers les sites lésés, d'une manière similaire à celle de la microglie (Hughes et al. 2013; Kang et al. 2013). De plus, *in vitro* et *in vivo*, il a été démontré qu'en cas d'exposition à l'IFN $\gamma$  (Interféron  $\gamma$ ), les OPC présentent l'antigène aux lymphocytes T CD8+ cytotoxiques ce qui conduit à leur mort par cytotoxicité. Ce phénotype d'OPC pro-inflammatoire, nouvellement découvert, favorise les lésions tissulaires et bloque la remyélinisation. Ces éléments suggèrent que la suppression de l'inflammation médiée par les OPC pourrait inhiber leur mort cellulaire et favoriser leur différenciation en oligodendrocytes matures (Falcão et al. 2018; Kirby et al. 2019).

### B. Les cellules gliales périphériques : Les cellules de Schwann

#### 1. Développement et fonction des cellules de Schwann

Les cellules de Schwann (CS) sont les cellules myélinisantes du système nerveux périphérique (SNP), elles réalisent donc la myélinisation des axones des nerfs périphériques, cependant leur développement embryonnaire est réalisé à partir de la crête neurale contrairement aux OL qui dérivent du tube neurale (Woodhooand Sommer 2008). Tout au long de leur processus de différenciation, les cellules de Schwann vont exprimer plusieurs marqueurs différents de ceux observés pour les OL. Par exemple, l'obtention de cellules de Schwann myélinisantes permet l'expression de marqueurs spécifiques de la myéline du SNP tel que la MPZ (Myelin Protein Zero) ou la PO (Protein zero) (**Figure 22**).



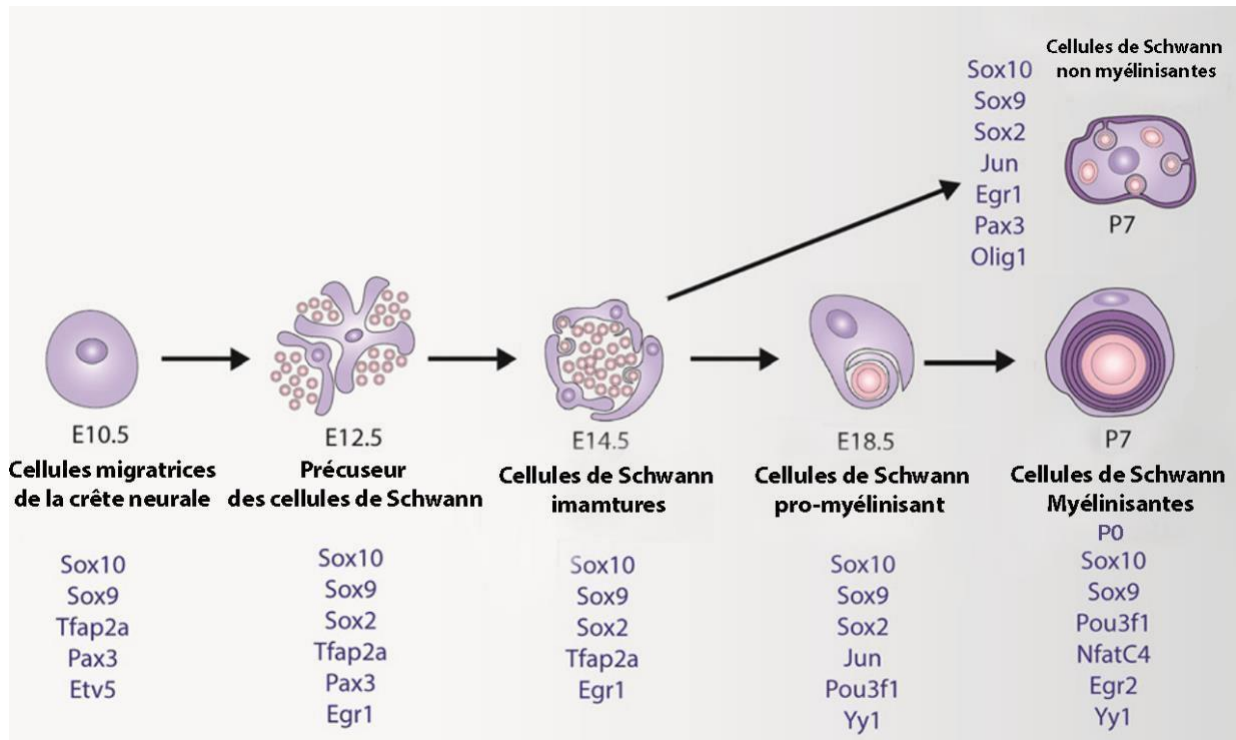


Figure 22 : Représentation schématique de la maturation des cellules de Schwann à partir de la crête neurale.

Le développement des cellules de Schwann se fait en trois étapes : (1) les cellules de la crête neurale migrent à E10,5 et vont ensuite générer les précurseurs de cellules de Schwann qui vont s'associer aux axones à E12.5 (2). Les précurseurs de cellules de Schwann donnent naissance à des cellules immatures à E14,5 (3) pour ensuite générer des cellules pro-myélinisantes à E18,5. Enfin la maturation des cellules de Schwann intervient 7 jours après la naissance pour donner lieu à des cellules non-myélinisantes et myélinisantes. Modifié d'après (Balakrishnan et al. 2020).

Les oligodendrocytes et les cellules de Schwann partagent des fonctions principales de soutien et d'isolation des axones. Cependant, les cellules de Schwann ne sont capables de myéliniser qu'un axone à la fois, contrairement aux oligodendrocytes (Jessen and Mirsky 2005; Salzer 2015). Cette caractéristique des cellules de Schwann a été récemment démontrée comme étant dépendante de la régulation d'un composant E3 ligase. En effet, *in vivo* la déplétion du gène *fbxw7* (Le composant E3 ubiquitine ligase F-box et WD-repeat) a révélé le potentiel des CS pour la myélinisation de plusieurs axones à la fois (Harty et al. 2019).

D'autre part, chez le zebrafish, une barrière gliale au point de sortie des motoneurones (MEP) empêche la sortie spécifique des OL du SNC vers le SNP. Les cellules formant cette barrière ont été décrites comme étant le 3<sup>ème</sup> type de cellules capables de synthétiser la myéline (Kucenas et al. 2009; Smith et al. 2014). La glie MEP témoigne d'une similarité avec les oligodendrocytes et les cellules de Schwann. En effet, comme les OPC, les cellules de la MEP sont dérivées du tube neural ventral et expriment Olig2. La glie MEP est également caractérisée par l'expression de SOX10 et de WIF1 (facteur inhibiteur de la voie Wnt). La combinaison de ces deux marqueurs complétée par l'expression d'Olig2 et de Foxd3,

permettent l'identification de cette population (Smith et al. 2014). De plus, l'expression de Foxd3 va conférer une activité similaire à celles des cellules de Schwann puisque la glie MEP va être en mesure de myéliniser un seul axone à la fois, bien que le mécanisme moléculaire sous-jacent ce processus soit différent. Par ailleurs, la glie MEP est dépourvue du krox20, un initiateur clé de la myélinisation pour les cellules de Schwann, et n'est pas non plus affecté par la déficience en gpr126, contrairement aux cellules de Schwann. De plus, la glie MEP myélinise sélectivement les axones de la racine motrice spinale (Kucenas et al. 2009; Fontenas et al. 2019) et joue un rôle clé dans l'inhibition de la migration des OPC du SNC vers le SNP. Chez la souris, au niveau des points de sorties des motoneurones (MEP) et des zones d'entrées des racines dorsales on observe des cellules capsules frontières dérivées de la crête neurale contribuant à la barrière entre le SNC et le SNP (Maro et al. 2004).

## 2. Remyélinisation des cellules de Schwann dans le SNC

Plusieurs études ont montré l'implication des cellules de Schwann lors de l'échec de la remyélinisation par les OL (Blakemore 1976; Blight and Young 1989; Franklin and Blakemore 1993; Zawadzka et al. 2010; Bielecki et al. 2016). La fonctionnalité de ces CS remyélinisant le SNC a été confirmée par des techniques d'autogreffes permettant à la fois une récupération fonctionnelle des déficits neuronaux (Deng, Walker, and Xu 2015) et une croissance axonale médiée par la sécrétion de facteurs trophiques tels que le NGF (facteur de croissance nerveuse) et le BDNF (Assouline et al. 1987; Bampton and Taylor 2005). Les dernières études du protéome des cellules de Schwann remyélinisantes du SNC, montrent leur habilité à sécréter des exosomes comportant des protéines associées à la régénération axonale et à l'inhibition de l'inflammation (Wei et al. 2019).

L'origine des CS résidant au sein du SNC a fait l'objet de débat. La première hypothèse repose sur une migration des cellules de Schwann du SNP vers les régions démyélinisées du SNC, lors de la rupture de la barrière hématoencéphalique (Franklin and Blakemore 1993). En effet, des études de cartographie génétique ont confirmé qu'un sous-ensemble de cellules Schwann non myélinisantes (Remak) exprimant Foxj1 peut être recruté pour remyéliniser les lésions du SNC (Ma et al. 2018). Par ailleurs, des études de traçage des OPC adultes grâce à des protéines rapportrices ont démontré que l'expression de protéines de Schwann autour des axones remyélinisés du CNS, proviennent de la différenciation des OPC du CNS en cellules de Schwann (Zawadzka et al. 2010a; Crawford, Tripathi, Richardson, et al. 2016; Assinck et al. 2017). Cette transdifférenciation semblerait être médiée par le microenvironnement lésé notamment, via la signalisation de la voie BMP/Wnt (Ulanska-Poutanen et al. 2018).

Les modèles de démyélinisation de la moelle épinière, ont démontré que les gaines de myéline des CS situées à proximité de la zone d'entrée de la racine dorsale sont généralement dérivées de cellules du

SNP. Cependant, les CS myélinisantes à l'épicentre de la lésion sont dérivées de cellules d'OPC du SNC. En revanche, le nombre de CS dérivées de la crête neurale ne change pas après les premiers jours de la remyélinisation, ce qui suggère que leur migration ne se produit que dans les premières étapes de la remyélinisation des lésions (Zawadzka et al. 2010a; Assinck et al. 2017).

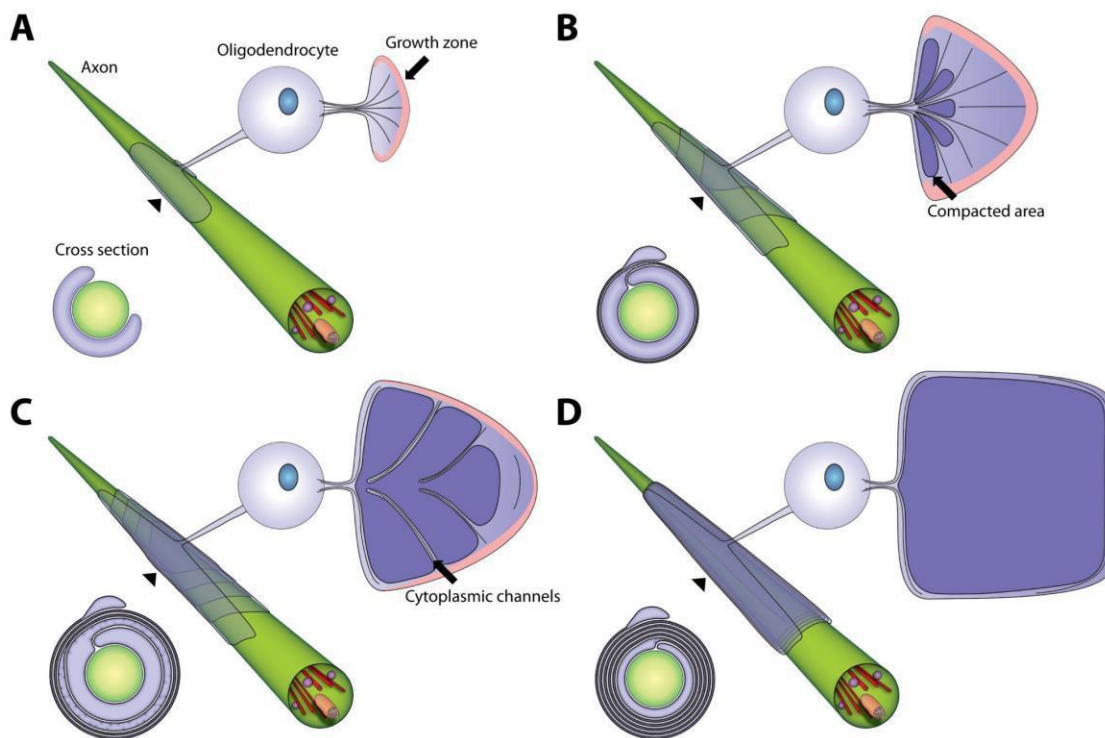
Les démyélinisations du SNC présentent la caractéristique d'être entourées d'astrocytes réactifs formant ainsi, une barrière et empêchant la migration et la survie des CS endogènes ou greffées en dehors du site de lésion (Woodruff and Franklin 1999; Shields, Blakemore, and Franklin 2000; Andrews and Stelzner 2007). En effet, plusieurs éléments contribuent à l'établissement de cette « barrière ». D'une part, les lésions démyélinisantes provoquent un stress induisant une hypertrophie des astrocytes associée à une production élevée de protéoglycanes tels que les chondroïtines sulfates et agrécans qui sont à l'origine du blocage de la migration des CS (Afshari, Kwok, and Fawcett 2010). De plus, l'étude de la matrice extracellulaire des astrocytes a révélé que les protéoglycanes à héparane sulfate (HSPGs) empêchent l'interaction entre les cellules de Schwann et les astrocytes via la séquestration de la neuréguline nécessaire à la migration des astrocytes (O'Neill et al. 2017). En outre, les astrocytes sont capables d'interagir grâce à la production de ligands des récepteurs d'éphrines reconnus par les cellules de Schwann afin d'inhiber leur migration (Afshari, Kwok, and Fawcett 2010). *In vitro*, la migration des CS est médiée par l'expression de la forme sialylée des NCAM (Neural cell adhesion molecule) contribuant à l'arrêt de l'agrégation de ces cellules afin d'induire leur migration et leur recrutement sur les sites lésés (Lavdas et al. 2006; Bachelin et al. 2010). Récemment, de nouvelles études de démyélinisation de la corne dorsale de la moelle épinière ont mis en évidence l'implication du remodelage du site lésé avec, d'une part l'augmentation du collagène 4 et la création de vaisseaux sanguins utilisés comme support pour la migration des CS (Ulanska-Poutanen et al. 2018; Garcia-Diaz et al. 2019).

## C. Structure et fonction de la myéline

### 1. Structure de la myéline

Les gaines de myéline sont indispensables pour la propagation rapide du signal électrique et la survie des axones. Elles sont caractérisées par un enroulement compact de l'extension membranaire des OL qui peuvent participer à la myélinisation simultanée de 30 axones. Les OL sont capables de myéliniser le même axone plusieurs fois. Par jour, la synthèse de la gaine de myéline par les OL peut produire des surfaces de 5000 mm<sup>2</sup> à 50 000 mm<sup>2</sup>. La formation de la gaine de myéline est initiée après le premier contact de l'oligodendrocyte avec l'axone à myéliniser, le prolongement de l'oligodendrocyte s'étend

en forme de croissant qui sera le cône de croissance de la gaine de myéline **Figure 23**. Pendant la formation de la myéline, le cône oligodendrocytaire forme plusieurs tours autour de l'axone. La croissance de la myéline se fait donc du côté intérieur. Une réorganisation du cytosquelette d'actine serait à l'origine de la progression du cône de croissance (Nawaz et al. 2015; Zuchero et al. 2015). Une fois que le processus a enveloppé l'axone, le front triangulaire continue l'enveloppement sous la couche déjà formée afin d'ajouter d'autres couches et ainsi épaissir la gaine de myéline. Par la suite, la compaction de la myéline est assurée par la MBP. En effet, la MBP se lie aux surfaces cytoplasmiques des membranes oligodendrocytaires opposées et se polymérise, refermant ainsi la bicouche membranaire comme une fermeture éclair (Aggarwal et al. 2013).



**Figure 23 : Représentation schématique de la myélinisation dans le SNC.**

Modèle d'un oligodendrocyte enveloppant un axone non myélinisé. La zone de croissance est colorée en rose, et la myéline compacte en violet foncé. La représentation montre la position des couches lorsqu'elles sont enroulées autour de l'axone. Les coupes transversales montrent l'état de compaction pendant la croissance de la myéline. D'après (Snaidero et al. 2014).

Les gaines de myéline d'un axone sont espacées par des zones qui sont dépourvues de myéline et que l'on appelle nœuds de Ranvier. Cette région est hautement spécialisée dans la génération du potentiel d'action neuronal. Chaque segment permettant la séparation des nœuds de Ranvier est désigné comme étant des internœuds dont la synthèse est réalisée par une extension membranaire des OL. Les analyses d'ultrastructure de la myéline reposent sur des études de microscopie électronique qui illustrent un empilement de multicouches avec une structure périodique caractéristique composée d'une alternance de couches denses et légères, appelée ligne dense majeure et ligne intrapériodique. La ligne dense majeure représente les surfaces cytoplasmiques étroitement condensées, tandis que la ligne interpériode est constituée des membranes externes étroitement apposées (Aggarwal, Yurlova, and Simons 2011; Salzer and Zalc 2016). La compaction entre les membranes de chacune de ces couches entraîne une périodicité d'environ 12 nm. Sur les bords de chaque segment de myéline, des lamelles de myéline individuelles s'attachent à l'axone sous forme de boucles terminales. La gaine de myéline possède un domaine paranodale qui mesure  $\sim 4 \mu\text{m}$  de long, ce qui permet un enroulement de 40 boucles (Hildebrand et al. 1993). Le domaine juxta-paranode est adjacent au paranode et s'étale sur 10 à 15  $\mu\text{m}$  de long. Entre les paranodes de deux gaines de myéline voisines se trouve la région nodale de 0,8 à 1,1  $\mu\text{m}$  de large. Dans cette région l'axone est généralement rétréci, et cette réduction de diamètre est plus marquée dans les fibres de grande taille (Hildebrand 1971). La compression de la gaine de myéline est initiée dans la région paranodale où l'on observe une réduction d'environ 30 à 50% comparée au diamètre axonal de la région internodale. Cette région joue un rôle important dans la conduction saltatoire de l'influx nerveux, **Figure 24**. En effet, les nœuds de Ranvier contiennent une forte accumulation de canaux sodiques voltages dépendants tels que NaV1.1, NaV1.2, NaV1.6, NaV1.7, NaV1. La forme prédominante est NaV1.6 et génère la phase initiale du potentiel d'action (Rush, Cummins, and Waxman 2007; Shao Li et al. 2016). Les nœuds de Ranvier contiennent également de nombreux canaux potassiques dits « rectifiant ». Ces canaux K<sup>+</sup> diffèrent de ceux accumulés au niveau des régions juxta-paranodales puisqu'ils participent à la stabilisation du potentiel d'action.

L'accumulation de canaux sodiques au sein des nœuds de Ranvier est dépendante de l'interaction avec des protéines du cytosquelette axonale telles que l'ankyrine G (ankG) et la spectrine  $\beta$ -IV (Rasband 2010; Rasband 2016; Rasband and Peles 2015). De plus, la formation des nœuds de Ranvier est médiée par un isoforme de la neurofascine (NF-155). En effet, la déplétion du gène codant cette protéine va entraîner une désorganisation des nœuds de Ranvier ainsi qu'une perte des canaux sodiques (Charles et al. 2002).

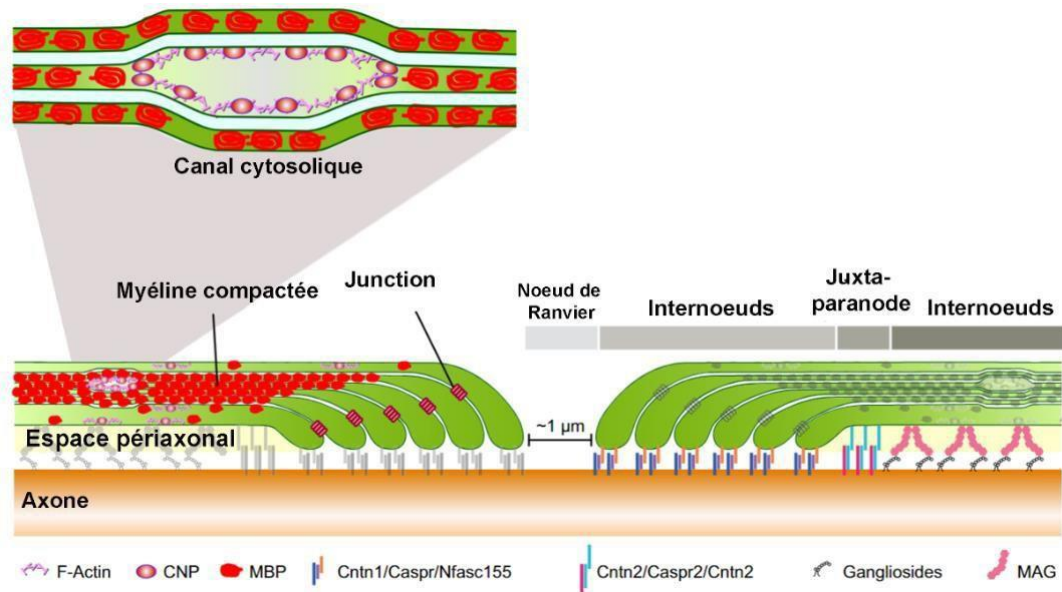


Figure 24 : illustration schématique de la structure de la myéline du système nerveux central.

La structure de la myéline inclue différents domaines des axones myélinisés. La MBP (Myelin Basic protein) est essentielle à la formation d'une membrane myélinique compacte en rapprochant les surfaces cytoplasmiques les unes des autres. La CNP interagit avec le cytosquelette d'actine et s'oppose aux forces de polymérisation de la MBP, générant ainsi des canaux cytoplasmiques dans la gaine de myéline. Les jonctions relient les boucles paranodales de la myéline aux bords latéraux de la myéline. MAG (Myelin Associated glycoprotein). Modifié d'après (Stadelmann et al. 2019).

La myéline est une structure qui présente la particularité d'être très peu hydratée avec seulement 40 % d'eau dans la substance blanche contre 80% pour la substance grise. Cette structure est majoritairement composée de lipides (entre 70 et 80 %) et de protéines 20 à 30 % (Jackman, Ishii, and Bansal 2009). La répartition du pourcentage de lipides est spécifique de la myéline puisque toutes les autres membranes de l'organisme présentent un pourcentage réduit de lipides qui s'élève de 30 à 50 % (Norton 1984). Cette caractéristique permet d'assurer la rapidité de la conduction nerveuse (Morell and Norton 1980). Les lipides de la gaine de myéline sont constitués de cholestérol, de phospholipides et de glycolipides.

Le cholestérol constitue 30% de la répartition lipidique et participe à l'assemblage ainsi qu'à l'intégrité de la membrane myélinique (Ozgen et al. 2016). Le SNC contient 23% du stérol total de l'organisme, cette concentration est augmentée de manière accrue lors des processus de développement ou de myélinisation. En effet, chez l'homme au moment de la naissance, il a été montré que la masse de cholestérol était de 400g contre 1400g chez un adulte (Dietschy and Turley 2004). Par ailleurs, l'absence de cholestérol au niveau des OL est à l'origine de défaut de myélinisation entraînant des pathologies neuromusculaires caractérisées par une ataxie et des tremblements (Saher et al. 2005; Saher and Simons 2010). Les phospholipides sont estimés à hauteur de 40% dans la gaine de myéline et leur présence permet de maintenir la structure de la bicouche lipidique, **Figure 25**. Pour cela, ces derniers



vont établir des interactions négatives avec les protéines spécifiques de la myéline. En outre, une importante proportion lipidique de galactocérobrosides (appartenant à la famille des glycosphingolipides) est retrouvée dans la composition de la gaine de myéline. Ces derniers sont utilisés comme des protéines spécifiques de la myéline, c'est pourquoi leur expression est proportionnelle à la quantité de myéline. Ils participent notamment à la jonction entre les OL et l'axone (Jackman, Ishii, and Bansal 2009).

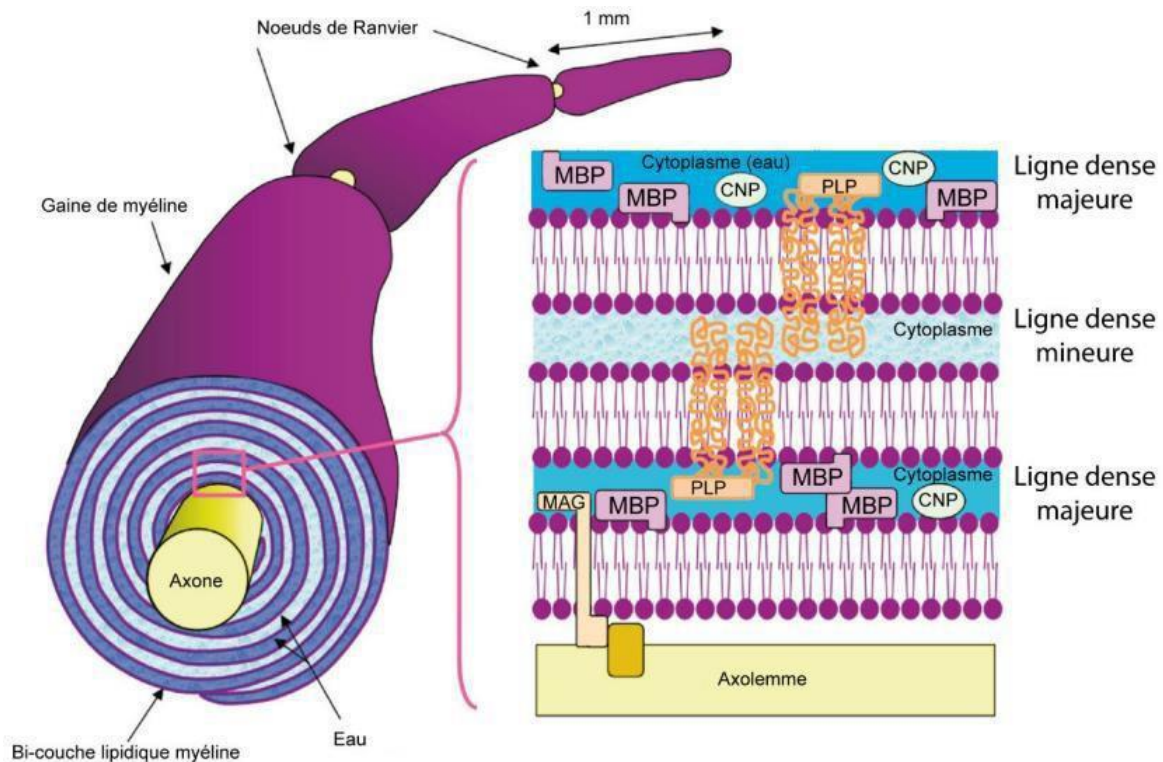


Figure 25 : Représentation schématique de la répartition lipidique et protéique de la gaine de myéline.

La gaine de myéline est constituée de plusieurs couches lipidiques y compris de protéine basique de la myéline (MBP), de la protéine protéolipide (PLP) et de la glycoprotéine associée à la myéline (MAG). D'après (Laule et al. 2007).

## 2. Les protéines de la myéline

Les protéines de la myéline sont considérées comme étant des marqueurs spécifiques de la myéline et leur expression permet de procéder à l'identification des OL matures. Ces dernières représentent 30 % du poids sec total de la myéline du SNC. On distingue deux types de protéines majeures de la myéline : la MBP et la PLP. Ces protéines représentent à elles seules 80% de l'ensemble des protéines myéliniques (Simons and Nave 2016).

#### a) *La protéine Basique de la Myéline (MBP)*

La MBP constitue environ 30% des protéines de la myéline. L'expression de cette dernière est localisée dans les prolongements cytoplasmiques des OL et plus particulièrement au niveau de la ligne dense majeure (Bijlard et al. 2015). L'importance de cette protéine a été mise en évidence dans des modèles murins de déplétion du gène codant la MBP (aussi appelée souris *shiverer*) où des défauts de compaction de la myéline ainsi que de formation des lignes denses majeures sont observés. La protéine MBP joue un rôle crucial dans la compaction des gaines de myéline lors de la phase de maturation (Campagnoni et al. 1984; Baumann and Pham-Dinh 2001). De plus, il a été démontré que la MBP établit des interactions électrostatiques avec les charges négatives des OL situés sur les lipides de la surface cytosolique (Boggs 2006). D'autre part, cette dernière est également capable de se fixer aux filaments d'actine situés dans la bicouche lipidique des couches membranaires de la myéline (Boggs and Wang 2004). Ainsi, ces éléments démontrent l'implication de cette protéine dans le maintien structural de la gaine de myéline. La traduction de l'ARNm de la MBP est localisée au niveau de la membrane et non pas dans le corps cellulaire des OL. Du fait de sa synthèse locale, la MBP permet d'exercer un contrôle du processus de fusion membranaire impliqué dans le phénomène de compaction de la myéline par les oligodendrocytes (Laursen, Chan, and French-Constant 2011).

#### b) *La protéine protéolipidique PLP*

La PLP est la protéine la plus exprimée par la myéline au sein du SNC. Cette dernière est très largement conservée chez les mammifères avec une homologie de séquence de 100% entre la souris et l'homme. La présence de ces deux isoformes PLP et DM20 représentent 50% des protéines de la myéline. Néanmoins, on observe une expression du DM20 seulement lors de la phase précoce de différenciation alors que la maturation des OL décline son expression afin d'être remplacée par la PLP. La structure tridimensionnelle de la protéine est caractérisée par quatre hélices  $\alpha$  hydrophobes qui sont localisées dans les domaines extracytoplasmiques des lignes denses mineures, ainsi que dans les domaines des lignes denses majeures. Lors de la compaction de la myéline, la PLP va contribuer à la stabilisation des lignes denses mineures et majeures via la création de jonctions membranaires **Figure 15** (Baumann and Pham-Dinh 2001; Boison and Stoffel 1994; Hertz 2014). Chez la souris, la déplétion du gène *p/p* n'a pas d'effet majeur sur la myélinisation des axones ni sur le phénomène de compaction de la myéline. Cependant, on observe une détérioration des lignes denses mineures corrélée à la diminution d'une stabilité structurelle des jonctions membranes. Sur le plan fonctionnel, l'absence de la PLP engendre à la fois une dégénérescence axonale (prononcée pour les axones de faibles diamètres) ainsi qu'une mort prématurée des OL, ce qui se traduit par d'importants défauts locomoteurs chez la souris (Edgar and



Garbern 2004). Chez l'homme, les mutations du gène sont à l'origine d'une pathologie leucodystrophique démyélinisante (maladie de Pelizaeus-Merzbacher), caractérisée par des retards de développement entraînant un nystagmus, une hypotonie, une spasticité et un déficit intellectuel variable (Osorio et al. 2017).

### *c) Autres composants de la myéline*

En moindre pourcentage on trouve parmi les constituants cités dans la **Table 1**: 1) la 3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase) qui ne représente que 4% des protéines totales de la myéline. Elle comporte deux isoformes CNP1 et CNP2 et contrairement aux autres protéines de la myéline, la CNPase se trouve dans les oligodendrocytes, au niveau du soma cellulaire ou dans les parties non compactes de la gaine de myéline, mais jamais dans la myéline compacte (figure 25, Trapp et al. 1988; 2) La glycoprotéine associée à la myéline (MAG : Myelin Associated Glycoprotein) est transmembranaire et elle n'est qu'un constituant mineur de la myéline dans le SNC, représentant seulement 1% de la protéine totale. La protéine MAG se trouve dans la membrane interne de la myéline, en contact avec la membrane cellulaire de l'axone ; 3) la Myéline-Oligodendrocyte Glycoprotéine (MOG) qui représente 1% de la myéline centrale est une protéine transmembranaire spécifique aux oligodendrocytes myélinisants, que l'on retrouve dans la couche la plus externe de la gaine de myéline (Quarles 2007). En raison de sa localisation à la surface de la myéline et sa sécrétion dans le liquide céphalo-rachidien, elle est l'un des signaux les plus importants déclenchant une réaction auto-immune (Baumann and Pham-Dinh 2001; Ketelslegers et al. 2015). La protéine MOG est le plus souvent utilisée pour induire le modèle EAE permettant l'étude des processus de démyélinisation/remyélinisation.

**Table 1 : Composant protéique de la myéline.**

Tableau indiquant les gènes codant pour les protéines de la myéline centrale et périphérique, le pourcentage de leurs représentations, leurs fonctions, leurs localisations et les maladies associées à leurs mutations. D'après (Nave and Werner 2014)

Myelin protein (gene)	PNS myelin <sup>b</sup>	CNS myelin <sup>c</sup>	Function	Localization	Associated disorder
P0 ( <i>Mpz</i> )	21%	ND	Ig-CAM	Compact myelin	Charcot-Marie-Tooth neuropathy
Proteolipid protein ( <i>Pmp1</i> )	0.2%	17%	Cholesterol-associated tetraspan	Compact myelin	Hypomyelinating leukodystrophy; spastic paraplegia type 2
Periaxin ( <i>Prx</i> )	16%	ND	Scaffolding	Abaxonal layer	Charcot-Marie-Tooth neuropathy
Myelin basic protein ( <i>Mbp</i> )	8%	8%	Adhesion	Compact myelin	18q deletion syndrome
Cyclic nucleotide phosphodiesterase ( <i>Cnp</i> )	0.5%	4%	2',3'-cAMP metabolism	Noncompact myelin	Catonia-depression syndrome upon aging
Myelin oligodendrocyte glycoprotein ( <i>Mog</i> )	ND	1%	Ig-CAM	Abaxonal layer	Narcolepsy
Myelin-associated glycoprotein ( <i>Mag</i> )	0.3%	1%	Ig-CAM	Noncompact myelin	Autoantibody-mediated neuropathy
Sirtuin 2 ( <i>Sirt2</i> )	ND	1%	Protein deacetylase	Noncompact myelin	NA
Claudin 11 ( <i>Cldn11</i> )	ND	1%	Tight junction	Radial component	NA
Fatty acid synthase ( <i>Fasn</i> )	1%	ND	Lipid metabolism	Unknown	NA
Band 4.1-like protein G ( <i>Epb4.112</i> )	1%	ND	Scaffolding	Noncompact myelin	NA
Others	52%	67%			

### 3. Régulation de la myélinisation

Plusieurs facteurs peuvent influencer la régulation de la myélinisation. Dans le SNC, la plupart des signaux axonaux identifiés sont inhibiteurs de la myélinisation tels que la protéine PSA-NCAM (polysialic acid - NCAM) dont l'expression est diminuée au début de la formation de la myéline (Decker et al. 2000) et la protéine de surface Jagged-1 qui en se liant à son récepteur Notch-1 inhibe la différenciation oligodendrocytaire (Hu et al. 2003). La protéine Lingo-1 est aussi connue pour inhiber la différenciation des progéniteurs d'oligodendrocytes et de la myélinisation en se liant à son récepteur NogoR exprimé par les OL (Mi, Robert H Miller, et al. 2005; Mei, Christin Chong, and Chan 2013). De ce fait, la protéine Lingo-1 a été proposée comme cible thérapeutique potentielle dans la SEP et des essais cliniques ont eu lieu bien qu'ils n'aient pas montré d'amélioration significative chez les patients traités par rapport au placebo (Cadavid et al. 2019). La molécule d'adhérence à la jonction neuronale (JAM2) a été identifiée comme un signal inhibant la myélinisation du compartiment somato-dendritique. Il a été constaté que la quantité de myéline autour du corps cellulaire augmentait de 3 fois dans les neurones knock-out des souris JAM2-KO (Redmond et al. 2016). Contrairement au SNP, dont lequel l'expression axonale des neuregulines (NRG-1) est le signal permissif dominant pour la myélinisation par les cellules

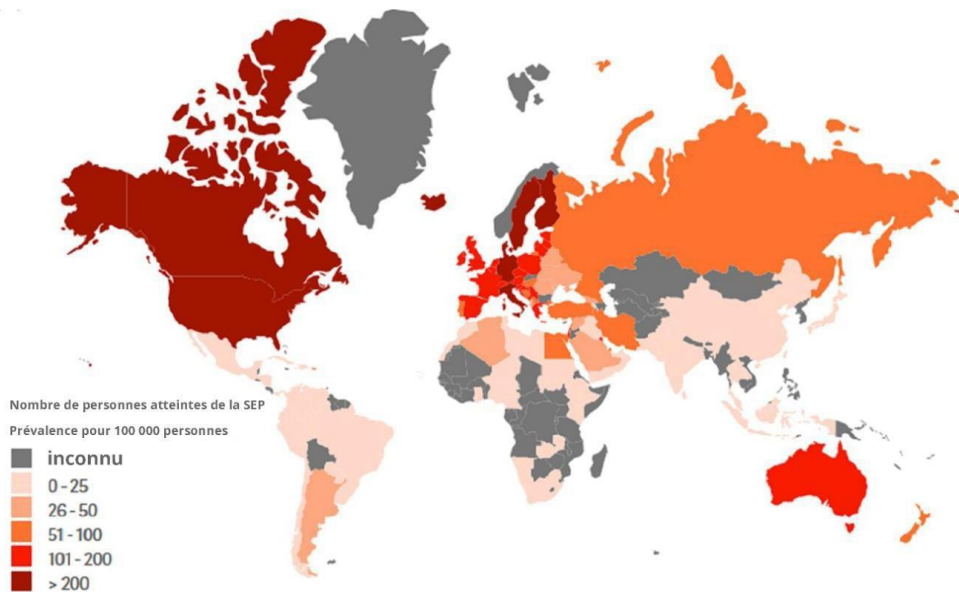
de Schwann, la signalisation de la neureguline dans les oligodendrocytes et la myélinisation n'est pas complètement élucidée, bien que la surexpression des neuregulines dans le SNC induisent une hypermyélinisation (Brinkmann et al. 2008). En effet, Brinkmann et al. ont rapporté que la myélinisation du SNC n'était pas altérée chez la souris déficiente en NRG1, alors que Taveggia et al., ont montré que les souris haplo-insuffisantes en NRG1 présentaient des gaines de myéline plus fines dans le corps calleux (Taveggia et al. 2008). Certains travaux montrent même que l'expression de la NRG-1 est régulée par l'activité axonale ce qui suggère que NRG-1 ferait le lien pour une myélinisation activité dépendante (Ziskin et al. 2007; Liu et al. 2011). Ainsi, dans le SNC, la neuréguline pourrait donc jouer un rôle dans l'interaction de l'axone et l'OL sans être indispensable à la myélinisation. Différentes autres voies de signalisation et acteurs moléculaires ont été rapportés pour leur implication dans la régulation du développement des oligodendrocytes et de la myélinisation. La voie Wnt/ $\beta$ -caténine est un régulateur du développement des oligodendrocytes. Elle est activée de manière transitoire dans les OPC en même temps que l'initiation de la différenciation terminale. L'activité de la  $\beta$ caténine et l'expression de Tcf4/Tcf712 (un facteur de transcription qui médie les effets transcriptionnels de la voie Wnt/ $\beta$ -Caténine) sont ensuite régulés à la baisse dans les oligodendrocytes matures. Cette régulation à la baisse de la signalisation Wnt peut être nécessaire à la différenciation des oligodendrocytes, car les souris mutantes ayant une signalisation Wnt/ $\beta$ -caténine élevée dans la lignée oligodendrocytaire présentent un arrêt de la différenciation et une hypomyélinisation (Fancy et al. 2009; Fu et al. 2009). Cependant, d'autres études ont rapporté un effet bénéfique de cette voie dans la myélinisation, montrant pour la première fois que TCF712 favorise la différenciation oligodendrogliale en réprimant l'activité médiée par BMP4, qui est dérégulée dans les lésions de la SEP (Zhang et al. 2021). Ainsi, l'activation de la voie WNT/ $\beta$ -caténine entraîne un échec de la différenciation et une altération de la remyélinisation, alors que la voie TCF7L2, cible en aval de la voie WNT/ $\beta$ -caténine, est régulée à la hausse et favorise la remyélinisation (Tawk et al. 2011; Dai et al. 2014; Hammond et al. 2015; Zhao et al. 2016).

En dehors de toutes activités intrinsèques liées aux oligodendrocytes, programmés pour la myélinisation, des signaux extrinsèques, y compris ceux provenant des axones, pourraient influencer ce programme. Par exemple, la myélinisation des régions spécifiques du cerveau est corrélée aux capacités cognitives chez l'enfant et à la maîtrise de nouvelles tâches (Bengtsson et al. 2005), tandis que l'isolement social peut induire une altération de la myéline (Makinodan et al. 2012). Ainsi, les circuits neuronaux spécifiques engagés dans l'apprentissage pourraient modifier leurs profils myéliniques via une communication dépendante de l'activité entre l'axone et l'oligodendrocyte (Hughes and Appel 2016).

## D. La sclérose en plaque (SEP)

La sclérose en plaques (SEP) a été décrite pour la première fois en 1868 par le neurologue Jean Martin Charcot. Elle est caractérisée par l'observation histologique de plaques démyélinisantes au niveau de la substance blanche du cerveau et de la moelle épinière. Dans la SEP, les lésions primaires des oligodendrocytes entraînent la perte de la gaine de myéline, suivie par une perte axonale, due à la perturbation de la transmission du signal, ce qui fait de la SEP une maladie neurodégénérative. La pathogenèse des plaques de SEP, est induite par l'infiltration de lymphocytes auto réactifs spécifiques de la myéline au travers de la BHE conduisant à l'apparition de lésions inflammatoires démyélinisantes (Ciccarelli et al. 2014). Ces processus physiopathologiques se manifestent entre 25 et 35 ans avec des formes pédiatriques (avant 18 ans) et séniles (après 50 ans). La SEP est une pathologie neurologique chronique, la plus répandue chez le jeune adulte et représente la première cause d'handicap sévère d'origine non traumatique. En France la SEP touche 110 000 personnes et dans le monde l'évolution du nombre de cas a augmenté passant de 2,3 millions à 2,8 millions de personnes en 6 ans (Gbaguidi et al. 2022). La prévalence de la maladie est hétérogène puisque le nombre de cas est plus élevé dans les pays du nord, contrairement aux pays proches de l'équateur (**Figure 26**).

D'autre part, il n'existe pas de test pathognomonique unique pour le diagnostic de la SEP. Le diagnostic est posé selon deux critères : le critère de dissémination dans l'espace (DIS) qui comprend l'étude de l'histoire du patient, un examen physique, une IRM ainsi que la dissémination dans le temps (DIT) qui est établie en suivant l'évolution de la maladie à l'aide d'un historique complet et en documentant la présence de multiples exacerbations, notamment par l'apparition de nouvelles lésions sur l'IRM. De plus, l'analyse de liquide céphalo-rachidien et du sang des patients permet d'exclure les autres causes des symptômes du patient (Tafti, Ehsan, and Xixis 2022). Le liquide céphalo-rachidien peut être prélevé et testé pour détecter la présence de profils d'anticorps appelés bandes oligoclonales, présents chez 90 à 95 % des patients atteints de SEP, ce qui en fait une caractéristique permettant de confirmer le diagnostic de la SEP (Link and Huang 2006; Winger and Zamvil 2016). Les symptômes de la SEP sont variés selon la zone cérébrale touchée comprenant des troubles de la vision, des troubles sensitifs avec une perte de sensation, des troubles de la motricité, une fatigue chronique et dans certains cas des déficiences cognitives.



**Figure 26 : Représentation de la prévalence de la maladie de la sclérose en plaque à travers le monde.**

La prévalence de la sclérose en plaque est indiquée pour 100 000 habitants par pays. Les pays sans données de prévalences sont indiqués en gris. Modifié d'après (Gbaguidi et al. 2022)

La SEP est une maladie multifactorielle faisant intervenir des facteurs environnementaux tels que l'exposition au soleil, le tabac ou encore l'obésité. En effet, des études ont montré qu'un manque de vitamine D augmente par deux la susceptibilité de développer une SEP (Mokry et al. 2015; Wang 2022) mais qu'en revanche l'exposition au soleil pendant l'enfance est associée à un risque plus faible de développer une SEP (Kampman, Wilsgaard, and Mellgren 2007). Par ailleurs, une infection virale peut également causer la SEP. En effet, le virus d'Epstein-Barr (VEB) est un agent pathogène répandu : selon les estimations, 90 % des adultes sont infectés par ce virus au cours de leur vie. Bien qu'il n'entraîne pas l'apparition de la SEP chez toutes les personnes qui l'ont contracté, ce virus est depuis longtemps soupçonné d'être un facteur de risque environnemental de la SEP. Une étude récente, menée sur une cohorte de plus de 10 millions de militaires aux USA a montré que les sujets infectés par ce virus présentaient un risque 32 fois plus élevé que les autres personnes d'avoir un jour la SEP, alors qu'aucune augmentation du risque de SEP n'a été constatée en lien avec d'autres virus (Bjornevik et al. 2022).

Les accidents cérébraux comme les commotions peuvent aussi provoquer la SEP, tel qu'il a été rapporté par une étude récente, indiquant que le risque ratio de développer une SEP était de 1,22

après une lésion cérébrale traumatique et de 2,33 après 2 lésions cérébrales traumatiques (Montgomery et al. 2017).

La SEP n'est pas considérée comme une maladie héréditaire. La probabilité de développer la SEP d'un jumeau identique d'une personne atteinte de la SEP est de l'ordre de 30 % et cette probabilité ne dépasse pas 2,5% si un des parents est atteint de la SEP (Compston and Coles 2008). Par ailleurs, plusieurs gènes de prédisposition ont été identifiés tels que le constituant du complexe majeur d'histocompatibilité HLA-DRB1 (plus particulièrement la variante HLA-DRB1\*15:01). Il apparaît que le gène est porté par 60% des patients de type caucasien atteints de la SEP (Oksenberg et al. 2004; Greer 2015). De plus, on recense l'implication du gène codant IL7R, le récepteur de l'interleukine 7 ainsi que d'autres, associés à la réponse immunitaire. Néanmoins, la SEP n'est pas une maladie que l'on peut qualifier « d'héréditaire » puisque, à ce jour, aucune corrélation directe n'a pu être démontrée entre la manifestation de la maladie et les études génomiques des clusters familiaux. Récemment, des études ont permis de mettre en évidence deux gènes du complément C1QA et CR1 sur une cohorte conséquente de 835 femmes atteintes de SEP. L'analyse des échantillons sanguins a révélé que les patientes présentant des mutations du gène C1QA avaient une susceptibilité de l'ordre de 71% de développer des troubles de la vision associés à la détection des contrastes visuels. Les patientes dont la modification génétique se situait sur le gène CR1 avaient un risque accru de 40% de développer ces mêmes symptômes (Fitzgerald et al. 2019). Il est à noter qu'il existe une différence de sexe dans l'incidence de la SEP, les femmes étant plus touchées que les hommes (rapport de 3:1) et que cette différence augmente au fil des années (Lopez-Lee, Kodama, and Gan 2022). L'évolution de la SEP est différente chez les femmes et les hommes, les hommes souffrant généralement de formes de SEP plus agressives avec un pronostic plus mauvais.

## 1. Les formes de la SEP

La SEP est constituée de 4 formes qui sont considérées comme importantes non seulement pour le pronostic, mais aussi pour les décisions thérapeutiques et comprennent : la SEP récurrente rémittente (RRMS), la SEP progressive primaire (PPMS), la SEP progressive secondaire (SPMS) et La sclérose en plaques progressive et récurrente (PRMS) **Figure 27**. La RRMS est la forme la plus courante puisqu'elle touche 87% des patients et se caractérise par des crises aiguës imprévisibles suivies de périodes de rémissions. La SPMS touche environ 10% à 15% des patients et affecte principalement la moelle épinière en revanche, ces patients présentent des lésions cérébrales moindres que celles observées pour les autres formes de la SEP. Les symptômes associés à la SPMS sont associés à des difficultés à marcher, une faiblesse ainsi que des défauts d'équilibre. En outre, 65% des patients atteints de la RRMS vont développer une forme progressive secondaire définie comme étant le

deuxième stade de la maladie et entraînant une faiblesse accrue, des troubles urinaires, des troubles mentaux et des déficiences psychologiques. Enfin, il existe une forme plus rare, la SPR qui touchent 5% des patients et dont la symptomatologie est caractérisée par des troubles de la vision, des douleurs oculaires, intestinales et urinaires pouvant également provoquer une dépression (Kim and Kim 2009).

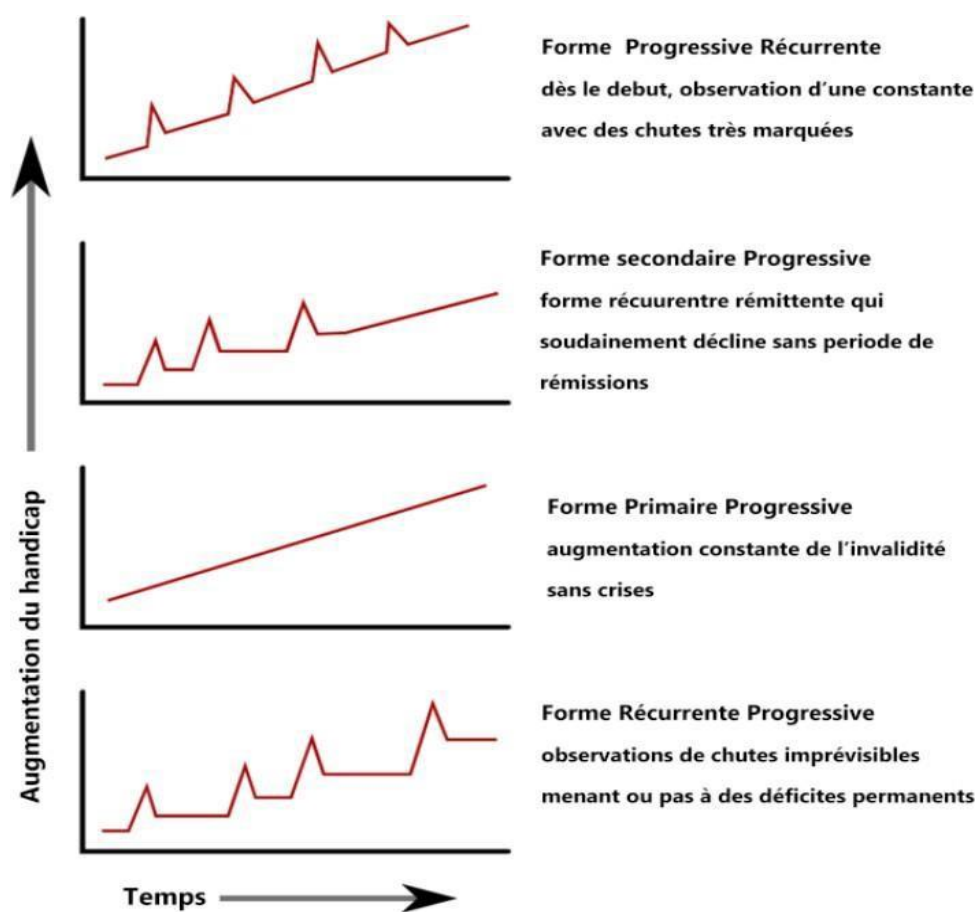


Figure 27 : Différentes formes de SEP. Augmentation du handicap à travers le temps.

Chaque pic correspond à une poussée. Modifié d'après (Kim and Kim 2009)

## 2. Les caractéristiques des lésions de la SEP

La pathologie des lésions de la SEP présente une hétérogénéité considérable en termes de localisation, de contenu cellulaire et de degré de démyélinisation entre les patients. Les lésions de la substance blanche, de la substance grise corticale et de la moelle épinière sont caractérisées selon le système de van der Valk et al. (van der Valk and De Groot 2000) et de Kuhlmann et al. (Kuhlmann, Lassmann, and Brück 2008). L'activité inflammatoire innée des lésions est déterminée par la présence de microglies/macrophages HLA+. En se basant sur ces travaux et la morphologie de ces cellules, Sabina

Luchetti et ses coll. (Luchetti et al. 2014; Luchetti et al. 2018) ont caractérisé différents types de lésions de la SEP (**Table 2 et Figure 28**). Pour les lésions actives et mixtes actives/inactives, la morphologie des microglies/macrophages a été évaluée comme suivant : 0 = mince et ramifié ; 0,5 = amiboïde avec peu de ramification ; 1 = spumeux (Foamy).

Ainsi, les différentes formes caractérisant la SEP sont les suivantes :

- Substance blanche d'apparence normale (NAWM : pratiquement aucune réactivité HLA, aucune démyélinisation).
- Lésion active (démyélinisation, cellules microgliales HLA-positives dans la lésion). C'est le type de plaques le plus fréquemment rencontré dans les formes RRMS de la SEP.
- Lésion mixte active/inactive (chronique active) (hypocellulaire, centre gliotique, bordure active avec macrophages/cellules microgliales HLA-positives). Le degré d'activation des cellules microgliales HLA-positives allant de l'aspect ramifié =1, jusqu'à la morphologie arrondie. La lésion chronique est rencontrée le plus souvent chez les patients présentant les formes progressives de la SEP (PPMS et SPMS).
- Lésion inactive, hypocellulaire avec un peu de microgliose HLA-positive.
- Plaques remyélinisées (shadow plaques ou plaques ombrées). C'est un signe de remyélinisation, ce qui peut être difficile à les différencier de la substance blanche normale, non lésée.

**Table 2 : Caractérisation et classification des différents types de lésions rencontrées dans la SEP.**  
D'après (Luchetti et al. 2018)

Lesion type	Definition	Score
Reactive site	No demyelination, aggregates of HLA+ microglia/macrophages	1
<i>White matter</i>		
Active	Demyelination, HLA+ microglia/macrophages throughout the lesion	2
Mixed active/inactive (same as chronic active in Kuhlmann, Lassmann, and Brück [24], includes smoldering in Frischer et al. [13])	Demyelination, hypocellular and gliotic centre, accumulation of HLA+ microglia/macrophages at the lesion border	3
Inactive	Demyelination, hypocellular and gliotic throughout the lesion	4
Remyelinated	Partial myelination, sparse HLA + microglia/macrophages	6







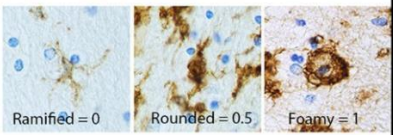
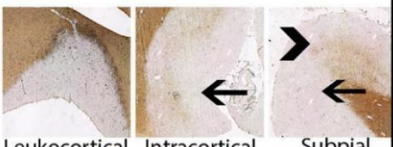
	Definition:	Correlates:
<p>Active lesion</p> 	<p>Demyelination and HLA+ microglia/macrophages throughout the lesion</p>	<p>Positively correlated with reactive site load (p=9e-05, R=0.31) Positively correlated with microglia/macrophage activity score (p=9e-07, R=0.38)</p>
<p>Mixed active/inactive lesion</p> 	<p>Demyelination, hypocellular and gliotic centre, accumulation of HLA+ microglia/macrophages at the lesion border</p> <p>Same definition as 'chronic active' (Kuhlmann et.al. 2008) and includes 'smoldering' (Frischer et.al. 2015)</p>	<p>Positively correlated with severity score (p=6e-06, R=0.35) Higher in SP and PP compared to RR (p=0.001) Higher in males compared to females (p=0.007)</p> <p>Positively correlated with lesion load (p=4e-06, R=0.36) Negatively correlated with proportion of remyelinated lesions (p=6e-09, R=-0.43) Higher in patients with a cortical grey matter lesion present (p=0.002)</p>
<p>Remyelinated lesion</p> 	<p>Partial myelination, sparse HLA+ microglia/macrophages</p>	<p>Lower in PP compared to RR cases (p=0.03)</p> <p>Negatively correlated with lesion load (p=0.002, R=-0.25) Lower in cases with a cortical grey matter lesion present (p=0.032) Negatively correlated with proportion of mixed active/inactive lesions (p=6e-09, R=-0.43)</p>
<p>Reactive site</p> 	<p>No demyelination and aggregates of HLA+ microglia/macrophages</p>	<p>Positively correlated with lesion load (p=5e-06, R=0.35) Positively correlated with proportion of active lesions (p=9e-05, R=0.31) Higher in cases with a cortical grey matter lesion present (p=2e-04)</p>
<p>Microglia/macrophage morphology score</p> 	<p>Morphology of microglia/macrophages is determined in all active and chronic active lesions and average is calculated for each donor</p>	<p>Positively correlated with lesion load (p=0.006, R=0.23) Positively correlated with proportion of active lesions (p=9e-7, R=0.38)</p>
<p>Cortical grey matter lesion presence</p> 	<p>Leukocortical: cortical lesions that extend into subcortical white matter</p> <p>Intracortical: cortical lesions that did not extend to the surface of the brain and into subcortical white matter</p> <p>Subpial lesions: that extend to surface of the brain</p>	<p>Cases with cortical grey matter lesion presence show a:</p> <p>Higher lesion load (p=4e-06) Higher reactive site load (p=2e-04) Higher proportion of mixed active/inactive lesions (p=0.002) Lower proportion of remyelinated lesions (p=0.032)</p>

Figure 28 : Vue d'ensemble des lésions de la SEP et de leurs activités.

Des exemples sont montrés pour chaque type de lésions de la substance blanche et de la substance grise ainsi que la notation de la morphologie des microglies/macrophages. De même, les définitions et les corrélations sont indiquées pour chaque lésion. Modifié d'après (Luchetti et al. 2018)

### 3. Traitements de la SEP

Jusqu'à présent, il n'existe aucun traitement curatif spécifique pour la SEP. Cependant, des progrès importants ont été obtenus dans le traitement de la SEP et de nombreux traitements de fond, qui permettent de ralentir, voire de stabiliser l'évolution de la maladie, sont aujourd'hui disponibles.

Les traitements utilisés contre la SEP reposent sur deux aspects : 1) une thérapie symptomatique qui vise à traiter les symptômes résultant d'un dysfonctionnement neurologique, à savoir des troubles cognitifs, de douleur, de fatigue et de dysfonctionnement vésical et de spasticité (Doshi and Chataway 2017; Talanki Manjunatha et al. 2022). Ces symptômes sont traités par des méthodes pharmacologiques et non pharmacologiques et les patients ont besoin d'une approche multidisciplinaire pour la prise en charge symptomatique de la SEP ; 2) une thérapie « modificatrice de la maladie » qui vise à agir sur l'évolution de la SEP par la suppression ou la modulation de la fonction immunitaire. En effet, les traitements de fond sont assurés par des molécules immunomodulatrices, mais en cas d'échecs du traitement, et pour les formes agressives ou résistantes, des immunosuppresseurs sont utilisés. Ces traitements reposent sur l'administration d'immunomodulateurs tels que l'acétate de glatiramère et les interférons bêta. Ils permettent de réduire la fréquence des poussées et de ralentir la progression de l'handicap. Les principaux immunosuppresseurs utilisés sont le mitoxantrone, le tériflunomide, le dimethyl-fumarate, le fingolimod, le natalizumab et l'ocrelizumab. Néanmoins, le traitement doit être continu afin de réguler l'inflammation liée à la maladie. C'est pourquoi il existe des thérapies de reconstitution immunitaire (l'alemtuzumab et la cladribine) de faible durée, qui vont permettre d'entraîner des actions immunologiques durables. En effet, actuellement ce traitement est celui qui se rapproche le plus d'un « remède » potentiel de la SEP (Hauser and Cree 2020).

Un concept récent dans le traitement de la SEP est « l'absence de signes d'activité de la maladie » ou NEDA. Ce concept est né de la compréhension du fait que les poussées cliniques ne sont que la partie émergée de l'iceberg en termes d'activité de la maladie. Une activité inflammatoire continue, diagnostiquée par l'IRM, se produit en plus des poussées cliniques ; en outre, l'atrophie cérébrale peut progresser en l'absence d'activité inflammatoire manifeste de la maladie. Concrètement, cela a conduit à une intensification du traitement à un stade plus précoce de la maladie ou à un traitement précoce avec des thérapies hautement actives en première intention (Di Sabatino et al. 2022).

## E. Modèles de démyélinisation

Les chercheurs ont développé des modèles de démyélinisation afin d'étudier les processus mis en jeu lors des phénomènes de réparation de la gaine de myéline (remyélinisation) afin de fournir de nouvelles thérapies. Il est important de souligner qu'il n'existe pas de modèles animaux qui permettent de reproduire entièrement toutes les caractéristiques de la SEP (Ransohoff 2012). Ainsi les modèles murins sont établis pour étudier différents aspects de la pathologie.

### 1. L'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE)

Le EAE est un modèle largement utilisé pour l'étude de la physiopathologie de la SEP chez les rongeurs et les primates, ainsi que pour tester de nouvelles approches thérapeutiques. Ce modèle permet d'induire une démyélinisation de la substance blanche du SNC par une infiltration périvasculaire de cellules immunitaires en augmentant ainsi la perméabilité de la barrière hématoencéphalique (Baxter 2007). Le modèle EAE est induit par une injection de protéines totales ou de protéines purifiées de la myéline, ou encore par l'administration de peptides antigéniques de la myéline (MOG ou PLP) couplés à des adjuvants de types Freund (Bjelobaba et al. 2018). L'EAE est un modèle reproductible, bien établi, avec un profil clinique défini, le rendant approprié pour l'étude de la pertinence de différentes voies moléculaires dans la progression de la SEP ou dans l'efficacité de nouveaux traitements. Néanmoins, ce modèle induit des lésions multifocales hétérogènes ainsi qu'une variation temporelle du déclenchement de la maladie, ne permettant pas le suivi dans le temps d'un même type de lésions. Pour pallier à cela, les chercheurs ont procédé au développement d'un nouvel modèle appelé EAE focal par injection stéréotaxique d'un cocktail pro-inflammatoire chez l'animal pré-immunisé (Chaudhary et al. 2015).

### 2. Démyélinisation chronique d'origine virale

La démyélinisation peut être induite par le virus ARN à simple brin Theiler encéphalomyélite murin (TMEV). L'infection virale induit une encéphalomyélite suivie d'une démyélinisation chronique tardive uniquement dans un modèle murin (Tsunoda and Fujinami 2010). De plus, certaines souches de l'hépatite murine peuvent également induire une démyélinisation chez la souris (Das Sarma et al. 2008). L'infection intracérébrale des animaux provoque une phase encéphalite aiguë menant à une maladie démyélinisante chronique touchant principalement la moelle épinière (Denic et al. 2011). En effet, l'antigène viral est éliminé du cerveau, mais persiste dans la moelle épinière et plus précisément au niveau des oligodendrocytes (Rodriguez, Leibowitz, and Lampert 1983) et des macrophages (Lipton,

Twaddle, and Jelachich 1995). La démyélinisation active se produit aux sites d'activation de la microglie et d'infiltration des macrophages. Les plaques de démyélinisations actives sont également le siège d'infiltrats inflammatoires constitués d'un mélange de lymphocytes T CD4+ et CD8+, de lymphocytes B et de plasmocytes (Njenga et al. 2000; Pachner, Li, and Lagunoff 2011). Ainsi, les lésions induites par le virus TMEV partagent des caractéristiques similaires avec celles présentes chez les patients SEP.

### 3. Démyélinisation induite par les toxines

#### a) *La cuprizone (CPZ)*

L'utilisation de la cuprizone (bis-cyclohexanone-oxalyldihydrazone CPZ), agent chélateur du cuivre, induit une démyélinisation de la substance blanche du cerveau, suite à son administration par voie orale. Après ingestion, les effets toxiques de la CPZ vont cibler sélectivement les OL matures du SNC (Bénardais et al. 2013). En effet, plusieurs études ont révélé un dysfonctionnement mitochondrial des OL après administration de la CPZ, entraînant leur mort par apoptose. *In vivo*, la perte d'OL matures provoque une démyélinisation sévère du corps calleux ainsi que du pédoncule cérébelleux supérieur, cependant la moelle épinière n'est pas affectée par ce processus (Acs et al. 2013). Si la toxine est soustraite au régime alimentaire des souris dans un délai de 5 à 6 semaines, une remyélinisation spontanée a lieu. Passée cette période, si la prise de toxine est prolongée au-delà de 12 à 14 semaines, le renouvellement des OL n'est plus possible et la démyélinisation devient chronique (Matsushima and Morell 2001; Blakemore and Franklin 2008; Hussain et al. 2013).

#### b) *La lysolécithine ou Lysophosphatidylcholine (LPC)*

La L- $\alpha$ -lysophosphatidylcholine (LPC) ou lysolécithine est un lipide bioactif endogène généré à partir de la phosphatidylcholine. *In vivo*, l'injection de 1% de cette molécule est souvent utilisée pour induire une démyélinisation focale aiguë de la moelle épinière (Woodruff and Franklin 1999; Bielecki et al. 2016). Son efficacité a aussi été démontrée *in vitro*, sur des cultures organotypiques de cervelet (Birgbauer, Rao, and Webb 2004; Hussain et al. 2011; Meffre et al. 2015). La LPC est utilisée *ex vivo* dans des modèles de culture organotypique de cervelets ou de moelle épinière de rongeurs permettant ainsi l'étude des mécanismes de remyélinisation. En effet, des coupes para-sagittales de cervelets et transversales de moelles épinières de rongeurs âgés de 10 jours sont mises en culture pendant 7 jours puis sont traités par la LPC pendant 18-20h afin d'induire la démyélinisation des axones des cellules de Purkinje (Hussain et al. 2011).

## F. La remyélinisation

### 1. Origine des OL remyélinisants

La remyélinisation est un processus permettant de régénérer la gaine de myéline, précédemment détruite lors d'évènements pathologiques de la substance blanche ou de la substance grise (5 à 8%). Elle permet la restauration de la gaine de myéline mais également de rétablir une conduction saltatoire de l'influx nerveux favorisant, ainsi l'intégrité axonale. Le processus de remyélinisation présente de nombreuses similitudes avec la myélinisation ayant lieu au cours du développement (Fancy et al. 2011). Le développement et la régénération de la myéline impliquent donc les mêmes étapes clés, à savoir la prolifération des cellules OPC, leur migration vers les régions d'intérêts puis leur différenciation en oligodendrocytes myélinisants matures (Fancy et al. 2011) permettant la synthèse de la myéline **Figure 29**. En effet, la plupart des OPC générés pendant la période postnatale précoce, lorsque la majeure partie de la myélinisation du SNC a lieu, se différencient en oligodendrocytes matures et myélinisants. Cependant, un sous-ensemble de ces cellules reste indifférencié et dispersé dans toutes les régions du SNC afin d'être recrutées en réponse à des agressions démyélinisantes (Franklin and Ffrench-Constant 2017). Contrairement à la myélinisation qui est principalement dirigée par des signaux axonaux, la remyélinisation est induite par la neuro-inflammation (Fancy et al. 2011). Une remyélinisation rapide est nécessaire pour la restauration du support métabolique de l'axone, la reconstruction des nœuds de Ranvier voltage-dépendants nécessaires à la conduction saltatoire et à la prévention de la dégénérescence de l'axone qui permet de limiter les handicaps neurologiques (Rasband and Peles 2015). A noter que la remyélinisation aboutie à la formation des gaines de myéline plus fines que celles obtenues lors de la myélinisation (Blakemore 1974).

Des modèles animaux de démyélinisation induite par une toxine ont montré que le processus de remyélinisation est médié par le recrutement de cellules proliférantes qui acquièrent un phénotype myélinisant mature plutôt que par des oligodendrocytes post-mitotiques myélinisés restant présents dans la lésion (Levine and Reynolds 1999). Bien que ces cellules soient post-mitotiques, elles ne sont pas dotées de capacité migratoire et sont incapables de remyéliniser après transplantation dans des lésions démyélinisées (Targett et al. 1996; Keirstead and Blakemore 1997; Crawford, Tripathi, Foerster, et al. 2016). Ainsi, l'implication des oligodendrocytes matures épargnés lors de la remyélinisation reste un sujet de débat. Des études récentes n'excluent pas une régénération dynamique de la myéline par des oligodendrocytes préexistants dans la SEP. Ainsi, Yeung et al. ont utilisé la teneur globalement élevée en <sup>14</sup>C de tout le matériel biologique synthétisé pendant le pic des émissions atmosphériques des essais de bombes atomiques au début des années 1960 pour déterminer l'âge des composants cellulaires (Yeung et al. 2019). Cette étude suggère que la remyélinisation des lésions peut être

produite par des éléments préexistants et non par des éléments nouveaux formés dans la SEP. Ceci est cohérent avec les études de microscopie électronique sur des modèles animaux, dans lesquelles il a été observé que les oligodendrocytes matures survivants étendaient leurs prolongements cytoplasmiques et enveloppaient les axones démyélinisés (Duncan et al. 2018; Jäkel et al. 2019). Dans ces études, les auteurs ont observé une diminution des populations d'OPC et une augmentation de l'expression des gènes de la myéline dans les oligodendrocytes matures de la SEP, suggérant ainsi que des sous-ensembles d'oligodendrocytes matures pourraient contribuer à la remyélinisation. Par conséquent, des interventions thérapeutiques immédiates et actives qui inhibent la perte des oligodendrocytes peuvent être cruciales pour promouvoir la remyélinisation. Toutes ces études apportent de nouvelles connaissances importantes concernant le processus de remyélinisation. Cependant, des études plus approfondies et des comparaisons entre les espèces sont nécessaires pour mieux définir ce concept.



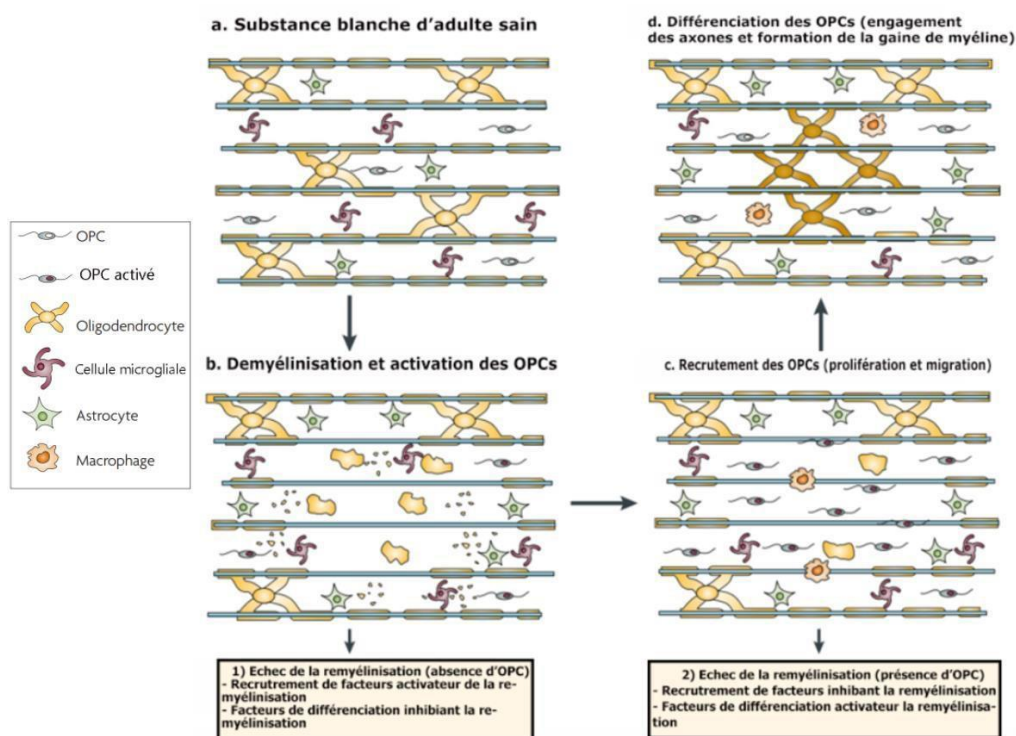


Figure 29 : Processus de recrutement et de maturation des OPC lors de la démyélinisation.

**A.** La substance blanche adulte saine contient des astrocytes, de la microglie et des précurseurs d'oligodendrocytes (OPC), en plus des oligodendrocytes myélinisés. **B.** L'activation des OPC survient après la démyélinisation (au cours de laquelle les oligodendrocytes et la myéline sont perdus), la microglie et les astrocytes s'activent et vont à leur tour stimuler les OPC présents à proximité. **C.** La Phase de recrutement : Les OPC activés répondent aux mitogènes et aux facteurs pro-migratoires générés principalement par les astrocytes réactifs et les cellules inflammatoires. Les OPC vont proliférer et migrer vers la zone démyélinisée qui sera donc abondamment peuplée par ces dernières. Les macrophages commencent également à éliminer les débris de myéline. **D.** La Phase de différenciation : au cours de la phase finale de la remyélinisation, les OPC recrutés se différencient en oligodendrocytes remyélinisants, un processus qui implique l'engagement de l'axone et la formation d'une gaine de myéline. Le défaut de remyélinisation peut être dû à un échec du recrutement des OPC. Dans ce cas, les cibles thérapeutiques devraient être des facteurs de recrutement et non des facteurs de différenciation, ce qui inhiberait la remyélinisation. Si le défaut de remyélinisation est causé par un échec de la différenciation, auquel cas les promoteurs de la différenciation sont souhaités et les promoteurs du recrutement contrecarreraient la remyélinisation. Modifié d'après (Franklin and Ffrench-Constant 2008)

## 2. Activation, recrutement et différenciation des OPC lors de la remyélinisation

En réponse à une lésion, les OPC présents localement sous une forme quiescente, vont adopter un profil régénératif. Ce « switch » induit différents changements à la fois morphologiques mais également génétiques puisque l'on constate la surexpression de plusieurs gènes codant pour des facteurs de transcriptions tels que Olig 2, NKX2.2, MYT1, Sox 10 associés à la production d'OL au cours du développement (Watanabe, Hadzic, and Nishiyama 2004; Fancy, Zhao, and Franklin 2004; Shen et al. 2008). Après lésion, les astrocytes et la microglie vont être activés car ils présentent une sensibilité élevée aux perturbations homéostatiques des tissus (Glezer, Lapointe, and Rivest 2006; Rhodes, Raivich, and Fawcett 2006; Traiffort et al. 2020). Leur contribution est majeure puisqu'elles vont

secréter des facteurs induisant une réponse proliférative rapide des OPC (Van Strien et al. 2011; Giera et al. 2018; Lindner et al. 2015; Houben et al. 2020). La microglie va phagocyter les débris myéliniques qui sont à l'origine de la production de protéines inhibitrices de la différenciation des OPC et de la remyélinisation (Pu, Stephenson, and Yong 2018; Lloyd and Miron 2019). Par ailleurs, lors de lésions aiguës, les astrocytes vont former une cicatrice gliale empêchant la propagation de facteurs neurotoxiques et vont également participer au soutien des axones démyélinisés (Chu et al. 2020). L'activation des OPC est modulée par une régulation endogène de la protéine régulatrice du cycle cellulaire p27Kip1 (Jablonska et al. 2012) et sera favorisée par des facteurs de croissances tels que le PDGF $\alpha$  et le FGF (Baaklini et al. 2019). En effet, le FGF est capable d'induire le recrutement des OPC tout en inhibant la différenciation, il permet donc la régulation de la phase de transition entre le recrutement des OL et leur différenciation (Armstrong et al. 2002; Zhou et al. 2006). L'IGF-1 joue également un rôle sur ces deux processus (Mason et al. 2003).

Les OPC sont activées et recrutées grâce au relargage de facteurs mitogènes et pro-migratoires des astrocytes et des cellules inflammatoires, vers les sites démyélinisés. On assiste donc à la phase de recrutement des OPC (Armstrong et al. 2002; Zhou et al. 2006). Afin de procéder à la remyélinisation, les OPC doivent subir une dernière étape de maturation dont l'induction est caractérisée selon trois étapes distinctes : Les OL doivent tout d'abord établir un contact avec les axones, exprimer des gènes spécifiques de la myéline et enfin générer une membrane myélinique compacte autour des axones. Le processus de différenciation observé au cours de la remyélinisation est semblable au processus de myélinisation cependant, quelques différences subsistent notamment, dans l'expression du facteur de transcription Olig 1 dont la présence n'est pas abondante lors de la remyélinisation tandis qu'elle est nécessaire au développement de la myélinisation (Xin et al. 2005). De plus, le récepteur transmembranaire Notch1 joue un rôle important dans la différenciation des OPC et dans le développement de la myéline au stade embryonnaire alors que son activation par l'IL-17 conduit à une altération de la différenciation des OPC en OL matures lors de la remyélinisation (Wang et al. 2017).



### 3. Rôle clé de l'inflammation

Des études menées sur des modèles murins (Ludwin 1980; Morell et al. 1998) et sur des tissus de patients atteints de la SEP (Raine and Wu 1993; Wolwijk 2002) ont montré une forte association entre l'inflammation et la remyélinisation. Le rôle de l'inflammation médié par la réponse immunitaire a été révélé grâce à des modèles de démyélinisation induit par des toxines. Dans ce contexte, des études ont montré que la déplétion ou l'inhibition pharmacologique des macrophages conduit à un défaut de la remyélinisation (Kotter et al. 2001; Chari et al. 2006; Pavic et al. 2021; Sariol et al. 2020). Les mêmes résultats ont été obtenus lorsque les lymphocytes T sont invalidés (Bieber, Kerr, and Rodriguez 2003; Baxi et al. 2015; Dombrowski et al. 2017). A l'inverse, la combinaison de facteurs de croissance permettant l'activation de la remyélinisation induit l'expression des cytokines et chimiokines inflammatoires (Biancotti, Kumar, and de Vellis 2008). Parmi, ces dernières, on recense l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- $\alpha$  (Arnett et al. 2001; Madsen et al. 2016), l'IL-1 $\beta$  (Mason et al. 2001), le récepteur de la lymphotoxine  $\beta$  (LT $\beta$ R) (Plant et al. 2007; Xiao et al. 2018) et les molécules du CMH de classe II (MCHII) (Arnett et al. 2003). D'autres cytokines dont l'interféron  $\gamma$  vont au contraire inhiber la remyélinisation (Lin et al. 2006; Ottum et al. 2015).

### 4. Le vieillissement, facteur d'échec de la remyélinisation.

Comme tous les processus régénératifs, l'efficacité de la remyélinisation est affectée par divers facteurs dont l'âge. La maturation des OPC est altérée chez les souris adultes associée à un échec de recrutement des OPC sur les sites démyélinisés ainsi qu'un retard de différenciation des OL (Cantuti-Castelvetri et al. 2018; Gingele et al. 2020). Des études récentes chez le rat âgé ont montré des caractéristiques de sénescence cellulaire des OPC avec des niveaux accrus de dommages à l'ADN, des dysfonctionnements mitochondriaux ainsi qu'une augmentation de l'ARNm des MAPK (Neumann et al. 2019). En culture, les astrocytes de souris âgées développent un phénotype de type sénescence pro-inflammatoire et perdent leur capacité à soutenir la différenciation des oligodendrocytes (Willis et al. 2020). D'autres études ont montré qu'un âge avancé peut également induire un défaut de la réponse microgliale lié à un retard d'expression de cytokines inflammatoires, conduisant à un arrêt de la phagocytose des débris myéliniques, dont la présence inhibe la différenciation des OPC (Zhao, Li, and Franklin 2006). Par ailleurs, dans un modèle murin, la transplantation d'OPC adultes comparée à celles d'OPC provenant de souris jeunes montre un ralentissement significatif du recrutement des OPC au niveau de la substance blanche ventrale (Chari, Crang, and Blakemore 2003). Chez l'humain, il a été constaté un échec de la différenciation des OPC au niveau des plaques de démyélinisation chroniques (Franklin and French-Constant 2017; Stangel et al. 2017). Ainsi, le vieillissement influence les processus de différenciation et

de recrutement des OPC en vue de la remyélinisation. Le vieillissement joue également un rôle critique dans la régulation de l'épigénétique des OPC. En effet, comme évoqué précédemment, la différenciation des OPC est associée à un recrutement des HDACs sur les régions promotrices ayant une activité inhibitrice de la différenciation (Marin-Husstege et al. 2002; Shen, Li, and Casaccia-Bonnet 2005). Chez les souris âgées, le recrutement de ces enzymes est altéré, ce qui conduit à une expression prolongée des inhibiteurs de la différenciation. Par conséquent, on assiste à un retard de différenciation et à terme à un ralentissement de la remyélinisation. Ce phénomène peut être reproduit via l'utilisation d'antagonistes des HDACs (l'acide valproïque) (Shen et al. 2008).

Chez l'homme, le profilage à l'échelle du génome des modifications de la méthylation de l'ADN dans les NAWM (normal-appearing white matter) de la SEP a permis l'identification de changements subtils de l'état et de la fonction des oligodendrocytes (Huynh et al. 2014). En effet, les résultats ont montré une hyperméthylation des gènes tels que MBP, SOX8 et GJB1 liés à la fonction oligodendrocytaire, tandis que les gènes hypométhylés sont associés aux processus immunitaires. Ces résultats concordent avec ceux obtenus chez le rongeur après traitement avec un inhibiteur d'HDAC où on recense l'expression accrue des gènes associés à la myéline, à savoir *sox8*, *mbp*, *cnpase*, *mog*, *mag* et *plp* (Castelo-Branco et al. 2014).

Ces éléments suggèrent une dérégulation épigénétique des gènes des OL au cours de l'inflammation du SNC via l'action combinée exercée par la méthylation de l'ADN et la désacétylation des histones, qui sont d'ailleurs connues pour être étroitement liés (Nan et al. 1998; Wade et al. 1999). Par ailleurs, les gènes régulant la survie des OL (par exemple, NDRG1 et BCL2L2) ont également été trouvés hyperméthylés et présentent des niveaux d'expression concordants plus faibles dans les NAWM de patients SEP (Huynh et al. 2014).

## 5. Nouvelles Approches de thérapies de remyélinisation

Actuellement, il existe deux approches principales qui font l'objet de nombreuses études sur des modèles animaux de démyélinisation : le remplacement de cellules par transplantation (thérapies exogènes) et les thérapies endogènes visant à promouvoir la réparation de la gaine de myéline par les populations de cellules souches et précurseurs résidant dans le SNC adulte. Ces deux thérapies se rejoignent puisque l'utilisation importante de cellules transplantées peut être à l'origine de sécrétions de facteurs permettant un renforcement de la réparation endogène. Les thérapies cellulaires ont montré leur efficacité via l'utilisation de transplantation de plusieurs types cellulaires dont les cellules primaires d'OPC (Groves et al. 1993; Zhang, Ge, and Duncan 1999; Windrem et al. 2004), de CS (Blakemore and Crang 1985; Honmou et al. 1996; Bachelin et al. 2005) ou encore de cellules souches neurales (Hammang, Archer, and Duncan 1997). De plus, chez les souris shiverer, la multiplication des sites de transplantation a permis de pallier à l'absence de myélinisation compacte, ce qui s'illustre à la fois avec l'observation

d'une myélinisation des axones mais également d'un point de vue fonctionnelle, puisque l'on constate un rallongement de la durée de vie des souris et la disparition des symptômes associés aux défauts de myélinisation (Windrem et al. 2008). Toutefois, les thérapies de transplantation cellulaire présentent des limites. En effet, l'échec de la remyélinisation chez les patients SEP ne semble pas dépendre du nombre d'OPC présent localement mais plutôt d'un défaut au niveau du recrutement des OPC ainsi que de leur différenciation. L'efficacité de la remyélinisation dépend donc de la régulation du microenvironnement qui joue un rôle délétère sur le processus de maturation des OL. L'identification en culture d'OPC et dans le modèle de souris EAE, d'un régulateur négatif (Lingo1) de la différenciation au cours du développement a montré son intérêt pour la myélinisation et la remyélinisation (Mi et al. 2005; Mi et al. 2007). Ces résultats ont permis le développement d'anticorps anti-LINGO-1 (ou opicinumab) et son utilisation chez les patients SEP. Son efficacité a été constaté en phase I (Ranger et al. 2017), cependant la phase II, a fait l'objet d'un arrêt du traitement car les patients placebo et traités ne présentaient pas de différences significatives et des effets secondaires de névrite optique aiguë ont été recensés (Ahmed, Fulton, and Douglas 2020). Inversement, le LT $\beta$ R a été identifié dans un modèle de cuprizone comme étant délétère au processus de remyélinisation. Le blocage de la voie de signalisation du LT $\beta$ R avait des effets bénéfiques significatifs sur les phases de démyélinisation et de remyélinisation dans un modèle de CPZ (Plant et al. 2007). De plus, les patients SEP présentent une augmentation significative de cette même protéine au niveau du liquide céphalorachidien contribuant à une activité pro-inflammatoire néfaste (James Bates et al. 2021). Ces résultats suggèrent que l'inhibition de la signalisation du LT $\beta$ R chez les patients atteints de la SEP pourrait être une piste thérapeutique. Par ailleurs, d'autres molécules antagonistes des récepteurs muscariniques dont la clémastine et la benzotropine ont montré leurs capacités à promouvoir la remyélinisation via la stimulation de la différenciation des OPC (Deshmukh et al. 2013; Zhifang Li et al. 2015). Ces molécules ont été approuvées par la FDA et font l'objet de succès en phase II (Green et al. 2017). Ainsi, ces résultats montrent que les recherches basées sur la capacité endogène du SNC à booster la différenciation des OPC sont nécessaires au développement de cible thérapeutique.

## 6. Remyélinisation : rôles des androgènes

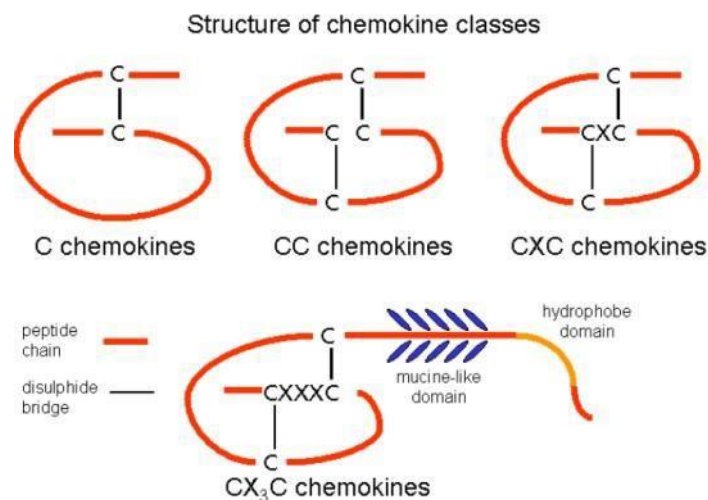
La SEP est une maladie dimorphique, puisque 3 malades sur 4 sont des femmes, cette particularité a fait l'objet de plusieurs études, afin d'évaluer le lien entre l'évolution de la SEP, le sexe et les variations hormonales. En effet, durant la grossesse, les femmes présentent des taux d'œstrogènes et de progestérone élevés, ce qui a été associé à une diminution du nombre de poussées chez les patientes SEP (Confavreux et al. 1998). D'autre part, 3 mois après la grossesse, la chute du taux de progestérone

et d'œstrogène est accompagnée par une augmentation du nombre de poussées, suggérant l'effet bénéfique de la progestérone (El-Etr et al. 2011; Sicotte et al. 2002). Les effets des hormones stéroïdiennes sur la réparation de la myéline ont été démontrés par notre équipe, à la fois *ex-vivo*, sur des cultures organotypiques de cervelets de souris, et *in vivo* par l'utilisation du modèle de démyélinisation par la CPZ (El-Etr et al. 2011; Hussain et al. 2011). Récemment d'autres études ont montré le rôle pro-myélinisant d'une autre hormone stéroïdienne : la testostérone. En effet, l'utilisation de cette hormone dans des modèles de CPZ et de LPC a montré son efficacité dans la réparation de la myéline (Hussain et al. 2013; Bielecki et al. 2016; Laouarem et al. 2021). Dans le modèle EAE, la testostérone a permis de mettre en évidence des effets anti-inflammatoires, immunomodulateurs et neuroprotecteurs (Palaszynski et al. 2004). Ces observations ont fait l'objet d'essais cliniques dont les résultats ont démontré l'effet anti-inflammatoire de la testostérone ainsi qu'une amélioration des fonctions cognitives des patients SEP (Kurth et al. 2014). Par ailleurs, la testostérone semblerait également jouer un rôle important dans la régulation du nombre et de la maturation des OL au sein du SNC, puisque l'on observe chez les souris mâles, dès les dix premiers jours postnataux, que le nombre d'OL et la densité de la myéline sont plus importants de 20% à 40 %, que chez les femelles. La castration des mâles permet de revenir au niveau observé chez les femelles soulignant ainsi l'influence des androgènes sur la survie des oligodendrocytes. Le traitement des mâles par un antagoniste (flutamide) du récepteur aux androgènes (AR) et l'utilisation de souris dépourvues du AR au niveau des cellules neurales, a permis de mettre en évidence le rôle clé du AR dans l'établissement du dimorphisme sexuel de la myéline (Cerghet et al. 2006; Abi Ghanem et al. 2017). Cependant les mécanismes d'action de la testostérone via son récepteur AR dans les processus de myélinisation et de remyélinisation restaient à découvrir.

### III. Les chimiokines et leurs récepteurs

#### A. Structure des chimiokines

Les chimiokines sont des cytokines de petites tailles (8-12kDa) majoritairement solubles et possédant 1 à 3 ponts disulfures. Elles présentent une homologie de séquence très variable allant de 20 à 90% néanmoins leur structure tertiaire semble être conservée. Les cytokines chimiotactiques appartiennent à la superfamille des chimiokines et peuvent être classées en 4 groupes (CXCL, CCL, XCL et CX3CL) selon le positionnement des deux premières cystéines situées sur la partie N-terminale. Le « X » fait référence à l'acide aminé présent entre l'espacement des cystéines hautement conservées tandis que le « L » désigne le ligand (Miller and Mayo 2017) (**Figure 30**). De plus, il existe des chimiokines à motif CXC qui sont divisées en deux sous-groupes selon la présence d'un motif ELR<sup>+</sup> ou son absence ELR<sup>-</sup> précédant la première cystéine. En effet, il a été démontré que la présence de ce motif confère une activité angiogénique alors qu'en son absence les chimiokines présentent une activité angiostatique (Geindreau, Bruchard, and Vegran 2022).

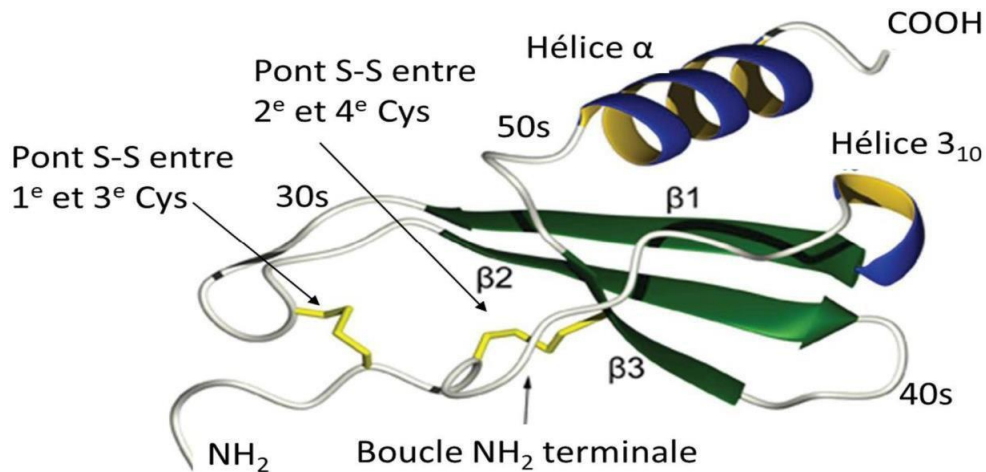


**Figure 30 :** Structure des chimiokines représentés selon les classes.

Les chimiokines de type C, CC et CXC présentent des points cystéines stabilisés par des ponts disulfures. Deux chimiokines, CXCL1 et CXCL16 possèdent une queue C-terminale contenant une tige semblable à une mucine ainsi qu'un domaine transmembranaire permettant leurs maintien à la surface de la cellule. Le clivage de ces éléments peut être réalisé par protéolyse afin de libérer la partie chimiokine dans l'espace extracellulaire. D'après (Köhidaï 1999)

Initialement, les chimiokines sont sous forme de pro-peptide composés d'environ 20 acides aminés. Le clivage de ce pro-peptide va permettre l'obtention de la forme mature et active du peptide. Dès lors, les chimiokines vont pouvoir être secrétées (Allen, Crown, and Handel 2007). La structure de la forme active est alors caractérisée par une partie N-terminale peu structurée et une partie C-

terminale structurée en hélice alpha. La molécule est stabilisée par deux ponts disulfures situés au niveau des deux premières cystéines et entre la 2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> cystéine. De plus on constate trois autres structures en feuillets  $\beta$  séparés par une longue boucle nommée « boucle N » (**Figure 31**).



**Figure 31 :** Structure tri-dimensionnelle des chimiokines.

Les différentes chimiokines adoptent une structure tertiaire formée de trois feuillets  $\beta$  antiparallèles ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$  et  $\beta 3$ ) et d'une hélice  $\alpha$  dans la partie  $-\text{COOH}$  terminale. Une hélice  $3_{10}$  se situe à l'entrée du premier feuillet  $\beta$ , après la boucle  $\text{NH}_2$  terminale. Trois boucles désignées par 30s, 40s et 50s relient, respectivement, le feuillet  $\beta 1$  au feuillet  $\beta 2$ , le feuillet  $\beta 2$  au feuillet  $\beta 3$  et le feuillet  $\beta 3$  à l'hélice  $\alpha$  en C-terminal. L'extrémité  $-\text{NH}_2$  terminale est flexible. Pour les chimiokines des sous familles CC, CX3C et CX3C, des ponts disulfures (S-S), présentés en jaune sur la figure, sont établis entre, la première et la troisième cystéine et la seconde et la quatrième cystéine rencontrées dans la séquence en commençant par l'extrémité  $-\text{NH}_2$  terminale. Modifié d'après (Nguyen and Vogel 2012; Miller and Mayo 2017)

## B. Rôle des chimiokines

Chez l'humain on dénombre plus de 50 chimiokines dotées de propriétés chimioattractantes sélectives qui permettent la coordination des cellules leucocytaires circulantes ainsi que leur déplacement vers le site d'inflammation ou d'infection (Mantovani et al. 2010). Les chimiokines ont été classées selon leurs propriétés homéostatiques ou inflammatoires en fonction de leurs modes d'expression et de leurs fonctions associées (Cuesta-Gomez, Graham, and Campbell 2021). Les chimiokines homéostatiques sont produites de manière constitutive et assurent le maintien du trafic leucocytaires en préparation d'une éventuelle réponse immunitaire. De plus elles jouent également un rôle crucial au cours du développement embryonnaire en orchestrant par exemple des processus tels que l'hématopoïèse ou l'organogénèse (McGrath et al. 1999). Contrairement aux chimiokines homéostatiques, les chimiokines inflammatoires sont présentes à de très faibles taux en absence de lésions tissulaires. Elles sont produites par des cellules activées ou bien par des médiateurs pro-inflammatoires (l' $\text{IFN-}\gamma$ , les facteurs de nécrose tumorale et les lipopolysaccharides) afin d'induire le

recrutement des leucocytes circulants vers le site inflammé (Chen et al. 2018). Néanmoins, selon le contexte biologique les chimiokines peuvent présenter des propriétés à la fois homéostatiques et inflammatoires (Zlotnik and Yoshie 2012).

Les chimiokines exercent leurs pouvoirs attractants en se liant à leurs récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G hétérotrimériques (Moser and Loetscher 2001). Elles peuvent relier un ou plusieurs récepteurs avec une affinité plus ou moins élevée, par exemple le récepteur CXCR2 peut être activé par 7 chimiokines avec une forte affinité alors que CXCR1 reconnaît deux chimiokines dont CXCL8 et CXCL6, cependant son affinité est plus importante pour le CXCL8 (Rajagopalan and Rajarathnam 2006) **Figure 32**. Lorsque la transduction du signal est établie, les cellules vont migrer de manière directionnelle via un gradient de concentration. Outre, l'interaction avec leurs récepteurs, les chimiokines peuvent également participer à la rétention de cellules endothéliales grâce à leurs liaisons avec les glycosaminoglycanes (GAGs) (Massena et al. 2010; Sarris et al. 2012; Nourshargh and Alon 2014) et peuvent également contribuer à exacerber l'inflammation. L'interaction entre les GAGs et les chimiokines a permis l'émergence de nouvelles stratégies thérapeutiques prometteuses visant à diminuer l'inflammation excessive notamment par l'utilisation de peptides et de spiegelmers tel que le NOX-A12 (Crijns, Vanheule, and Proost 2020).

## C. Le ligand CXCL12

### 1. Identification

CXCL12 ou SDF-1 (stromal cell derived factor-1) est une chimiokine de petite taille (10kDA). Sa séquence est homologue à celle des cytokines IL-8 et MIP-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ ) et comporte 4 résidus cystéines, ce qui permet sa classification dans le groupe des chimiokines de type CXC (Oppenheim et al. 1991). En effet, cette population de chimiokine est la plus impliquée dans les phénomènes de chimiotaxie des lymphocytes. CXCL12 présente la particularité d'être la seule chimiokine impliquée dans la colonisation hématopoïétique au cours de l'embryogénèse (Nagasawa et al. 1996; Nagasawa 2000).

CXCL12 a été pour la première fois isolée à partir de lignées murines de cellules stromales de la moelle osseuse (Tashiro et al. 1993) et a été caractérisée pour la première fois comme un facteur stimulant la croissance des cellules pré-B (PBSF) (Nagasawa, Kikutani, and Kishimoto 1994; Nagasawa, Tachibana, and Kawabata 1999). Comparé à la plupart des chimiokines, le gène *Cxcl12* présente une forte homologie de séquence non seulement chez l'homme et la souris mais aussi chez les vertébrés inférieurs (Shirozu et al. 1995). L'épissage alternatif du gène *Cxcl12* contribue à l'obtention de six isoformes chez l'homme ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et  $\theta$ ) et trois isoformes fonctionnelles chez la souris, avec  $\alpha$ ,  $\beta$  et

γ qui compte respectivement 68, 72 et 98 acides aminés (Janssens, Struyf, and Proost 2018) . On retrouve la même séquence au niveau de partie N-terminale avec 89 acides aminés cependant on constate l'apparition de 4 acides aminés supplémentaires sur la partie C-terminale de l'isoforme CXCL12β (Tashiro et al. 1993;Shirozu et al. 1995). Un dernier isoforme a été mis en évidence à partir d'une banque d'ADNc de rats adultes CXCL12γ. Cet isoforme est constitué de la même séquence nucléotidique que celle observée pour l'isoforme CXCL12β complétée par une insertion de 2572 nucléotides en aval du codon 89 situé sur la partie C-terminale (Gleichmann et al. 2000).

## 2. Expression

CXCL12 est exprimé au niveau de divers tissus selon le transcrite. Chez le rat, on retrouve une expression de CXCL12β au niveau des reins, du foie, du thymus et de la rate. Il est prédominant dans le cerveau et le nerf sciatique au stade embryonnaire et néonatal, suggérant une régulation post-transcriptionnelle du gène *Cxcl12* au cours du développement du système nerveux (Gleichmann et al. 2000). Par ailleurs, l'isoforme CXCL12γ est plutôt exprimé au niveau du cœur, des poumons et du SNC mature. Cependant on observe un même niveau d'expression de CXCL12β/γ au 4<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour après la naissance permettant la différenciation des cellules gliales et la maturation neuronale.

Ainsi, seules les isoformes CXCL12β/γ sont très largement exprimés dans le néocortex, l'hippocampe et le cervelet. Les transcrits CXCL12α/β ont été détectés dans des cultures de cellules astrocytaires de rat (Ohtani et al. 1998). Concernant, le SNP le transcrite CXCL12γ est fortement exprimé par les cellules de Schwann (Gleichmann et al. 2000).

## 3. Régulation

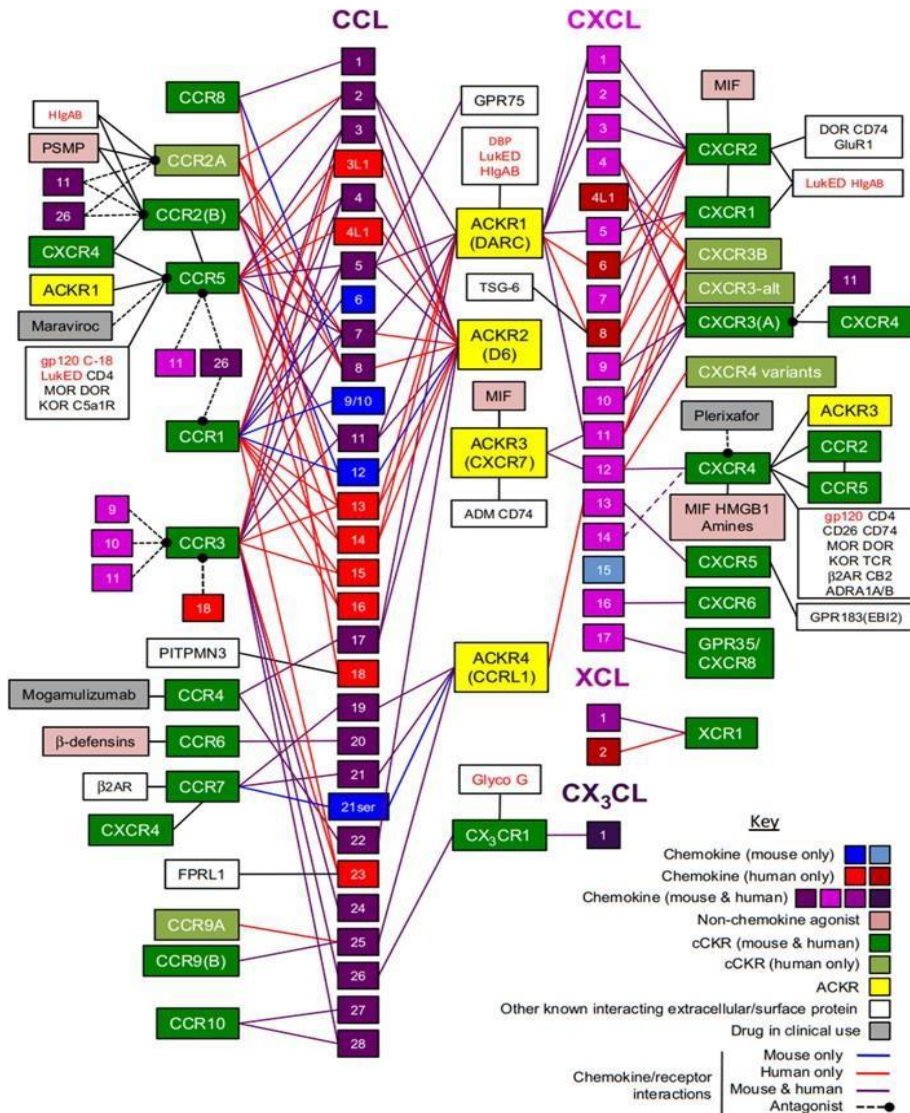
Contrairement aux autres chimiokines, CXCL12 est exprimé de manière constitutive par de nombreux tissus et organes. Cependant, en contexte inflammatoire ou lors de dommages tissulaires, l'induction de l'expression de CXCL12 est requise. Par exemple lors d'un dommage tissulaire, l'expression de CXCL12 favorise la chimio-attraction des cellules souches CXCR4 positive, vers les sites lésés afin de participer à leurs régénérations (Yamada et al. 2011; Leung et al. 2015). De plus, l'augmentation de l'angiogénèse médiée par le VEGF dans certains cancers tels que le glioblastome exerce une régulation positive du gène *cxcl12* (Hong et al. 2006). En condition de stress cellulaire dû à une diminution d'oxygène, de même que pour CXCR4, l'augmentation de HIF 1-α engendre une forte expression de CXCL12 par les cellules endothéliales et plus récemment, le même processus a été démontré dans des cellules hépatiques (Strickland, Garrison, and Copple 2020). En effet, le promoteur de CXCL12 contient des sites de liaison au facteur HIF-1α (Ceradini et al. 2004). Par ailleurs, l'expression de CXCL12 peut être inhibée par le suppresseur de tumeur Von Hippel-Lindau (VHL), cependant, en



condition hypoxique ou lors de l'inactivation de ce gène, cet effet peut être annulé (Wagner et al. 2009). De la même façon, il a été démontré que d'autres types de stress cellulaires induits par des agents mutagènes tels que le traitement par irradiation ou l'exposition au cyclophosphamide et au 5-fluorouracile, contribuent à l'augmentation de l'expression de CXCL12 (Ponomaryov et al. 2000; Ahn et al. 2019; Liao et al. 2021). Par ailleurs, le traitement par irradiation a permis de mettre en évidence d'autres facteurs de transcription de régulation positive du gène tels que SP1, AP-1 et 2 ainsi que EGR-2 (García-Morúa et al. 2005).

#### D. Les récepteurs de chimiokines : structure et régulation

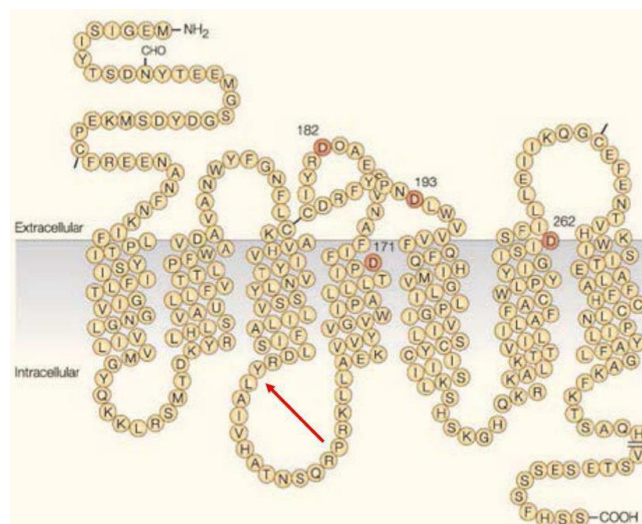
Les chimiokines exercent leurs fonctions via l'activation de récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G hétérotrimériques appartenant à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) (Nomiya and Yoshie 2015). Ils existent également des chimiokines qui établissent des liaisons avec des récepteurs non couplés aux protéines G appelés récepteurs atypiques (ACKRs) (Bachelier et al. 2014). Une autre particularité des ACKRs est caractérisée par la présence d'un motif DRY muté ne permettant pas l'activation de la chimiotaxie, la mobilisation du calcium, le signal extracellulaire ou encore la dégradation du CXCL12. (Sierro et al. 2007; Thelen and Thelen 2008; Naumann et al. 2010). On distingue 4 types de ACKR (de 1 à 4) qui sont principalement exprimés par des types cellulaires non leucocytaires telles que les érythrocytes, les cellules endothéliales lymphatiques ou vasculaires (Bachelier et al. 2014; Graham et al. 2012). Contrairement aux récepteurs canoniques, les ACKRs n'induisent pas de migration cellulaire en raison de leur incapacité structurelle à se coupler aux protéines G. En effet, l'activation des ACKRs permet la modulation de la biodisponibilité des chimiokines via leur transport vers des compartiments de dégradation (Dean 2005). Ils peuvent également participer à la régulation de l'expression ou de la signalisation d'autres RCPGs (Nibbs and Graham 2013).



**Figure 32 : Représentation schématique de l'interaction entre les récepteurs de chimiokines et leurs ligands, des molécules de surface cellulaires sécrétées ainsi que des molécules de sécrétions par des agents pathogènes chez les mammifères.** Les chimiokines des quatre sous-classes (CCL, CXCL, CX<sub>3</sub>CL et XCL) sont disposées numériquement en colonnes et sont représentées sous forme de carrés numérotés. Un code couleur est attribuée selon qu'elles se trouvent chez l'homme ou la souris. Les chimiokines sont reliées par des lignes aux récepteurs auxquels elles sont connues pour se lier : les cases jaunes sont des récepteurs de chimiokines atypiques (ACKR) (les noms précédents sont indiqués entre parenthèses) ; les cases vertes sont des récepteurs de chimiokines conventionnels (cCKR) ; et les cases vert clair montrent les variants de cCKR humains signalés, générés par épissage alternatif à l'extrémité N-terminale (CCR9, CXCR3, CXCR4) ou C-terminale (CCR2). Les lignes noires en pointillés se terminant par un cercle indiquent les antagonistes des récepteurs à chimiokines. La modulation positive allostérique de CXCL14 sur CXCR4 est désignée par une ligne en pointillée violette (Collins et al. 2017). Les protéines non-chémokines dans les boîtes rose clair sont capables d'activer le récepteur CXCR auquel elles sont reliées par une ligne noire. Les cases blanches contiennent des protéines microbiennes (texte en rouge) et d'autres protéines extracellulaires/surfaces de l'hôte (texte noir ; non chimiokine, récepteur non chimiokine) qui ont été signalées comme interagissant, en l'absence de chimiokine, avec le cCKR ou l'ACKR auquel elles sont reliées par une ligne noire. D'après (Hughes and Nibbs 2018).

Les récepteurs de chimiokines présentent un court domaine N-terminal extracellulaire acide sur lequel des résidus tyrosines peuvent être sulfatés, ce qui a été démontré comme étant crucial pour l'activité de CCR5 (corécepteur du VIH) (Farzan et al. 1999). La queue C-terminale est située dans le milieu

intracellulaire et participe à la modulation de la transduction du signal du récepteur via la phosphorylation des résidus sérine et thréonine (Monteclaro, Arai, and Chard 1997; Shukla et al. 2014). Entre la partie N-terminale et C-terminale, on retrouve trois boucles extracellulaires hydrophiles ainsi que trois autres boucles intracellulaires. Les domaines extracellulaires sont donc essentiels à la reconnaissance du ligand tandis que les domaines intracellulaires vont fortement contribuer à la régulation de l'expression du récepteur mais également à la transduction du signal. En plus de posséder un pont disulfure entre les boucles extracellulaires 1 et 2, les récepteurs à chimiokines présentent la particularité d'établir un second pont disulfure entre la troisième boucle intracellulaire et la partie N-terminale du récepteur (Springael, Urizar, and Parmentier 2005). L'importance de ces ponts disulfures se reflète quant à la reconnaissance du ligand par le récepteur, pour le maintien de sa structure mais également pour assurer sa signalisation (Tournamille et al. 1997; Bondue et al. 2002; Aiand Liao 2002). L'activation des voies de signalisation est médiée par des protéines G qui sont couplées à la partie C-terminale mais qui sont également présentes au niveau de la troisième boucle extracellulaire (Murdoch and Finn 2000). Au niveau du deuxième domaine transmembranaire, on recense la présence systématique du motif TXP (Thréonine-X-Proline). En effet, il a été démontré que la mutation de la proline dont le récepteur CCR5 diminue la liaison au ligand, entraînant une absence de réponse fonctionnelle du récepteur (Govaerts et al. 2001). Le motif TXP est donc nécessaire au maintien de la structure des récepteurs de chimiokines. Enfin, le motif DRY (Asp-Arg-Tyr) est également propre aux récepteurs de chimiokines et sa présence au niveau de la seconde boucle intracellulaire assure l'ancrage et la signalisation des protéines G (Mantovani, Bonecchi, and Locati 2006; Murphy et al. n.d.; Venkatakrishnan et al. 2013; Leschner et al. 2013), **Figure 33**.



**Figure 33 : Structure du récepteur à sept domaines transmembranaire CXCR4.**

Chaque lettre représente un acide aminé différent. Le motif DRY est désigné par la flèche rouge. Les résidus d'acide aspartique indiqués en rouge en position 171, 182, 193 et 262 sont cruciaux pour l'interaction avec l'inhibiteur du CXCR4 (l'AMD3100) (De Clercq 2015).

## E. Le récepteur de chimiokine CXCR4

### 1. Identification

CXCR4 fut pour la première fois isolé et cloné à partir d'une librairie de monocytes humains. Son identification lui a valu le nom de LESTR (leukocyte-derived seven-transmembrane domain receptor). Cette protéine longue de 352 acides aminés présente une forte homologie de séquence avec l'Interleukin 8 et plus particulièrement avec ces deux récepteurs (IL-8R1 et IL-8 $\beta$ ). De plus, l'expression de ce clone a été fortement identifiée au sein des globules blancs. Cette découverte suggère que cette protéine pourrait avoir un rôle majeur dans l'activation des cellules inflammatoires (Loetscher et al. 1994). Par la suite, des études ont montré que ce récepteur à 7 domaines transmembranaires, désormais prénommé fusin, est impliqué dans l'entrée du VIH au sein des lymphocytes T CD4+ (Feng et al. 1996). Son unique ligand SDF-1 (Stromal cell Derived Factor-1), a par la suite été mis en évidence permettant ainsi la classification du récepteur de chimiokine, désormais prénommé CXCR4 (Bleul et al. 1996).

### 2. Structure

Le récepteur de chimiokine CXCR4 présente les caractéristiques classiques des RCPG à savoir une partie N-terminale extracellulaire composée de 39 acides aminés, sept domaines transmembranaires de type hélices alpha ainsi qu'une partie C-terminale intracellulaire de 45 acides aminés (Wu et al. 2010). Toutefois on dénombre des différences structurales constituant la particularité de ce récepteur. En effet, on constate un décalage de l'hélice vers l'axe central provoqué par un repliement plus important de l'hélice alpha I (9 Angströms) que celui observé chez les RCPG typiques tels que le  $\beta_2$ AR. Par ailleurs, l'hélice alpha II présente un virage hélicoïdal plus serré au niveau de la proline 92 (Wu et al. 2010). Enfin, l'hélice alpha VII est plus longue (2 tours) que celle observée chez la plupart des RCPG ce qui permet un décalage du résidu Cy274 facilitant ainsi la création d'un pont disulfure avec le résidu Cys28 de la partie N-terminale du récepteur (Veldkamp et al. 2008). L'interaction entre le récepteur CXCR4 et son ligand CXCL12 est assurée par l'introduction de la partie N-terminale et notamment par les deux premiers résidus (la lysine[K]1 et proline[P]2) dans la cavité transmembranaire, conduisant à l'activation du récepteur (Wu et al. 2010; Kufareva et al. 2014; Qin et al. 2015; Ziarek et al. 2017).

### 3. Expression et régulation

Les récepteurs de chimiokines sont de manière générale exprimés à la surface des cellules hématopoïétiques mais également sur les cellules dotées d'une importante capacité de mobilité telles que les lymphocytes T, les lymphocytes B, les cellules NK, les neutrophiles, les monocytes ainsi que les

cellules progénitrices de la moelle CD34+ (Miller, Banisadr, and Bhattacharyya 2008). CXCR4 apparaît donc comme jouant un rôle clé dans le recrutement des cellules sur le site inflammé, dans la domiciliation (homing) mais également dans la rétention ou le relargage des cellules progénitrices présentes dans le foie et la moelle osseuse. Pour preuve, il a été démontré que les souris Knock out pour CXCR4 ne sont plus en capacité de maintenir les lymphocytes pro-B au niveau des organes hématopoïétiques (Zou et al. 1998; Ma, Jones, and Springer 1999; Singh, Mohammad, and Pelus 2020).

Le pouvoir chimiotactique du CXCR4 peut être régulé via son expression. En effet, l'étude de son promoteur a permis la mise en évidence de deux facteurs de transcriptions. Le facteur NRF-1 ainsi que SP1 régulent positivement l'expression du CXCR4 (Moriuchi et al. 1997; Wegner et al. 1998) tandis que le facteur YY1 le régule négativement (Ying Yang 1) (Moriuchi et al. 1999). Récemment, une étude a mis en évidence deux facteurs de transcriptions de type E-protéine (E2A et HEB) impliqués dans l'induction de l'expression du CXCR4 sur des cellules spécialisées du thymus : les thymocytes. La rétention de ces cellules via l'expression du CXCR4 est nécessaire à la présélection des thymocytes voués à migrer vers la médulla thymique après l'expression du marqueur de surface TCR (T Cell Receptor) (Kadokia et al. 2019).

D'autres messagers secondaires participent à l'augmentation de l'expression du CXCR4 tels que le calcium (Wu et al. 2009), l'AMPc (Cristillo et al. 2002), les cytokines, les interleukines (Jourdan et al. 2000; Wang et al. 2001), le TGF-1 $\beta$  (Transforming growth factor 1 $\beta$ ) (Chen et al. 2005) ainsi que des facteurs de croissance tels que bFGF (basic fibroblast growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor) ou encore EGF (epidermal growth factor) (Salcedo et al. 1999). Le stress cellulaire ou l'apoptose sont caractérisés par le relargage de molécules telles que les DAMP (damage-associated molecular pattern) afin d'alerter leur microenvironnement et le système immunitaire inné. Parmi les DAMPs on retrouve la protéine HMGB1 (High mobility group box 1) dont la liaison avec CXCL12 (ligand du CXCR4) forme un hétérocomplexe capable de se lier à CXCR4. La liaison de ce complexe au récepteur CXCR4 induit un changement de conformation permettant l'activation d'une migration cellulaire plus importante par rapport à sa liaison avec le CXCL12 (Schiraldi et al. 2012). Une étude récente a montré qu'une forme réduite de l'HMGB1 appelée 3S-HMGB1 peut se fixer directement sur le récepteur sans établir de complexe avec CXCL12, provoquant une action plus efficace sur la migration cellulaire et la régénération musculaire que celle exercée par le complexe l'HMGB1/CXCL12 (Tirone et al. 2018).

La diminution de l'expression du CXCR4 peut être induite par des cytokines pro inflammatoires telles que l'interféron gamma (INF- $\gamma$ ) et TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha) (Katayama et al. 2005; Han et al. 2001).

Le stress cellulaire, notamment les phénomènes hypoxiques, contribuent à la modulation positive de l'expression du CXCR4 (Dai, Hu, and Zheng 2017). En effet, l'étude du promoteur du CXCR4 a mis en évidence un élément de liaison pour le facteur de transcription HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-inducible factor 1 alpha) (Schioppa et al. 2003). Par ailleurs, il existe d'autres liaisons sur le promoteur CXCR4, les sous unités p65 et p50 du facteur nucléaire NF-kB (Helbig et al. 2003) qui contribuent à sa surexpression.

Enfin l'expression du CXCR4 est également retrouvée dans d'autres types cellulaires telles que les cellules endothéliales (Kollet et al. 2003), les cellules endovasculaires ou encore dans des neurones du système nerveux central et périphérique (Ji et al. 2004; Heskamp et al. 2013; Zanetti et al. 2019). En effet, la délétion homozygote pour le gène CXCR4 est létale pour les souris pendant la gestation ou peu après la naissance due à des défauts de développement vasculaire, hématopoïétique et cérébelleux. Les mêmes effets sont observés chez les souris dépourvues du gène CXCL12 (Ma et al. 1998; Tachibana et al. 1998; Zou et al. 1998). Ceci témoigne de la proximité entre le récepteur et son ligand CXCL12, qui, contrairement aux autres récepteurs de chimiokine, est le seul agoniste chimiokine pour CXCR4. Néanmoins, CXCL12 possède un autre récepteur dit « atypique » le CXCR7 ou ACKR3.

#### F. Le récepteur atypique (ACKR3 : CXCR7)

Comme mentionné précédemment, CXCL12 peut exercer son activité par l'action d'un autre récepteur, ACKR3, dit atypique dont l'activation de la signalisation n'implique pas les protéines G (Bonecchi and Graham 2016). ACKR3 joue un rôle aussi bien au niveau du SNC (Chu et al. 2017) qu'au niveau de l'angiogenèse (Zhang et al. 2017), la neurogenèse (Kremer et al. 2016) et la cardiogenèse (CehOLki et al. 2017). Bien que les souris ACKR3  $-/-$  knock-out présentent une hématopoïèse normale, elles meurent en période périnatale en raison d'une malformation cardiaque, d'une perturbation de la lymphangiogenèse et d'une hyperplasie des cardiomyocytes (Sierro et al. 2007; Gerrits et al. 2008; Yu et al. 2011). L'action du CXCR4 et ACKR3 est complémentaire notamment dans la migration des cellules progénitrices au cours du développement embryonnaire. ACKR3 séquestre le CXCL12 de la zone non ciblée afin d'assurer la migration correcte des cellules CXCR4+. En effet, sans ACKR3 le gradient de CXCL12 nécessaire à une migration directionnelle n'est plus contrôlé car les cellules répondant au CXCL12 migrent dans des régions indésirables (Würth et al. 2014). De plus, des études montrent que ACKR3 est capable de réguler l'activité du CXCR4 par l'internalisation de CXCL12 (Singh et al. 2013) ou par la formation d'un complexe hétérodimère avec CXCR4 en réponse à CXCL12 (Levoye et al. 2009). Ainsi, la signalisation de ACKR3 dépend du contexte cellulaire et de son expression relative par rapport à celle du CXCR4.

L'implication du ACKR3 dans la physiopathologie de la sclérose en plaque a été mis en évidence dans les phénomènes d'infiltration des cellules immunitaire à travers la BHE, dans la chimiotaxie



ainsi que dans la démyélinisation. En effet, ACKR3 est exprimé par les cellules endothéliales de la BHE et contribue à la sequestration du CXCL12 induisant une modification spatiale de la répartition du CXCL12, facilitant ainsi l'infiltration des cellules immunitaires au sein du CNS chez les patients mais également dans le modèle d'EAE (Cruz-Orengo et al. 2011). De plus, des études *in vivo* et *in vitro* ont permis d'identifier une expression du ACKR3 spécifique aux astrocytes sous l'effet de l'INF- $\gamma$  en condition inflammatoire. L'augmentation de l'expression du ACKR3 est inversement corrélée avec celle de son ligand confirmant la séquestration du CXCL12 (Ottum et al. 2015; Puchert et al. 2017; Williams et al. 2020). Ces éléments attestent du rôle délétère du ACKR3 dans l'inflammation du SNC au cours de la SEP. L'utilisation de modèles de démyélinisation a permis d'identifier une forte expression du ACKR3 dans les phases de demyélinisation et un retour à son niveau basal lors de la remyélinisation, contrairement à l'axe CXCL12/CXCR4 qui est fortement impliqué lors de la remyélinisation (Williams et al. 2014a; Banisadr et al. 2016). Ainsi, ACKR3 participe à la régulation de la biodisponibilité du CXCL12, et peut empêcher sa liaison au CXCR4 afin d'assurer la prolifération et la différenciation des OPC. Ces données ont été confirmées par l'utilisation d'un antagoniste du ACKR3 qui a permis de stimuler la différenciation d'OL mature ainsi qu'une augmentation du CXCL12 (Pouzol et al. 2021). Par contre, l'inhibition du CXCR4 a induit l'abolition de l'effet réparateur de l'axe CXCR4/CXCL12 (Williams et al. 2014). Toutes ces données témoignent de l'effet délétère du ACKR3 à la fois sur la neuroinflammation et sur la remyélinisation.

#### IV. Liaison de la chimiokine CXCL12 à son récepteur CXCR4

La chimiokine CXCL12 se lie à son récepteur via le motif REFRESH, site de liaison, permettant l'initiation de l'étape d'ancrage (Huang et al. 2003). De plus, les résidus glutamines et tyrosines situés sur la partie N-terminale du récepteur CXCR4 sont également impliqués dans la liaison ligand/récepteur. On observe dès lors, un changement de conformation permettant la liaison de 8 résidus de la partie N-terminal de CXCL12 avec l'asparagine 187 et la glutamine 268 de la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> boucle, respectivement (Brelot et al. 2000; Zhou et al. 2001). Puis, l'activation de la signalisation du récepteur est induite suite à un changement de conformation des hélices transmembranaires, facilitant ainsi la liaison à la protéine G intracellulaire (Crump et al. 1997). Récemment, des études ont montré le rôle clé des deux premiers résidus de la partie N-terminale dans l'interaction entre CXCL12 et son récepteur canonique CXCR4 ainsi que son récepteur atypique ACKR3. En effet, la modification des deux premiers résidus de la partie N-terminale du CXCL12 entraîne l'inhibition du CXCR4 alors que ces derniers conduisent à l'activation de ACKR3 (Jaracz-Ros et al. 2020). Ainsi, la structure de la queue N-terminale détermine la sélectivité de CXCL12 pour l'un de ses deux récepteurs.

## A. Rôle physiologique de l'interaction entre CXCL12 et CXCR4

L'axe CXCL12/CXCR4 est impliqué dans divers processus essentiels au développement normal des organes. De même que la déplétion du gène *cxcr4*, les souris dépourvues du gène *Cxcl12* présentent des malformations cardiaques sévères et une diminution drastique des lymphocytes B (Nagasawa et al. 1996; Ma et al. 1998; Tachibana et al. 1998; Zou et al. 1998). Ainsi, des phénotypes similaires sont observés, ce qui témoigne d'une relation étroite, presque exclusive, entre le récepteur CXCR4 et son ligand CXCL12, qui, contrairement aux autres récepteurs de chimiokine est le seul agoniste chimiokine endogène pour CXCR4. Néanmoins, des études ont montré que CXCL12 servirait aussi de ligand pour un autre récepteur de chimiokine ACKR3 (Balabanian et al. 2005).

Chez les souris adultes, CXCL12 est fortement exprimé par les cellules stromales situées au niveau des niches de la moelle osseuse qui va contribuer à la chimio attraction des cellules hématopoïétiques et progénitrices portant CXCR4 (Aiuti et al. 1997). Par ailleurs, CXCL12/CXCR4 joue un rôle clé dans le développement des lymphocytes B précurseurs (Ma, Jones, and Springer 1999; Egawa et al. 2001; Laparidou et al. 2020).

Au sein du SNC, CXCL12 et CXCR4 sont exprimés de manière constitutive au stade mature et embryonnaire. Dans les premiers stades de développement, CXCR4 est principalement détecté au niveau des niches spécialisées (zone ventriculaire, subventriculaire et marginale). Son expression favorise la survie et la prolifération des cellules précurseurs (Stumm et al. 2003; Borrell and Marín 2006). De plus, CXCL12/CXCR4 régulent directement la migration des précurseurs neuronaux corticaux (Li et al. 2008), y compris les cellules corticales de Cajal-Retzius (CR) (Borrell and Marín 2006; Ogawa et al. 1995), les cellules précurseurs des granules du gyrus denté (GPC) (Bagri et al. 2002) et les GPC cérébelleux (Reiss et al. 2002). Le couple CXCL12/CXCR4 est donc nécessaire à la formation des structures complexes laminées du cortex au cours du développement précoce. Pour illustrer cela, les chercheurs ont montré, sur des souris CXCR4<sup>-/-</sup> une migration anormale des précurseurs des cellules granuleuses entraînant des groupes ectopiques sous la couche de cellules de Purkinje (Zou et al. 1998). A noté que, le même phénotype a été observée pour les souris CXCL12<sup>-/-</sup> (Ma et al. 1998). Par ailleurs, au niveau du système nerveux périphérique, le couple CXCL12/CXCR4 montre toute son importance dans le processus migratoire des précurseurs de neurones sensoriels des ganglions de la racine dorsale (DRG). En effet, les souris CXCR4<sup>-/-</sup> témoignent d'une malformation des DRG (Dorsal Root Ganglion) avec une diminution de leurs tailles (Belmadani et al. 2005).

A l'état adulte, CXCL12 et son récepteur jouent un rôle primordial dans différents processus tels que la neuromodulation, la neurotoxicité/neuroprotection ou encore dans la communication intercellulaire neurale. La stimulation de CXCL12, dans des cultures organotypiques de cervelets



a montré une augmentation importante de l'activité synaptique spontanée des cellules de Purkinje (Limatola et al. 2000). Il apparaît également que la chimiokine CXCL12 favoriserait la survie neuronale (Khan et al. 2005). Inversement, CXCL12 peut induire l'augmentation du facteur pro-apoptotique p53 et provoquer une mort neuronale (Hesselgesser et al. 1998). Enfin, l'expression du CXCR4 est retrouvée dans les cellules microgliales et astrocytaires du SNC mature (Tanabe et al. 1997; Ohtani et al. 1998; Luo et al. 2016). La communication entre ces cellules est entre autres régulée par le couple CXCL12/CXCR4. En effet, les astrocytes produisent du TNF- $\alpha$  sous la stimulation de la chimiokine CXCL12 ce qui entraîne non seulement la libération du glutamate mais provoque également un dérèglement des astrocytes. En même temps, la microglie activée du microenvironnement procède à la libération du TNF- $\alpha$  en réponse à la stimulation du CXCR4 (Bezzi et al. 2001; Cali and Bezzi 2010).

## B. Signalisation du récepteur de chimiokine CXCR4

### 1. Protéine G dépendant

Après reconnaissance de son ligand, la signalisation intracellulaire du CXCR4, passe en grande partie par l'activation de la sous unité G $\alpha$ i. Pour preuve, son inhibition abolit la quasi-totalité des signalisations médiées par CXCL12 (Di Salvo et al. 2000; Drury et al. 2011). Les cellules qui répondraient encore au stimuli du ligand, passeraient par la liaison avec le CXCR4 des autres sous unités de type G $\alpha$  : G $\alpha$ s, G $\alpha$ q ou encore G $\alpha$ 12 (Rubin 2009). Une fois enclenchées, les voies de signalisations du CXCR4 vont engendrer la transcription des gènes, la migration cellulaire ou l'adhésion cellulaire.

L'adénylate cyclase est inhibé après l'activation de la sous unité G $\alpha$ i permettant l'induction des tyrosines, appartenant à la famille Src (Busillo et al. 2010). C'est alors que MEK entre en jeu afin d'induire la cascade des MAPK ERK1/2. L'activation des kinases ERK1/2 peut conduire à trois réponses selon la voie empruntée. Les kinases ERK1/2 peuvent être directement transloquées dans le noyau afin d'induire la transcription des gènes cibles, ou bien subir une étape de phosphorylation du facteur de transcription Elk dans le but d'assurer la prolifération et la survie cellulaire (Zhao et al. 2006). Enfin, une dernière réponse menant à la migration des cellules est également possible.

L'initiation de la voie enclenchée par la sous unité G $\alpha$ s, engendre une augmentation intracellulaire de l'adénylate cyclase et de l'AMPc permettant l'activation de PKA ainsi que du facteur de transcription CREB dans le but d'activer la transcription de gènes cibles.

L'adhérence cellulaire s'effectue via les sous unités G $\alpha$ i et G $\alpha$ q qui vont stimuler le PLC- $\beta$  et activer la PKC afin de mobiliser le calcium intracellulaire et la sécrétion du diacylglycérol (DAG) (Wang, Doronin, and Malbon 2000; Palm et al. 2005). Par ailleurs, l'activation de la voie PKC $\zeta$  par PI3-K/Akt peut contribuer à la mobilité, l'adhésion et la prolifération cellulaire en régulant la polymérisation des

filaments d'actine indépendamment du calcium et de la production du DAG (Petit et al. 2005). De plus, la signalisation du PKC $\zeta$  peut également augmenter la sécrétion de la métalloprotéase matricielle MMP-9 favorisant l'invasion des cellules (Urtreger et al. 2005). A noter qu'il existe un système de régulation supplémentaire des MMP-9 via le facteur de transcription NF-kB.

La migration des cellules est assurée par la sous unité G $\alpha$ 12. Tout d'abord, l'implication des guanine exchange factor (GEFs) de la famille Rho est requise pour l'activation des effecteurs ROCK, Rho-dépendant. La réponse au ligand est finalement effectuée par la myosine II non musculaire (Bastian et al. 2005). La rétention cellulaire est quant à elle, médiée par la phosphorylation de la tyrosine kinase Pyk2, ce qui conduit à la régulation des kinases d'adhésions telles que FAK, CT10 regulator of kinase (Crk) et paxilline (Ganju et al. 1998).

La signalisation des protéines G est inhibée par la liaison avec  $\beta$ -arrestine qui exerce un rétrocontrôle négatif sur l'activation des voies en créant un encombrement stérique.

## 2. Protéine G indépendant

### a) $\beta$ -Arrestine

Il existe d'autres voies de signalisation du récepteur CXCR4 indépendante des liaisons aux protéines G. Dans ce contexte, une liaison à la  $\beta$ -arrestine induit une internalisation du récepteur. *In vitro*, des études ont montré que l'absence de la  $\beta$ -arrestine conduit à la fois à la perte de l'internalisation du récepteur mais également de la stimulation de la voie ERK1/2. Il existe deux isoformes : les  $\beta$ -arrestine1 et 2, les deux sont impliquées dans la régulation de ERK1/2. L'association de la  $\beta$ -arrestine 1 et des GFK3 et 6 contribue à la stimulation de ERK1/2 tandis que GRK2 l'inhibe (Cheng et al. 2000). Par ailleurs, la sous unité  $\beta$ -arrestine 2 est responsable de la stimulation des MAPK p38 en réponse à CXCL12 enclenchant des processus de migration et de survie cellulaire (Vlahakis et al. 2002) **Figure 34**.

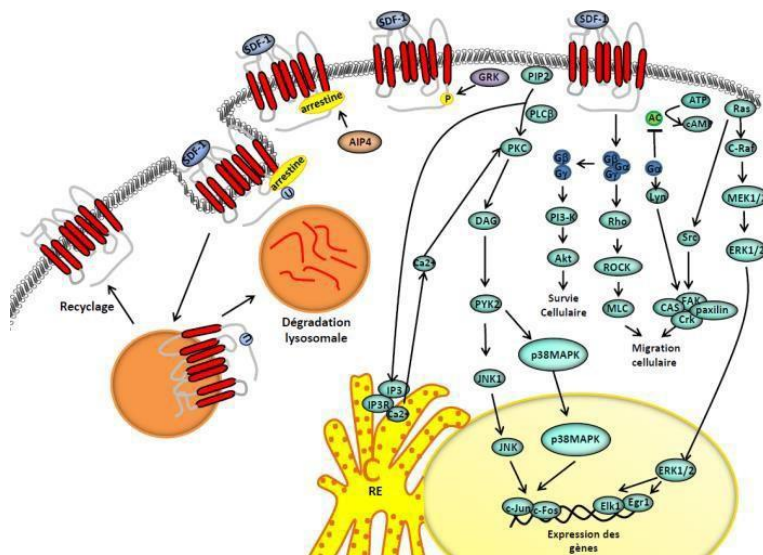


Figure 34 : Cascade de signalisation du récepteur de chimiokine CXCR4.

L'internalisation du récepteur est réalisée grâce aux  $\beta$ -arrestines afin de subir sa dégradation par les lysosomes ou être recyclée. La liaison du CXCL12 au CXCR4 entraîne une transduction du signal médiée par des mécanismes qui vont induire l'expression de gènes cibles afin de stimuler la survie ou la migration cellulaire. Modifié d'après (Debnath et al. 2013)

### b) $\beta$ -JAK/STAT

La voie JAK/STAT (Janus kinas/Signal Transducers and activator of transcription) est une autre alternative indépendante de la signalisation des protéines G. Elle implique la translocation des protéines STAT au sein du noyau de la cellule. En amont, ce processus fait intervenir l'association transitoire de JAK2 et 3 avec le récepteur CXCR4. Cependant l'inhibition de la protéine Gai couplé à un traitement PTX peut avoir un effet sur la voie JAK en rallongeant la durée du couplage de JAK/CXCR4 (Vila-Coro et al. 1999).

## V. Modulation de l'activité du CXCR4

### A. Protéolyse du récepteur CXCR4 et de son ligand

La dégradation du récepteur CXCR4 est assurée par des protéases notamment la cathepsine G, la dipeptidylpeptidase et l'élastase (Lapidot, Dar, and Kollet 2005). Ces protéases sont spécifiques du microenvironnement hématopoïétique et du sérum. En condition inflammatoire les neutrophiles vont relarguer la cathepsine et l'élastase induisant le clivage des résidus de la partie N-terminal du CXCL12 (Delgado et al. 2001). Cette forme tronquée de CXCL12 présente une faible affinité pour CXCR4, ne permettant plus l'activation de son récepteur. Par ailleurs, la protéase CD26 (dipeptidase26), exprimé par les cellules CD34+ (sous population des cellules hématopoïétiques) ou les métalloprotéases matricielles (MMP) peuvent également participer au clivage de CXCL12 (McQuibban et al. 2001; Christopherson, Hangoc, and Broxmeyer 2002).

## B. Modifications post-traductionnelles (glycosylation, sulfatation, phosphorylation)

### 1. Glycosylation

La régulation du récepteur CXCR4 s'effectue notamment par des modifications post-traductionnelles. En effet, sa partie extracellulaire contient deux sites de N-glycosylation au niveau de l'Asn 111 et de l'Asn 176 (Berson et al. 1996). Chez les mammifères, la glycosylation a lieu sur un seul site (Asn111) contrairement aux insectes dont les deux sites sont glycosylés (Chabot et al. 2000; Zhou and Tai 1999). D'autres études montrent qu'une modification des sites de N-glycosylation de CXCL12 entraînerait une modification de sa structure et donc une diminution de la transduction du signal (Zhou and Tai 1999; Wang et al. 2004).

### 2. Sulfatation

La liaison entre le ligand et son récepteur CXCR4 implique la sulfatation de 3 résidus tyrosines Tyr7, Tyr12 et Tyr21. La sulfatation de ces résidus est réalisée par l'enzyme tyrosyl sulfotransferase au niveau de la face trans de l'appareil de Golgi. Il a été démontré que la sulfatation de la Tyr21 est essentielle à la liaison du ligand sur son récepteur (Veldkamp et al. 2008).

### 3. Phosphorylation

La phosphorylation des RCPGs se fait uniquement après la liaison du ligand au récepteur. Ce processus peut avoir lieu au niveau des résidus sérine/thréonines ou dans la queue C-terminale par des GRKs (G-protein receptor kinase). On parle alors de désensibilisation homologue. Les  $\beta$  arrestines 2 et/ou 3 se lient au GRK afin de procéder à l'arrêt de la signalisation et voir même à l'internalisation du récepteur (Krupnick and Benovic 1998). Cependant, la phosphorylation peut également être médiée par des phosphorylases Kinase A (PKA) et Kinase C (PKC) induisant une désensibilisation dite hétérologue.

#### *a) Phosphorylation ligand dépendante du CXCR4*

L'activation du CXCR4 par son ligand permet sa phosphorylation rapide ainsi que son internalisation (Haribabu et al. 1997; Signoret et al. 1997; Signoret et al. 1998; Orsini et al. 1999). Plusieurs études ont démontré l'importance des résidus sérines situés au niveau de la queue C-terminal dans ce processus. En effet, les chercheurs ont montré que des mutations sur les sérines 338 et 339 conduisent à une absence de l'internalisation du récepteur (Orsini et al. 1999), tandis que la mutation de la sérine 341 permet également de réduire sa phosphorylation et ce même en présence du ligand (Busillo and Benovic 2007). De même, l'élimination de la queue C-terminale couplée à la substitution de la sérine 338 et 339 diminue la phosphorylation induite par CXCL12, tout en augmentant l'activité du récepteur

et en atténuant son internalisation. Enfin, l'utilisation d'un anticorps dirigée contre la sérine phosphorylée 339 a révélé, qu'en présence de CXCL12 ses niveaux de phosphorylation sont augmentés (Woerner et al. 2005).

L'identification des GRKs impliqués dans la phosphorylation du CXCR4 a mis en évidence les phosphorylases PKA et PKC. En effet, l'action conjointe du PKC et du GRK6 va induire la phosphorylation rapide des sérines 324 et 325 tandis que, l'intervention seul du GRK6 va permettre la phosphorylation de la ser339. Enfin, la GRK6 assure une phosphorylation lente de la serine 330 (Busillo et al. 2010).

#### *b) Phosphorylation ligand indépendant*

##### *(1) Phosphorylation par PKC*

Le séquençage de la partie C-terminale intracellulaire du CXCR4 a permis la mise en évidence de nouvelles cibles de l'activité de PKC. Le PMA est responsable de l'activation de PKC et ce, indépendamment du ligand afin d'induire la phosphorylation et l'internalisation du récepteur (Signoret et al. 1997; Signoret et al. 1997; Orsini et al. 1999). Effectivement, la phosphorylation de la sérine 339 est augmenté en présence du PMA (Woerner et al. 2005).

##### *(2) Phosphorylation médiée par des facteurs de croissance*

En absence de son ligand, la phosphorylation du CXCR4 peut être effectuée par des facteurs de croissance. *In vitro*, l'étude de cellules de glioblastomes (LN428 GBM) a démontré l'augmentation de la phosphorylation de la serine 339 en présence du facteur de croissance EGF (Woerner et al. 2005). D'autres études, ont mis en évidence le rôle du facteur héréguline et du récepteur à activité tyrosine kinase ErbB3 dans la phosphorylation en tyrosine et sérines 324/325 et 330 (Sosa et al. 2010). Ces données suggèrent que les récepteurs à activité tyrosine kinase peuvent également réguler la signalisation du CXCR4 par des mécanismes de transphosphorylation.

#### 4. Internalisation et dégradation du CXCR4

Le processus de désensibilisation du récepteur ligand-dépendant nécessite une endocytose du récepteur médiée par des vésicules à clathrine. En effet, il a été démontré que les  $\beta$ -arrestine vont interagir avec AP-2 ce qui va permettre la formation de puits recouvert de clathrine (Laporte et al. 1999). De plus, la liaison spécifique du phosphoinositide au AP-2 permet l'acheminement du complexe récepteur/arrestine vers les puits afin d'induire l'endocytose du récepteur (Gaidarov et al. 1999). Ces résultats démontrent que les  $\beta$ -arrestines servent de molécules adaptatrices de clathrine lors de l'endocytose des RCPG **Figure 35**.

L'internalisation du CXCR4 fait d'abord appel à une étape de liaison à son ligand, une phosphorylation rapide et à une endocytose au sein des puits de clathrine. La stimulation de PMA provoque l'induction du PKC qui peut à son tour, initier l'internalisation du récepteur en réponse à CXCL12 (Haribabu et al. 1997; Signoret et al. 1997). Par ailleurs, des études ont montré que la voie de signalisation induite par PKC implique des sites spécifiques de phosphorylation de la queue C-terminale du récepteur. Parmi ces sites, on retrouve les résidus Ser324, 325, 330, 338, 339, Ile328, Leu329 et Lys331 (Futahashi et al. 2007) dont la mutation ou la substitution entraîne une diminution de l'internalisation du CXCR4 (Orsini et al. 1999; Signoret et al. 1998). Ces données suggèrent que la queue C-terminal du CXCR4 joue un rôle crucial dans le processus d'internalisation médié par la stimulation de PMA et de CXCL12. En revanche, elle ne serait pas essentielle à l'internalisation induite par les  $\beta$ -arrestines. En effet, ces dernières interagissent également avec la 3<sup>ème</sup> boucle intracellulaire du CXCR4 (Cheng et al. 2000). Ainsi, Ces deux voies de signalisations présentent des mécanismes distincts et indépendante cependant l'intervention du ligand est essentielle. En absence de toute stimulation, CXCR4 est constamment internalisé grâce au motif Ser344-Glu345-Ser346 et les 17 derniers acides aminés du domaine C-terminal (Tarasova, Stauber, and Michejda 1998; Futahashi et al. 2007).

L'endocytose du CXCR4 par les vésicules entraîne sa fusion avec un endosome précoce. Dès lors, le récepteur aura deux destinés. Il peut être recyclé à la membrane afin d'être resensibilisé ou il sera dégradé dans les lysosomes ce qui induira, à termes, une altération de sa signalisation (Marchese et al. 2003). Le transport du récepteur vers la voie lysosomale est initiée par son ubiquitination. La réalisation de ce processus nécessite la E3 ubiquitine ligase atrophin-1- interacting protein 4 (AIP4) située au niveau de l'endosome précoce (Tarasova, Stauber, and Michejda 1998). En outre, le récepteur CXCR4 possède un motif de dégradation sur sa partie C-terminale (SSLKILSKGK). Effectivement, des études ont montré que la substitution des sérines 324-325 et 330 mène à l'arrêt de la dégradation du récepteur. Par ailleurs, le recyclage du récepteur est quant à lui médié par l'activation du PKC tandis que son internalisation, en réponse au ligand, favorise sa dégradation. L'élimination du CXCR4 en réponse à CXCL12, peut être annihilé par la protéine kinase cytokine- independent survival kinase (CISK) qui présente une activité inhibitrice de la AIP4 (Marchese and Benovic 2001). Ainsi, on assiste à l'arrêt du transport de l'endosome précoce vers les lysosomes (Signoret et al. 1997).

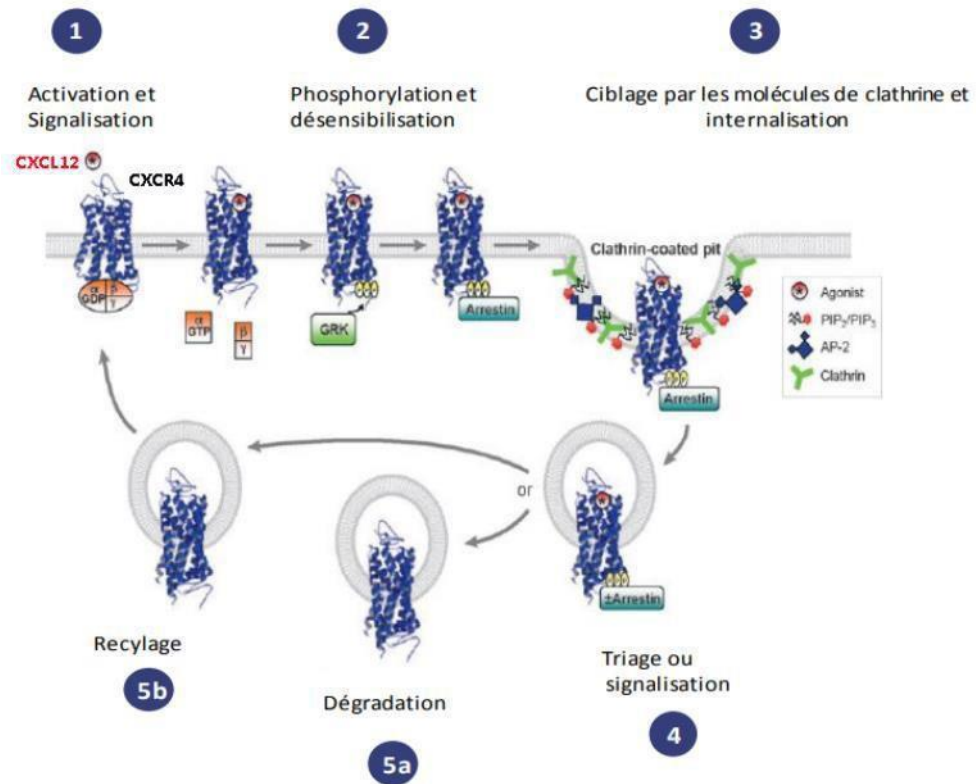


Figure 35 : Schéma simplifié de la régulation du trafic u CXCR4 par les GRKs et les arrestines.

La liaison de l'agoniste CXCL12 au récepteur CXCR4 conduit à l'activation du récepteur, le couplage des protéines G et la transduction du signal (étape1). Les GRKs phosphorylent ensuite le récepteur CXCR4 activé au niveau de son domaine intracellulaire C-terminal initialisant le recrutement des arrestines. La liaison des arrestines sur CXCR4 inhibe le couplage des protéines G et finalise la signalisation, c'est la désensibilisation (étape2). Le complexe CXCR4- arrestine est alors orienté vers des vésicules coâtées de clathrine dans lesquelles se forme un complexe arrestine-clathrine-protéine AP-2-phosphoinositide aboutissant à l'internalisation du récepteur (étape 3). Le récepteur CXCR4 internalisés est trié (étape 4) soit vers des compartiments de dégradation (étape5a) ou de recyclage (étape 5b). Modifié d'après (Moore, Milano, and Benovic 2007)

## C. Inhibiteurs du CXCR4

### 1. Antagoniste de du CXCR4

L'identification du CXCR4 comme étant un récepteur du VIH a conduit au développement de premier antagoniste : le peptide anti T140 (Masuda et al. 1992) et l'AMD3100. La découverte de l'implication du CXCR4 dans de nouvelles fonctions notamment associées la mobilisation des cellules souches, à l'inflammation et au développement de métastases a permis d'élargir le nombre d'antagonistes. Les antagonistes du CXCR4 peuvent être non peptidiques (AMD3100, AMD11070, MSX-122, GSK812397), des analogues peptidiques de CXCL12 (CTCE-9908 et CTCE-0214) ou encore des anticorps dirigés contre CXCR4 (MDX-1338/BMS 93656, ALX-0651).

L'AMD3100 (ou Plerixafor) est une molécule dite bicyclame de par sa composition moléculaire. Sa synthèse a été initiée à partir de polyoxometallates dont l'activité a été décrite comme ayant des propriétés anti-VIH. L'AMD3100 est constituée de deux mimiques de polyoxometallates (les cyclames) enrichis en azote et reliés par un pont aliphatique, cette structure lui permet de cibler les charges négatives présentes à la surface du récepteur CXCR4 (**Figure 36**). Actuellement, cette molécule a été approuvée par la FDA (Food Drug Administration) pour la transplantation autologue chez les patients atteints de lymphome non hodgkinien ou de myélome multiple (Clercq 2019). Son utilisation sur des patients atteints du VIH a permis l'arrêt de la réplication du virus, cependant il n'a pas été utilisée au long cours de part ses propriétés de mobilisation de cellules souches. Le traitement par l'AMD3100, chez des patients atteints de glioblastome permet une diminution de la croissance tumorale comme chez le rat (Ali et al. 2013). Deplus, l'AMD3100 a été administrée par voie intraveineuse aux patients atteints de lymphomes Hodgkiniens et non Hodgkiniens afin d'augmenter le nombre de cellules CD34+ périphérique en vue d'une transplantation autologue (Cashen et al. 2008).

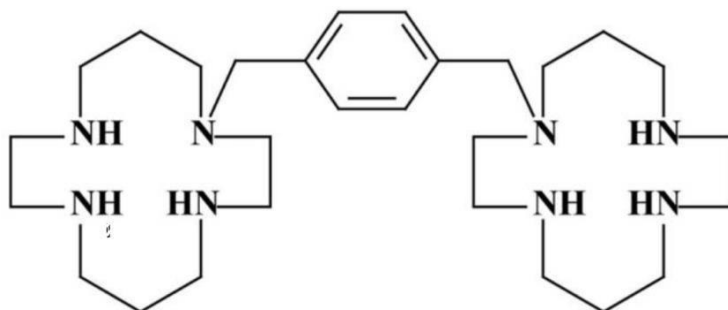


Figure 36 : Structure moléculaire de l'AMD3100.

Le composé original composé de deux cycles cyclames liés par une liaison C-C n'a pas pu être resynthétisé mais a permis de lancer la synthèse de nouveaux bicyclames dans lesquels les fragments de cyclames sont liés par un pont aliphatique. NH : Fonction amide N : Azote. Modifié d'après (De Clercq 2015).



Une autre petite molécule dont l'action antagoniste sur CXCR4 est partiel est la MSX-122 dont l'action est anti-métastatique notamment via l'inhibition de HIF-1 $\alpha$  (Liang et al. 2012; Wu et al. 2022).

## 2. Antagonistes peptiques

Le peptide T140 est le peptide dont l'activité anti-VIH de type 1 est le plus puissant. Son efficacité a permis la synthèse d'un analogue le TC14012 dont la cytotoxicité est restreinte (Tamamura et al. 2001). Plus tard, d'autres analogues les TC14012, TZ14001 et TN14003 ont permis la prévention de stades métastatiques dans des modèles de cancer du sein ainsi que de carcinome épidermoïde (CEC), une tumeur maligne d'origine épithéliale du cou et de la nuque (Yoon et al. 2007; Liang et al. 2004). Un autre analogue du T140, le TN14003 a permis de diminuer la chimiorésistance du cancer du poumons à petites cellules notamment dû à une adhésion cellulaire importante médiée par l'axe CXCR4/CXCL12 (Burger et al. 2011).

D'autres peptides ciblant CXCR4 comme le LY2510924, POL6326 (balixafortide) ou BL-8040 (BKT140) ont été développés pour des application dans le domaine de l'oncologie, du VIH ou du syndrome de WHIM, cependant les essais cliniques ont échoué en raison de leurs faibles efficacités, de leurs toxicités élevées ou de leurs mauvaises propriétés pharmacocinétiques (Van Hout et al. 2018).

## 3. Anticorps ciblant CXCR4

Au moins quatre anticorps monoclonaux dirigés contre CXCR4 (Ulocuplumab, LY2624587, PF-06747143 et hz515H7) ont été testés chez l'homme et de nombreux autres anticorps, de types « nanobodies » et autres fragments ciblant l'axe CXCR4/CXCL12 sont en cours de développement préclinique (Bobkov et al. 2019). Comparés aux inhibiteurs à petites molécules et aux antagonistes peptidiques, les anticorps monoclonaux ont un temps de demi-vie sanguin plus long (jusqu'à plusieurs semaines pour les IgG) et possèdent des fonctions effectrices qui facilitent l'élimination des cellules exprimant le récepteur CXCR4, par le biais de toxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps, une phagocytose cellulaire dépendante des anticorps (ADCP) et/ou cytotoxicité dépendante des facteurs du complément.

L'ulocuplumab, un anticorps monoclonal de type IgG4 qui inhibe la liaison de CXCL12 à CXCR4 et induit une apoptose indépendante des caspases sur de multiples lignées cellulaires et échantillons primaires provenant de patients atteints de leucémie myéloïde aigüe (LAM), de leucémie lymphoïde chronique (LLC) et de myélome multiple (Kuhne et al. 2013; Roccaro et al. 2015; Kashyap et al. 2016).

Un essai de phase 1 chez 73 adultes atteints de LAM a permis de tester l'anticorps seul ainsi qu'en association avec la chimiothérapie MEC (NCT01120457). Le taux global de rémission complète (RC) et de rémission complète avec récupération de la formule sanguine incomplète (RC/CRI) est de 51 % chez

les 43 patients qui ont reçu l'ulocuplumab en association avec la chimiothérapie MEC (88%). A noté que quatre patients ont présenté une RC/CRi après le traitement de l'anticorps seul, suggérant une activité anti-leucémique de l'anticorps monoclonal en monothérapie (Becker et al. 2014).

Une étude de phase 1/2 testant l'anticorps en association avec de la cytarabine à faible dose chez des patients atteints de LAM a été récemment achevée en juin 2019 (NCT02305563), mais aucune donnée n'a été publiée à ce jour.

Les nanobodies sont de nouvelles cibles thérapeutiques issus de fragments d'anticorps (VHH) qui ont montré des résultats probants à la fois *in vitro* et *in vivo* chez le singe cynomolgus, en empêchant l'entrée du VIH-1. D'un point de vue fonctionnel, ces nanobodies sont stables et présentent une affinité 100 fois plus élevée que celle de l'AMD3100 sans induire de toxicité majeure (Jähnichen et al. 2010). Les résultats encourageant des nanobodies dirigés contre CXCR4 ont fait l'objet d'un essai clinique de phase 1 (<https://clinicaltrials.gov>: NCT01374503).

## VI. Implication de l'axe CXCL12/CXCR4 dans différentes pathologies

### A. Infection par le virus VIH

L'infection des cellules immunitaires par le VIH nécessite une fusion de l'enveloppe virale et de la membrane plasmique via la glycoprotéine CD4. Le rôle des récepteurs de chimiokine CXCR4 et CCR5, dans ce processus, a pu être mis en évidence pour la première fois en 1996 et 1997, respectivement (Feng et al. 1996). Dans ce contexte ils agissent en tant que corécepteur de la glycoprotéine CD4, ainsi l'interaction de la protéine virale gp120 avec l'un ou l'autre de ces récepteurs, induisant la fusion membranaire, et l'entrée du VIH (Clapham 1997; Kwong et al. 1998).

La liaison du CXCR4 par CXCL12 empêche la pénétration et donc la réplication du virus dans les cellules souches T-tropique (Oberlin et al. 1996; Clapham 1997). En effet, l'occupation du récepteur par le ligand engage son internalisation sans passer par la signalisation des protéines G (Amara et al. 1997; Haribabu et al. 1997; Signoret et al. 1997). Ainsi, les chimiokines, ligands naturels de ces récepteurs, peuvent bloquer l'entrée du VIH et constituent donc des points de départ potentiels pour la conception de nouveaux agents thérapeutiques contre l'infection par le VIH. L'émergence des techniques de CRISPR CAS9 a permis d'entrevoir de nouvelles approches permettant la délétion simultanée des deux récepteurs du VIH-1 (CCR5 et CXCR4) au sein de lignées primaires de lymphocytes T humains ce qui abolit l'infection de ces cellules par le VIH. Cependant, cette technique prometteuse présente une limite majeure puisque la greffe de ces cellules dans un modèle murin *in vivo* est très faible. Afin

d'améliorer la prise de greffe les auteurs ont proposé l'utilisation de cellules souches pluripotentes induites iPSCs (Cellules souches pluripotentes induites) (Li, Holguin, and Burnett 2022).

## B. Syndrome WHIM

Le syndrome WHIM (Warts Hypogammaglobulinemia Infections and Myelokathexis) est une immunodéficience primaire. Elle se caractérise notamment, par une susceptibilité aux verrues et aux carcinomes induits par le virus papillome humain. De plus, les patients présentent une rétention accrue des neutrophiles matures, une lymphopénie et des infections liées à l'hypogammaglobulinémie (Kawai and Malech 2009).

Ce syndrome est généralement causé par une mutation du gène *cxcr4* entraînant un raccourcissement de la queue C-terminale du récepteur. Lors de l'activation du récepteur par son ligand, on constate alors une concentration de calcium intracellulaire exacerbée, ce qui induit la dérégulation de sa signalisation (Hernandez et al.

2003). En même temps, le recrutement de la GRK6 et de la  $\beta$ -arrestine 2 est drastiquement diminué, ralentissant ainsi, la désensibilisation et donc l'internalisation du CXCR4 (McCormick et al. 2009). La découverte des mutations du gène *cxcr4* à l'origine du syndrome de WHIM a permis le développement de modèles murins d'intérêts. D'un point de vue génétique, la mutation la plus fréquente est retrouvée au niveau de l'acide aminé S338X en position 1013, entraînant un codon stop prématuré ou un décalage du cadre de lecture (Kaiser et al. 2021). Les souris *Cxcr4*<sup>+/mutant (1013)</sup> présentent une hypersensibilité des leucocytes à CXCL12 et une leucopénie comme cela a été rapporté chez les patients (Balabanian et al. 2012). Par ailleurs, dans des modèles de culture tridimensionnels, l'utilisation de ces souris a récemment permis de proposer un mécanisme qui pourrait contribuer à la susceptibilité des patients WHIM à la pathogénèse du papilloma humain. En effet, chez les patients WHIM, les chercheurs ont identifié une réduction spécifique des cellules dendritiques plasmocytoïdes (pDCs) circulants comme observé chez les souris *CXCR4*<sup>+/<sup>1013</sup>. L'inhibition du CXCR4 par l'AMD3100 chez les souris *CXCR4*<sup>+/<sup>1013</sup> a permis de réaugmenter le nombre de pDCs tout en préservant la différenciation et la fonction de ces dernières. Ainsi, la normalisation du trafic des pDCs et leur activation, pourrait être parmi les mécanismes expliquant les effets bénéfiques de l'AMD3100 chez les patients WHIM (Tassone et al. 2010; Gallego et al. 2021).</sup></sup>

## C. Implication dans les cancers

Les premières études ont été centrées sur le rôle du CXCR4 dans l'infection des lymphocytes T par le VIH. Ensuite, son implication a été démontré dans le trafic des lymphocytes B des patients atteints de

leucémies (Burger, Burger, and Kipps 1999; Chatterjee, Azad, and Nimmagadda 2014) ainsi que dans la régulation métastatique du cancer du sein (Müller et al. 2001). Dès lors, CXCR4 devient une cible majeure de la recherche en oncologie. Il a été établi que le CXCR4 est surexprimé dans plus de 23 types de cancers dont le cancer du sein, du poumon, du rein, de la prostate ou encore de l'ovaire. Il contribue à différents phénomènes tels que la croissance tumorale, l'angiogenèse, la formation des métastases ainsi qu'à la résistance thérapeutique (Darash-Yahana et al. 2004; Furusato et al. 2010; Vandercappellen, Van Damme, and Struyf 2008; Zlotnik 2008). Récemment, l'implication de l'axe CXCL12/CXCR4 a été mise en évidence dans l'ostéosarcome où il participe au contrôle de la migration et à la survie des cellules myéloïdes suppressives tout en inhibant l'expansion des cellules T cytotoxiques, contrôlant ainsi la croissance tumorale (Jiang et al. 2019).

Les chercheurs émettent l'hypothèse que l'axe CXCR4/CXCL12 serait utilisé par des cellules cancéreuses afin d'établir des métastases dans d'autres organes. Les niveaux d'expression de CXCL12 sont très élevés au niveau des sites associés à l'émergence des métastases dont le cerveau, la moelle osseuse, les poumons et le foie (Ho et al. 2012; Müller et al. 2001; Yu et al. 2006). Cependant, la charge métastatique est considérablement réduite lors de l'inhibition de l'axe CXCR4/CXCL12. D'autre part, l'explosion du niveau d'expression du CXCR4 est corrélée à l'aggravation du processus cancéreux. De ce fait, les médecins le considèrent aujourd'hui comme étant un biomarqueur associé à l'aggravation des cancers. Par ailleurs, les chercheurs ont récemment démontré l'implication du CXCR4 dans la desmoplasie médiée par l'axe CXCL12/CXCR4 dans le cancer du sein métastatique favorisant l'immunosuppression et constitue une cible potentielle pour surmonter la résistance thérapeutique chez les patients (Chen et al. 2019).

Le microenvironnement tumoral est caractérisé par une diminution d'oxygène et par conséquent, une augmentation des facteurs de transcription HIF-1 (Ishikawa et al. 2009; Zagzag et al. 2006), et Nrf2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2) (Wegner et al. 1998). On constate également une élévation de facteurs de croissance tels que le VEGF ou encore l'EGF (Salcedo et al. 1999; Phillips et al. 2005). L'ensemble de ces caractéristiques induisent la surexpression du CXCR4, lui permettant de jouer un rôle clé dans la progression néoplasique et l'angiogenèse (Duda et al. 2011). Par ailleurs, des études ont mis en évidence des facteurs solubles du cancer du sein impliqués dans la différenciation des fibroblastes humains normaux en fibroblastes associés au cancer (CAF). Ce processus est médié par l'induction de la MMP-1 et de l'expression du CXCR4 par les fibroblastes normaux (Kwong et al. 2009). Ainsi, ces données témoignent du rôle central du CXCR4 dans la formation tumorale.

Le maintien de la croissance tumorale est médié par CXCL12, qui de par sa chimiotaxie attire les cellules inflammatoires, vasculaires et stromales CXCR4-positives vers la masse tumorale. Ces dernières jouent

alors un rôle trophique, notamment en sécrétant des facteurs de croissance, des cytokines, des chimiokines et des facteurs pro-angiogéniques (Domanska et al. 2013). Récemment, une nouvelle étude a mis en évidence l'effet de l'inhibition du CXCR4 dans des modèles murins d'immunorésistance tumorale avec une réduction de la croissance tumorale médiée par la diminution de cellules T régulatrices tout en augmentant la distribution des cellules T effectrices. Ainsi, l'axe CXCR4/CXCL12 régule l'accès et la fonction des cellules effectrices/régulatrices du microenvironnement tumorale (D'Alterio et al. 2019).

Par ailleurs, CXCR4 est également exprimé par des cellules souches cancéreuses. Celles-ci participent à la fois aux relargages des facteurs de croissances tumoraux mais également à l'auto-renouvellement cellulaire, initiant ainsi la formation de métastases (Bacelli and Trumpp 2012; Peitzsch et al. 2013). Par exemple, les cellules souches cancéreuses du pancréas CD133+, caractérisées par l'expression du CXCR4, échappent à la tumeur primaire et participent à la formation de métastases à distance (Hermann et al. 2007; Gatti et al. 2013).

Ces éléments mettent en lumière la participation prépondérante du couple CXCR4/CXCL12 à la résistance thérapeutique en favorisant à la fois la survie, la prolifération et l'invasion des cellules cancéreuses.

## D. Maladies neurodégénératives : Alzheimer et SEP

### 1. Implication du CXCR4 dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer se caractérise par l'apparition de deux processus pathologiques conduisant à une dégénérescence neuronale. D'une part, une production excessive du peptide  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ) et d'autre part une concentration importante de la protéine Tau au sein des neurones. Ainsi, les patients atteints de la maladie d'Alzheimer présentent des déficits cognitifs important notamment associés à des pertes de mémoire.

#### a) Effet du CXCR4 sur la microglie

Les cellules microgliales participent au maintien de l'homéostasie du SNC en réalisant l'élimination des débris par phagocytose. Dans la maladie d'Alzheimer (MA), la microglie peut jouer un rôle anti-inflammatoire en assurant l'élimination de la  $\beta$ -amyloïde (neuroprotection) ou pro inflammatoire en favorisant son accumulation (neurotoxicité).

L'étude des modèles de souris Alzheimer a révélé l'activité pro inflammatoire de la microglie à des stades précoce de la maladie. En effet, l'activation du CXCR4 par son ligand initie la signalisation de la

voie JAK/STAT, déclenchant une réponse pro-inflammatoire microgliale. De plus, la stimulation du CXCR4 par le lipopolysaccharide (LPS) entraîne l'activation de la voie NF- $\kappa$ B de la microglie, facteur clé de la régulation des gènes pro-inflammatoires. A l'inverse, son inhibition permet d'arrêter la réponse inflammatoire (Lee et al. 2018). Chez l'homme, le contexte inflammatoire dû à la maladie, induit l'expression de la glycoprotéine CHI3L1 (GP39 YKL40) corrélée à l'augmentation de l'expression du CXCR4 par la microglie (Sanfilippo et al. 2020). Cependant, les mécanismes associant ces deux acteurs n'ont pas été identifiés. Dans l'hippocampe des patients Alzheimer, on retrouve de manière surprenante une augmentation du CXCR4 corrélée négativement avec celle de son ligand. Ces données suggèrent l'existence d'un autre ligand permettant l'activation d'une nouvelle voie de signalisation pro inflammatoire de la microglie menant à des déficiences cognitives dues à la neuroinflammation. Le facteur MIF (Macrophage migration inhibitor factor) pourrait être un bon candidat puisqu'il permet l'induction de la voie inflammatoire après sa liaison au récepteur CXCR4 (Bernhagen et al. 2007). De plus, des études ont mis en évidence l'augmentation significative de ce dernier, au niveau du liquide céphalorachidien de patients Alzheimer (Zhang et al. 2019). Ces données suggèrent que l'augmentation de CXCL12 dans le cerveau permettrait d'inverser la réponse pro inflammatoire de la microglie en réponse anti-inflammatoire confirmant les résultats de Kucia et al. (Kucia et al. 2004). Par ailleurs, la surexpression du CXCR4 chez les patients induit un effondrement de la migration des lymphocytes B de moelle osseuse vers la circulation sanguine périphérique (**Figure 37**). Ce processus permet une augmentation accrue des anticorps anti A $\beta$  menant à l'accumulation pathologique de cette dernière.

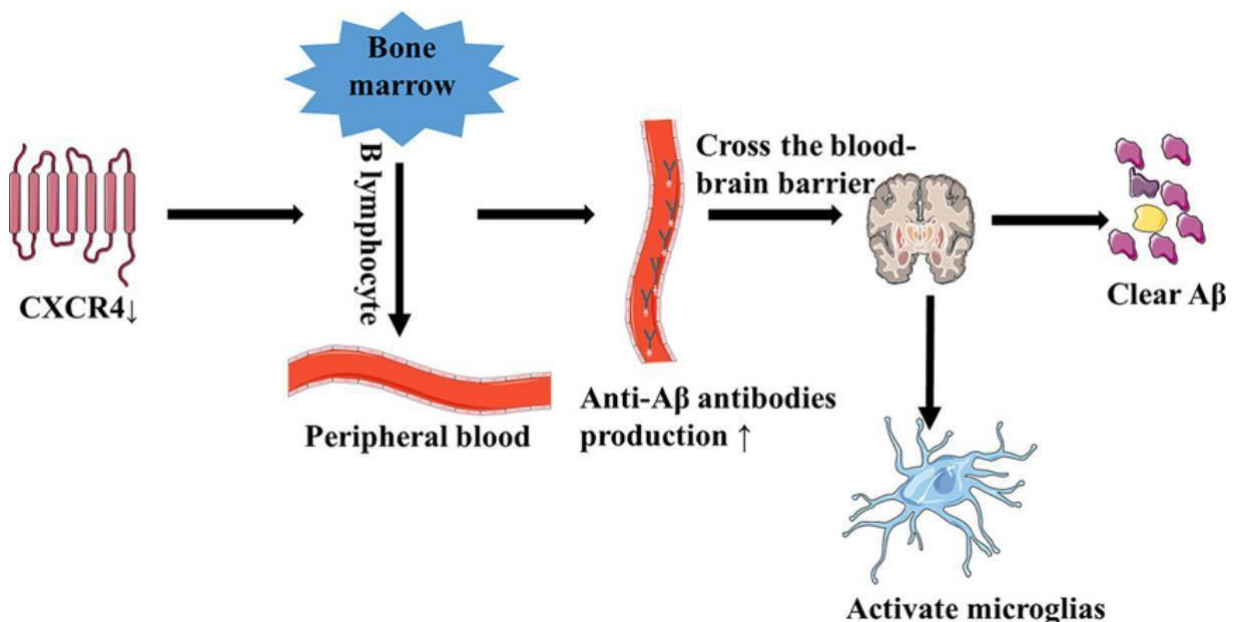
La caractérisation de la microglie a pu être réalisée grâce à des modèles murins de la MA. Ces études ont démontré une forte expression des gènes phagocytaires tels que le gène de la somatomédine C (Igf1), l'Apolipoprotéine E (APOE) ainsi que de marqueurs de surface tels que le récepteur X du foie  $\alpha/\beta$  (LXR $\alpha/\beta$ ) et le CXCR4 (Rangaraju et al. 2018) par la microglie. Ces résultats ont démontré que ces caractéristiques contribuent au phénotype anti-inflammatoire de cette dernière.

#### *b) Effet du CXCR4 sur les astrocytes*

Les astrocytes participent au développement et à l'homéostasie du système nerveux central. Le dépôt anormal de l'A $\beta$  induit l'activation des astrocytes qui vont alors sécréter plusieurs chimiokines capables de se lier aux récepteurs suivants : MCP-1/CCR2, CXCL12/CXCR4, MIP-1 $\alpha$ /CCR5, IP-10/CXCR3. La combinaison de ces complexes joue un rôle crucial dans le processus pathologique de la maladie d'Alzheimer en contribuant notamment, à l'induction d'une réponse inflammatoire astrocytaire (Wyss-Coray et al. 2003). Par exemple, l'activation du CXCR4 par son ligand déclenche la voie JAK/STAT, induisant la sécrétion du glutamate (neurotransmetteur excitateur) et du GABA (neurotransmetteur

inhibiteur) via une forte mobilisation du calcium intracellulaire des astrocytes (Bezzi et al. 2001). La transmission de l'information synaptique est de ce fait perturbée. L'activation de l'axe CXCR4/CXCL12 régule donc l'excitation neuronale, la propagation du signal synaptique des cellules gliales via le relargage du glutamate par les astrocytes. Cependant, la sécrétion excessive de ce neurotransmetteur dans le domaine extracellulaire peut également induire une dégénérescence neuronale (Kang et al. 1998). Initialement, cette voie de signalisation a donc été considérée comme une cible potentielle thérapeutique de la maladie d'Alzheimer. Néanmoins, il a récemment été démontré que l'inhibition de la voie JAK/STAT, dans un modèle de souris 3xTg, ne permet pas de réduire significativement l'apparition des dépôts amyloïdes (Guillemaud et al. 2020).

En parallèle, l'augmentation des niveaux du CXCR4 dans les astrocytes conduit à l'activation du complexe IP-10/CXCR3, ce qui induit la stimulation de la voie ERK. Les astrocytes vont alors migrer et s'agréger autour des dépôts amyloïdes, favorisant ainsi la neuroinflammation (Lai et al. 2013). De même, la voie ERK peut aussi participer à la migration des lymphocytes T de la moelle osseuse vers la circulation sanguine périphérique. Ce processus conduit à une infiltration de la barrière hématoencéphalique par les lymphocytes T, amplifiant ainsi l'inflammation cérébrale (Harcha et al. 2021). L'ensemble de ces éléments suggère que la régulation des chimiokines permettant l'induction directe de la réponse astrocytaire pourrait prévenir les processus inflammatoires de la maladie d'Alzheimer.



**Figure 37 : Effet de la diminution du CXCR4 sur le crosstalk de la microglie et des astrocytes dans la maladie d'Alzheimer.** La diminution du CXCR4 provoque la migration des cellules B de la moelle osseuse vers la circulation sanguine périphérique et une augmentation des anticorps anti-A $\beta$ , qui ont traversé la barrière hémato-encéphalique et ont pénétré dans le liquide céphalo-rachidien. Les anticorps qui pénètrent dans le liquide céphalo-rachidien peuvent éliminer l'A $\beta$  et activer la microglie, ce qui augmente encore l'élimination de l'A $\beta$ . A $\beta$ ,  $\beta$ -amyloïde. D'après (Wang 2022)

## 2. Implication du CXCR4 dans la SEP

### *a) Rôles de l'axe CXCR4/CXCL12 dans la SEP*

La SEP est initiée par un dysfonctionnement de la BHE permettant l'invasion de cellules immunitaires périphériques, ce qui déclenche alors une activation astrocytaire en réponse à des cytokines pro-inflammatoires et à des motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) (Farez et al. 2009; Rothhammer and Quintana 2015; Linnerbauer, Wheeler, and Quintana 2020). En effet, les astrocytes réactifs produisent une large gamme de chimiokines qui attirent les leucocytes dans les espaces périvasculaires et le parenchyme du SNC. Le CXCL12 dérivé des astrocytes contrôle l'apparition et la progression de l'EAE en favorisant l'accumulation de monocytes et des lymphocytes T dans le SNC (Moreno et al. 2014; Kim et al. 2014; Wheeler et al. 2019). Il convient de noter qu'une étude récente a rapporté que les astrocytes contrôlent également le phénotype des phagocytes mononucléaires infiltrant le SNC (Locatelli et al. 2018). De plus, les astrocytes présentent une expression accrue de CXCL12, impliquée dans le recrutement des monocytes, des lymphocytes T, des lymphocytes B et des plasmocytes, dans les lésions actives et chroniques de la SEP (Krumbholz et al. 2006).

Comme évoqué précédemment, l'échec de la remyélinisation et la perte des fonctions neuronales au cours de la SEP sont induits par la mort des oligodendrocytes (OL) du SNC (Barnett and Prineas 2004). Les OL suivent un processus de différenciation spécialisé à partir d'OPC. Ces derniers sont stratégiquement localisés au niveau du SNC et sont considérés comme une ressource endogène pour la réparation de la gaine myéline. Des études ont montré que l'activation des OPC était médiée par l'axe CXCR4/CXCL12 (Patel et al. 2010a; Carbajal et al. 2011). Ainsi les OPC activés vont proliférer et migrer vers les sites lésés, avant de s'y différencier en OL matures (Crawford, Chambers, and Franklin 2013; Franklin 2002; Chari and Blakemore 2002; Levine, Reynolds, and Fawcett 2001; Bø et al. 2013). De ce fait, l'échec de la remyélinisation peut être dû à une altération du recrutement ou à l'inhibition de la différenciation des OPC (Boyd, Zhang, and Williams 2013; Kuhlmann et al. 2008; Franklin and Blakemore 1997). Par ailleurs, chez les patients SEP, lors des phases précoces de la maladie les phénomènes de démyélinisation et remyélinisation coexistent (Goldschmidt et al. 2009; Prineas et al. 1993; Raine and Wu 1993). Cependant, le processus de remyélinisation décline avec l'âge et la sévérité de la maladie (Franklin 2002; Huang and Franklin 2012). Les changements pathologiques ainsi que la progression des plaques sont étroitement liés à la distribution et à l'augmentation de l'expression de CXCL12 chez les patients SEP (Krumbholz et al. 2006; Moll et al. 2009).

De manière surprenante, une étude a permis d'établir un premier lien entre les androgènes et la



chimiokine CXCL12. En effet, les chercheurs ont montré une diminution de la concentration de CXCL12 après castration de rats mâles. De plus, l'étude du profil d'expression chez le rat Taiep dont la particularité est de présenter une hypomyélinisation chronique, a permis de révéler un taux significativement réduit du récepteur de chimiokine CXCR4 (Soto-Rodriguez et al. 2015). Ces éléments attestent d'une potentielle régulation entre les hormones mâles et le couple CXCL12/CXCR4 (Chen et al. 2012). Plus tard, l'interaction directe entre le récepteur des androgènes AR et l'axe CXCR4/CXCL12 a été mis en évidence dans un modèle de culture de lignées tumorales du cancer du sein. En effet, l'induction de la chimiokine CXCL12 ne se produit que dans les lignées cellulaires AR-positives, probablement via un élément de réponse aux androgènes, en amont du promoteur de CXCL12 induisant ensuite la surexpression du CXCR4 (Azariadis et al. 2017). Bien que les auteurs aient identifié un élément de réponse aux androgènes dans la région promotrice du gène *cxcr4*, ces données suggèrent un effet indirect des androgènes sur CXCR4.

#### *b) Implication du CXCR4 dans la régulation des OPC*

L'absence de remyélinisation observée chez les patients SEP est causée par une altération de la migration et de la différenciation des OPC au sein du SNC (Franklin and Blakemore 1997; Lassmann, van Horssen, and Mahad 2012; Huang and Franklin 2012; Boyd, Zhang, and Williams 2013). Compte tenu du rôle de CXCL12 dans ces processus, des études ont voulu évaluer son effet sur la remyélinisation grâce à des modèles murins associés à l'utilisation de pompe ou de transfection de cellules surexprimant CXCL12 (Opatz et al. 2009; Rabbany et al. 2010; Kuliszewski et al. 2011; Yu et al. 2012). Les chercheurs ont démontré que l'augmentation de son expression au niveau des sites lésés permet d'induire une remyélinisation efficace. Du fait de l'existence de deux récepteurs (CXCR4 et ACKR3) pour CXCL12, d'autres travaux ont caractérisé les voies de signalisation impliquées dans la remyélinisation. En effet, chez la souris démyélinisée par la cuprizone, l'utilisation d'un antagoniste de ACKR3, le CCX771, a révélé une amélioration de la remyélinisation. Celle-ci étant médiée par l'augmentation de la population des OL matures au niveau du corps calleux (Williams et al. 2014). Ainsi, ces données attestent du rôle bénéfique de l'axe CXCR4/CXCL12 dans la réparation de la myéline. Pour appuyer ces résultats, d'autres études ont permis de mettre en évidence l'implication conjointe du CXCR4 et de son ligand dans les processus de remyélinisation. En effet, (Patel et al. 2010) ont montré que l'ingestion de la CPZ pendant 6 semaines par des souris adultes, permettait à la fois une augmentation de l'expression de CXCL12 dans les astrocytes et la microglie mais également celle du CXCR4 dans les OPC. Ces augmentations coïncident avec le moment où les OPC commencent leur processus de différenciation en oligodendrocytes matures. Ces éléments suggèrent donc que le couple CXCL12/CXCR4 pourrait être le médiateur de ce processus. Pour répondre à cette question, les auteurs ont procédé à l'injection de l'antagoniste du CXCR4 (l'AMD3100) et à l'inactivation de l'expression du

CXCR4 via l'administration d'un vecteur lentiviral (shRNA) au niveau du corps calleux juste après l'arrêt du régime démyélinisant. Ces deux traitements ont montré une augmentation du nombre d'oligodendrocytes immatures contrairement aux OL matures dont le nombre a été drastiquement diminué conduisant donc à un défaut de remyélinisation. Ainsi, ces données démontrent l'implication directe du CXCR4 dans la maturation des oligodendrocytes au niveau du corps calleux des souris exposées à la CPZ. Une autre étude induisant une démyélinisation des souris via le virus de l'hépatite JMHV a démontré l'implication de l'axe CXCR4/CXCL12 dans les processus de migration et de prolifération des OPC (Carbajal et al. 2011). En effet, les chercheurs ont transplanté des cellules souches neurales marquées par la GFP au niveau de la moelle épinière des souris. Une fois transplantées, les cellules vont migrer vers les zones démyélinisées où elles vont se différencier en OPC et atteindre le stade mature permettant la remyélinisation. Après 3 semaines de transplantation, les zones marquées par la GFP au niveau de la substance blanche coexpriment CXCL12 ainsi que la GFAP, et les cellules GFP-positives expriment CXCR4. Ceci suggère que les cellules souches neurales greffées après démyélinisation par le JMHV, vont préférentiellement migrer vers des zones riches en CXCL12 exprimées par les cellules astrocytaires. De plus, l'injection d'un anticorps anti-CXCL12 ou la perfusion de l'AMD3100 conduit à une diminution de la migration et de la prolifération des cellules souches neurales GFP positives, confirmant le rôle de l'axe CXCR4/CXCL12 dans les processus de migration et de prolifération des oligodendrocytes. Par ailleurs, dans le modèle EAE le plus couramment utilisé dans l'étude de la SEP, la dynamique d'expression de CXCL12 par les OPC augmente de manière significative et persistante au niveau du gyrus denté et du corps calleux après remyélinisation spontanée des souris (Zilkha-Falb et al. 2016). Ces éléments montrent l'implication du rôle potentiel de CXCL12 dans la stimulation de la capacité endogène de réparation de la gaine de myéline.

En outre, bien que le couple CXCR4/CXCL12 semble jouer un rôle clé dans les processus de prolifération, de différenciation, de migration et de maturation des OL au stade mature, il semble être également indispensable au stade embryonnaire où sa participation régulerait la survie des OPC. Par exemple, la moelle épinière embryonnaire de souris CXCR4<sup>-/-</sup> présente une réduction du nombre d'OL exprimant PDGFR $\alpha$  de plus de deux fois par rapport aux souris sauvages. Le rapport entre le nombre d'OL ventrale et dorsale a été considérablement augmenté ce qui témoigne à la fois d'un défaut de survie des OL mais également de migration des OL de la substance blanche ventrale vers la partie dorsale (Dziembowska et al. 2005). Ainsi ces éléments montrent le rôle important du CXCR4 dans la survie des OPC au stade embryonnaire du SNC.

L'ensemble de ces éléments démontrent que la signalisation de CXCL12 via son récepteur CXCR4 pourrait être une cible potentielle pour le traitement des maladies démyélinisantes telle que la sclérose en plaques.

## VII. Objectifs de la thèse

L'objectif de mon étude était de déterminer le ou les mécanisme(s) sous-jacents l'action remyélinisante de la testostérone et de son récepteur. Pour cela, nous avons utilisé un modèle de démyélinisation focale (LPC) permettant l'identification des gènes régulés lors de la remyélinisation par la testostérone. Nous avons procédé à une comparaison du transcriptome de moelles épinières de souris mâles castrés, ayant subi une lésion suivie ou non de l'administration d'un implant de testostérone. Les résultats ont permis de mettre en évidence une surexpression du récepteur de chimiokine CXCR4, lors de la réparation de la gaine de myéline par la testostérone. Jusqu'ici, plusieurs études ont démontré le rôle du CXCR4 dans le processus de maturation des oligodendrocytes, cependant aucune étude n'a permis de relier l'action des hormones androgènes à celles du récepteur CXCR4.

Ainsi, les principaux objectifs de ma thèse étaient de (d') :

- 1) déterminer *in vivo* et *ex vitro* l'impact de l'inhibition pharmacologique du CXCR4 sur la remyélinisation par la testostérone
- 2) identifier les cellules cibles du CXCR4 et du AR lors de la remyélinisation par la testostérone.
- 3) produire une lignée de souris dépourvue du gène *cxcr4* pour appuyer les résultats pharmacologiques
- 4) déterminer si le dysmorphisme sexuel a un effet sur l'action synergique du CXCR4 et du AR lors de la remyélinisation par la testostérone
- 5) étudier les expressions/co-expressions du CXCR4, AR et GFAP (astrocytes) dans les échantillons de moelles épinières post-mortem de patients atteints de la sclérose en plaques

# Résultats

## **Article : Interaction entre la signalisation des androgènes et du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la réparation de la myéline**

L'article suivant est en cours de soumission pour publication.

Chez les hommes atteints de sclérose en plaques (SEP), une maladie démyélinisante affectant le système nerveux central, des niveaux réduits de testostérone (T) sont associés à la progression de la maladie, à une déficience neurologique et à une atrophie cérébrale. Nous montrons ici que le récepteur de chimiokine CXCR4 est régulé par la T lors du processus de remyélinisation et qu'une coopération synergique entre la T et le récepteur de chimiokine CXCR4 est nécessaire pour la régénération de la myéline après une démyélinisation focale induite par la lysolécithine dans la moelle épinière ventrale de la souris. De même, la migration des astrocytes exprimant CXCR4, son ligand CXCL12 et le récepteur des androgènes (AR) dans la zone de démyélinisation est dépendante de la T, ce qui en fait une condition préalable à la réparation de la myéline par les oligodendrocytes. L'inhibition pharmacologique ou l'ablation conditionnelle du CXCR4 astrocytaire bloque les effets de la T sur la migration des astrocytes et la remyélinisation.

Aussi, nous montrons que la présence d'astrocytes au sein de la lésion démyélinisée au niveau de la moelle épinière s'oppose à l'incursion des cellules de Schwann (cellules myélinisantes du SNP). Enfin, par une étude translationnelle, chez les patients atteints de SEP progressive, nous montrons que les astrocytes exprimant CXCR4 et AR sont présents principalement en périlésions, et leur présence était aussi exclusive pour les cellules de Schwann. Ces résultats montrent l'importance du récepteur de chimiokine CXCR4 dans le l'effet remyélinisant de la testostérone et soulignent l'impact de la normalisation de la testostérone dans le cadre de thérapies combinées de remyélinisation.

## Interplay between androgen and CXCR4 chemokine signaling in myelin repair

Narimène Asbelaoui<sup>1</sup>, Charly Abi-Ghanem<sup>1,4</sup>, Géraldine Schlecht-Louf<sup>2</sup>, The Netherlands Brain Bank<sup>3</sup>, Michael Schumacher<sup>1</sup> and Abdelmoumen Ghomari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR1195, "Diseases and Hormones of the Nervous System", Inserm and University Paris-Saclay

<sup>2</sup>UMR996 "Inflammation, Microbiome and Immunosurveillance", Inserm and University Paris Saclay

<sup>3</sup>Netherlands Institute for Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands

<sup>4</sup>Charly Abi-Ghanem is now at Department of Neuroscience & Experimental Therapeutics, Albany Medical College, Albany, NY, USA 12208.

### Abstract

In men with multiple sclerosis (MS), a demyelinating central nervous system disorder, reduced levels of testosterone (T) are associated with disease progression, neurological impairment and brain atrophy. Here, we show that the CXCR4 chemokine receptor is a T-regulated gene, and that their signaling cooperation leads to myelin regeneration in lyssolecithin-induced demyelination of the mouse spinal cord. The T-dependent migration of astrocytes expressing CXCR4, its ligand CXCL12 and the androgen receptor (AR) into the demyelinating area is a prerequisite for myelin repair by oligodendrocytes. Pharmacological inhibition or conditional ablation of astrocytic CXCR4 prevented the effects of T on astrocyte migration and remyelination. In the demyelinated mouse spinal cord as well as in patients with progressive MS, astrocytes expressing CXCR4 and AR surrounded myelin lesions, and their presence opposed the incursion of Schwann cells. These results highlight the mechanism of T signaling and the importance of its normalization for combined remyelination therapies.

### Introduction

In the central nervous system (CNS), oligodendrocytes form insulating myelin sheaths around axons, ensuring rapid electrical communication between neurons and providing trophic support <sup>1</sup>. Damaged myelin and lost oligodendrocytes can be partly replaced by a process known as remyelination, involving the recruitment of oligodendrocyte progenitor cells (OPC) and their differentiation into myelinating oligodendrocytes <sup>2</sup>. As myelin healing often remains insufficient and fails in chronic lesions, enhancing its regenerative capacity has become challenging for multiple sclerosis (MS) patients <sup>3</sup>. However, recent remyelination trials have not translated into the clinics, possibly reflecting the need for combination therapeutics <sup>4</sup>. The often-neglected hormonal status of MS

patients warrants particular attention as part of successful treatments.

In men with MS, low T levels resulting from dysfunctions of the hypothalamus and pituitary gland, have indeed been associated with neurological disability and worse clinical outcomes <sup>5, 6</sup>. Moreover, the risk of hospital admission for MS was significantly increased in men diagnosed for testicular hypofunction <sup>7</sup>. In experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), the most commonly used animal models to investigate MS pathology, testicular steroidogenesis was suppressed and levels of T in brain and spinal cord were markedly reduced <sup>8,9</sup>.

In this study, we demonstrate that T regulates the CXCR4 chemokine receptor and that their cooperation plays an important role in the regeneration of myelin by oligodendrocytes.

CXCR4 and its unique endogenous ligand CXCL12 indeed regulate OPC proliferation, migration and their differentiation into myelin-forming oligodendrocytes<sup>10, 11</sup>. CXCL12-induced CXCR4 signaling has thus been proposed as an interesting target for promoting remyelination<sup>12</sup>. Present results go beyond previous investigations by showing that astrocytic CXCL12/CXCR4 signaling is required for myelin repair and depends on T.

The essential roles of T and CXCR4 signaling and their interdependence in myelin regeneration were demonstrated in demyelinated lesions of the mouse spinal cord (ventral funiculus) produced by the stereotaxic infusion of lysolecithin (LPC). When well-dosed, this phospholipid selectively destroys myelin and kills oligodendrocytes and astrocytes within a focal area, followed by the proliferation and activation of astrocytes around the lesion core<sup>13</sup>. As a major strength of this model, the processes of demyelination and remyelination are separate, and lesions end up fully remyelinated by newly generated oligodendrocytes after about 4 weeks<sup>14</sup>.

We show here, that the T- and CXCR4-dependent migration of astrocytes into the area of demyelination is a prerequisite for the remyelination of axons by oligodendrocytes in both sexes. Notably, astrocytes that repopulated the LPC lesion expressed CXCR4, CXCL12 and AR, indicating autocrine/paracrine chemokine and androgen signaling mechanisms. Either the depletion of T by castration, ablation of AR in the CNS or inhibition of the astrocytic CXCR4 prevented the migration of astrocytes into the lesion and remyelination by oligodendrocytes. In the absence of astrocytes, axons were instead remyelinated by Schwann cells, most likely originating from spinal nerve roots. These experimental findings, which bridge cellular and molecular signaling mechanisms involved in myelin repair by T, may be relevant for MS, where astrocytes surrounding plaques coexpressed CXCR4 and AR and never colocalized with Schwann cells.

## Methods

### Animals

Mice were housed in standard plastic cages with 1–5 littermates in a 12-h/12-h light/dark cycle in a temperature-controlled room (~21 °C), with *ad libitum* access to food and water. The care and use of mice were conformed to institutional policies and guidelines (INSERM, French and European Community council directive 86/806/EEC). All mice were between 8 and 12 weeks old and were bred under the C57BL6/J background.

AR<sup>NesCre</sup> mice with selective ablation of AR in neurons and macroglial cells (microglia is spared) were obtained by crossing floxed AR mice (AR<sup>fl/y</sup>) with mice expressing the Cre recombinase driven by the promoter of the CNS-specific enhancer of rat nestin (Nes). Both strains were on a C57/BL6 background, and the AR<sup>NesCre</sup> mice have been extensively characterized<sup>15, 16, 51</sup>.

PLP-eGFP mice were obtained from Wendy Macklin (University of Colorado, Aurora, CO)<sup>24</sup>. These mice express the enhanced green fluorescent protein (eGFP) in cells of the oligodendroglial lineage under the control of PLP gene promoter.

We created CXCR4<sup>GFAPCre</sup> mice with selective ablation of CXCR4 in astrocytes by crossing Cxcr4tm2Yzo/J mice (exon 2 of the CXCR4 gene flanked by LoxP sites, CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice) with GFAP-cre mice (Cre recombinase under the control of the GFAP gene promoter). Both lines were purchased from Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). They were maintained on a C57BL/6J background. We first generated double heterozygous mice for GFAP-Cre and floxed CXCR4 (GFAP-Cre;CXCR4<sup>lox/+</sup>) that were then bred to CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice via a back-mating strategy to generate excised floxed CXCR4 homozygous (GFAP-Cre;CXCR4<sup>Lox/Lox</sup>) and heterozygous (GFAP-Cre;CXCR4<sup>lox/+</sup>) for floxed CXCR4, that we called CXCR4<sup>GFAPCre</sup>, and Cre-null mice (CXCR4<sup>lox/+</sup> and CXCR4<sup>lox/lox</sup>, used as controls throughout this study). No special phenotype has been noticed. For genotyping, genomic DNA was isolated from tail

tips using the DNeasy Blood and Tissue kit (ID: 69504, Qiagen). PCRs were performed using PCR Master Mix (ID: 69504) with primer sequences for floxed *Cxcr4* gene (Reverse 5'-GAT GGG ATT TCT GTA TGA GGA TTA-3'; Forward 5'-CCA CCC AGG ACA GTG TGA CTC TAA-3') and for GFAP-Cre transgene (Cre Forward 5'-TCC ATA AAG GCC CTG ACATC-3'; Cre Reverse 5'-TGC GAA CCT CAT CAC TCG T-3'; Internal Positive Control Forward 5'-CAA ATG TTG CTT GTC TGG TG-3'; Internal Positive Control Reverse 5'-GTC AGT CGA GTG CAC AGT TT-3'). Samples were electrophoresed against a GeneRuler 100 bp DNA Ladder; Thermo Fisher Scientific Inc.). Finally, adult male *Cxcr4*<sup>+/<sup>1013</sup> mice harboring the CXCR4<sup>1013</sup> gain of function mutation on the C57BL/6J background were used<sup>30</sup>. This mutation results in CXCR4 carboxyl-terminal domain truncation, leading to impaired CXCR4 desensitization and internalization, and causes the WHIM syndrome, a rare immunodeficiency<sup>52</sup>.</sup>

### **Focal demyelination with lysolecithin (LPC)**

Demyelination was induced by injection of 1% LPC (lysophosphatidylcholine, Sigma-Aldrich) in phosphate buffered saline (PBS) into the right ventral funiculus of 2-3 months old castrated male or ovariectomized female mice. Animals were anesthetized by ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). After shaving the skin, a caudal incision was made in the space between T12 and T13 to expose the spinal cord. The central vein was used as a benchmark for LPC injection. The injection was performed with a fine-tipped glass capillary, elongated until reaching a diameter not exceeding 50  $\mu$ m (Harvard Apparatus), and mounted on a stereotaxic device after connection to a Hamilton syringe with a plastic tube. The LPC injection was performed under the control of an infusion pump, which delivers 0.1  $\mu$ l of 1% LPC solution during 10 min. After suturing the muscles, a silastic tube, either empty (control) or filled with testosterone (T) (58-22-0, Merck) was s.c. implanted. In addition, we made a subcutaneous injection of AMD3100

(specific pharmacological inhibitor of CXCR4/CXCL12 signaling) and repeated AMD3100 injections every two days. Optimization of AMD3100 doses for male (5  $\mu$ M) and female (1  $\mu$ M) mice has been validated. Mice were sacrificed at 5, 10, 15 or 30 days post-lesion (dpl) for immunohistological analysis. For gene chip and electron microscopy analysis, mice were sacrificed at 5 or 30 dpl.

### **Laser Capture microdissection**

To study the effect of T on gene expressions after LPC-induced demyelination, two groups of castrated males have been used. Four mice received an empty Silastic implant and 4 mice received a Silastic tube filled with T. At 5 dpl, mice were sacrificed and their spinal cords were dissected and immediately stored at -80°C. Frozen sections of 10  $\mu$ m were cut, and lesions were visualized using Cresyl violet coloration. Regions of interest were microdissected using a microscope coupled to an infrared laser (Arcturus XT™ Laser Capture Microdissection System, Applied Biosystems). Microdissection was performed at the Plateforme HistIM at Institut Cochin (Paris). Selected regions were collected onto specific caps (CapSure Macro LCM Caps, Applied Biosystems), and RNAs were extracted (RNeasy Micro Kit (74004, Qiagen).

### **Affymetrix chip data analysis**

After, quantification and quality evaluation, RNAs were hybridized to Affymetrix chip "mouse gene 2.1 ST" to analyze differentially expressed gene. Those presenting a fold change superior of 2 were selected. Data analysis of differentially expressed genes were conducted using the Partek Genomic Suite software (Partek Inc., St Louis, MO, USA), in collaboration with the Translational Research Department, Genomics Platform of the Institut Curie (PSL Research University, Paris).

### **Real time PCR**

In order to confirm the differential expression of CXCR4 and MPZ (P0) genes



between T and vehicle treatments, we performed a quantitative real-time PCR (qRT-PCR) on the same RNA used for Affymetrix chip analysis. We also extracted total RNA from adult male brain (AR<sup>lox</sup> and AR<sup>NesCre</sup> mice) and purified them using RNeasy Purification Reagent (Qiagen). To obtain cDNA, reverse transcriptase was carried out using 10 µg of total RNA. qRT-PCR was performed using SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The primers used for targeting CXCR4 and MPZ genes are presented above. Relative expression of these genes has been determined by using the equation  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

### **Organotypic cerebellar and spinal cord slice cultures**

Cerebellar slice cultures were done as described earlier<sup>16, 53</sup>. Briefly, after decapitation, brains of P10 PLP-eGFP pups were dissected out into cold Gey's balanced salt solution containing 5 mg/ml glucose (GBSS-Glu) and meninges were removed. Cerebellar parasagittal slices (350-µm thick) were cut on a Maclwain tissue chopper and transferred onto Millipore membranes of 30 mm diameter with a 0.4 µm pore size (Millicell, Millipore). Slices were maintained in culture on the membranes in six-well plates containing 1 ml of medium at 37°C in a 5% carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) humidified atmosphere. The medium was changed every 2 to 3 days. The same protocol was applied for spinal cord slice culture.

To induce demyelination the medium was removed from the wells after 7 days in culture, and fresh medium containing 0.5 mg/ml LPC (Sigma) was added to the cultures for 17-18 hr. The medium was then removed and the slices were incubated for 5 additional days in the absence or presence of T (1 µM) and AMD3100 (5µM). The dosing of AMD3100 has been validated. Steroids were dissolved in 0.1% ethanol and control cultures were treated with vehicle alone.

### **Coculture of organotypic brain slices**

After 7 days culture of P10 C57BL6/J cerebellar slices, demyelination was induced by using LPC (0.5 mg/ml) during 17-18h, as described above. Then, P10 cerebellar slices were apposed to portions of brain stem slices from newborn transgenic P0 PLP-eGFP mice (modified from<sup>16</sup>). This coculture system allowed us to study the migration of PLP-eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells into LPC-demyelinated slices. Cocultures were treated with vehicle, T and AMD3100. The medium was replaced and treatments renewed after 2 to 3 days. After 10 days, the number of EGFP<sup>+</sup> cells that had migrated into the demyelinated slice and the distance of their migration from the limit between the two slices were quantified.

### **Identification and immunohistochemical analysis of MS lesions**

The Netherlands Brain Bank (NBB) provided postmortem materials and clinical data of multiple sclerosis (MS) donors. Donors provided informed consent for brain autopsy and for the use of material and clinical data for research purposes in compliance with national ethical guidelines and the NBB donor program has been approved by the Ethical Committee VU University Medical Center (Amsterdam). The clinical course was defined as primary progressive (PP) or secondary progressive (SP). Disability status was determined by retrospective chart analysis using Kurtzke's Expanded Disability Status Scale (EDSS). Multiple sclerosis tissue sample identity for each patient and clinicopathologic data are summarized in Extended Table 1. No significant differences were found in age at death, post-mortem delay, post-mortem pH between sexes. Spinal cord tissue samples at thoracic level from 5 women and 5 men with MS disease were used in this study. They have been received in embedded paraffin and were cut in 5µm sections before being analyzed by immunolabeling antibodies against MBP, GFAP, CXCR4 and AR.

### **Immunohistochemistry**

Mice were deeply anaesthetized with a mixture of ketamine-xylazine and then fixed by transcardiac perfusion with a 4% freshly prepared paraformaldehyde solution in PBS (0.1 M, pH 7.5). Spinal cords were extracted from the spine, post-fixed using 4% paraformaldehyde and included into paraffin blocks. Transversal sections of 5  $\mu$ m have been cut using microtome (Micro HM 340E, ThermoScientific). After deparaffinization, rehydration and epitope retrieval in 1X citrate buffer solution, sections were blocked for 1h in Sea buffer (Sigma) before immunostaining. Primary antibodies were incubated overnight at 4°C followed by PBS 1X washing and incubation with secondary antibodies at room temperature for 2h. The antibodies used in our study are listed in Extended Table 2.

For human spinal cord samples, the same protocols of deparaffinization and immunocytochemistry process were applied.

*Ex vivo*, cultures and cocultures of cerebellar slices were fixed using PFA 4% to perform immunofluorescence, as previously described<sup>29</sup>.

### **Semi-thin plastic sections and electron microscopy**

After the sacrifice of mice, spinal cords were extracted and put in a mixture of 2% paraformaldehyde and 2% glutaraldehyde 2%(Sigma) for 2 weeks. Post-fixation was then carried out in osmium oxide and embedded in epoxy resin. To define LPC lesions, semi-fine sections of (0.5  $\mu$ m) were cut and stained with toluidine blue. After visualization of the LPC lesion, ultrathin sections (60 nm) were cut and myelin structure was analyzed using transmission electron microscopy (Philips EM 208).

### **Immunohistological analysis**

Processed spinal cord slices were permanently mounted and pictures were taken using confocal (Zeiss LSM510-Meta) and AxioImager A1 microscopes. For each cerebellar slice culture, three different cerebellar lobules were photographed. For spinal cord sections, the

center and border (rim) of demyelinated areas were photographed. All analysis was performed by NIH Fiji software. To evaluate the expression of MBP, GFAP, CXCR4 and CXCL12, immunostaining densities were quantified. An arbitrary threshold was set for the standardization of different measurements. Staining intensities were expressed percentage (light pixels/light + dark pixels).

### **Statistical analysis**

GraphPad Prism (version 8) was used for statistical analysis. Difference between multiple groups were analyzed by two-way or one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons tests. Differences between 2 groups were analyzed by two-tailed unpaired Student's t-test. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m and significant differences are marked by asterisks (\*\* $P < 0.001$ , \* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$ ).

## **Results**

### **Testosterone-dependent gene regulation in lysolecithin-demyelinating lesion of the spinal cord**

We have previously shown that T is required for the spontaneous remyelination of axons by oligodendrocytes after focal LPC-induced demyelination in the ventral spinal cord white matter (ventral funiculus) of male mice<sup>15</sup>. We show here that T-dependent myelin regeneration by oligodendrocytes, reflected by immunofluorescence staining of myelin basic protein (MBP), starts as soon as 5 days post-lesion (dpl) and progresses during the first two weeks, becoming dense between 15 and 30 dpl (Fig. 1a). As previously noted, the increase in MBP staining was paralleled by a T stimulated increase in activated astrocytes immunoreactive for glial fibrillary acidic protein (GFAP) (Fig. 1b). There was indeed a significant positive correlation over time between MBP and GFAP immunostaining, pointing to a role of astrocytes in the T-

dependent remyelination by oligodendrocytes (Fig. 1c).

To identify genes involved in T-dependent remyelination, we performed RNA profiling within laser capture microdissected lesion areas by Affymetrix microarray analysis at 5 dpl, when the remyelination of axons starts (Fig. 1d). Castrated male mice were treated with an empty or T-filled subcutaneous (s.c.) Silastic implant. T implants used in the present work produced T levels in the normal physiological range for adult males ( $10.8 \pm 1.2$  nM), analyzed by gas chromatography/mass spectrometry. Hierarchical clustering identified 41 genes with a > 2-fold fold change (FC) in expression, among them the chemokine receptor CXCR4 and the Schwann cell myelin protein zero (MPZ or P0). In the presence of T, CXCR4 was upregulated (FC = +2.11) and MPZ was downregulated (FC = -2.57). We focused on these two genes, in particular on CXCR4, which has previously been shown to play a key role in the recruitment of OPC and their differentiation into myelinating oligodendrocytes<sup>10, 11</sup>. MPZ<sup>+</sup> Schwann cells instead of oligodendrocytes have been reported to remyelinate CNS axons in the absence of T<sup>15</sup>.

The microarray results for CXCR4 and MPZ mRNA were first validated by qRT-PCR analysis at 5 days after LPC. At this early time point, treatment of castrated male mice with T significantly upregulated CXCR4 mRNA levels (Fig. 1e) and downregulated MPZ mRNA levels (Fig. 1f). A time-course analysis within the lesion area showed that in the absence of T, CXCR4 immunolabeling remained low during 30 days after LPC, becoming even less intense after 15 days, but progressively increased in T-treated males, reaching highest levels between 15 and 30 dpl (Fig. 1g). The effect of T on CXCR4 expression involved the intracellular AR, as it was downregulated in AR<sup>NesCre</sup> mice displaying CNS-selective ablation of AR (Fig. 1h), suggesting that CXCR4 acts downstream of AR.

### **Testosterone triggers the migration of astrocytes expressing CXCR4 and its CXCL12 ligand into the demyelinated lesion**

Analysis of CXCR4 expression by immunohistochemistry at 30 dpl showed very little staining within the lesion area in castrated males receiving an empty implant, but a high density of immunoreactive cells was observed in T-treated males (Fig. 2a,b). In response to T,

CXCR4<sup>+</sup> cells appeared to migrate into the demyelinated lesion, as suggested by the reduction in the dense CXCR4 immunostaining at the lesion borders concomitant with its appearance inside the lesion (Fig. 2a-c).

Treatment with AMD3100, a specific inhibitor of CXCR4, blocked the T-dependent migration of

CXCR4<sup>+</sup> cells into the lesion, which stayed around its borders as in the absence of T (Fig. 2a-c). Double immunostaining revealed that the CXCR4<sup>+</sup> cells that migrated into the lesion were GFAP<sup>+</sup> astrocytes (Fig. 2a,d), consistent with the previously reported T-dependent migration of astrocytes into an area of demyelination<sup>15</sup>. Here, we show that these astrocytes express CXCR4, and that their T-dependent migration requires CXCR4 signaling.

The CXCR4 dependency of the effect of T on astrocyte migration suggested the presence of CXCL12, its unique chemokine ligand, within the demyelinated lesion. Double-immunolabeling indeed showed that GFAP<sup>+</sup> astrocytes within the lesion area of T-treated males also expressed CXCL12, indicating possible autocrine chemokine signaling (Fig. 2e-h). As for CXCR4<sup>+</sup> astrocytes, the appearance of CXCL12<sup>+</sup> astrocytes inside the lesion was blocked by AMD3100, but it was not accompanied by a significant decrease in CXCL12 around the lesion (Fig. 2g). This observation points to other cellular sources of CXCL12 than astrocytes in the perilesional area.

Our search of T-regulated genes after a demyelinating lesion thus uncovered the T-dependent migration of astrocytes expressing both CXCR4 and CXCL12 inside the LPC demyelinated lesion. CXCR4 signaling was required for the stimulation of astrocyte

migration by T, suggesting the cellular and molecular mechanism by which androgen may enhance myelin repair. Either the lack of T or the inhibition of CXCR4 indeed resulted in the complete absence of astrocytes within the demyelinated lesion.

### **Astrocytes and neurons express the androgen receptor**

A key role of AR in the remyelination signaling of T has been demonstrated by its pharmacological blockade or its genetic removal from the CNS<sup>15-18</sup>. Here, we show that GFAP<sup>+</sup> astrocytes surrounding the demyelinated LPC lesion and those migrating into the lesion express AR. AMD3100, which inhibits the T-dependent presence of activated astrocytes within the demyelinated lesion also prevented the appearance of AR immunostaining inside the lesion (Fig. 3a-d). The specificity of the AR antibody was shown by the absence of immunostaining of Purkinje cells on cerebellar sections from AR<sup>NesCre</sup> mice when compared to control wildtypes (Extended Data Fig. 1a). This is the first demonstration of AR expression by astrocytes during remyelination, AR having previously mainly been localized to spinal motoneurons<sup>19</sup>. The NeuN<sup>+</sup> motoneurons in the vicinity of the LPC lesion were indeed immunopositive for AR. However, in contrast to astrocytes, AR immunostaining in neurons, in grey matter, was not affected by T or AMD3100 treatment (Fig. 3e,f). In response to T treatment, nuclear translocation of neuronal AR was significantly increased, indicating active T signaling in neurons (Fig. 3g). Interestingly, inhibition of CXCR4 signaling by AMD3100 did not affect the T-stimulated nuclear translocation of AR in neurons, although they are well known to express CXCR4<sup>20</sup> (Fig. 3g).

### **Inhibition of CXCR4 blocks testosterone-dependent remyelination in both males and females**

Astrocytes support myelin regeneration by oligodendrocytes<sup>21, 22</sup>. To assess whether the T- and CXCL12/CXCR4-dependent migration of GFAP-expressing astrocytes into

the LPC lesion accompanied CNS remyelination by oligodendrocytes, castrated male mice received an empty or a T-filled s.c. Silastic implant. After 4 weeks, both MBP<sup>+</sup> myelin and GFAP<sup>+</sup> astrocytes were fully restored within the lesion area of males treated with T. In contrast, no GFAP<sup>+</sup> and MBP<sup>+</sup> immunoreactivities were observed in the absence of T, and the T effect was completely blocked by AMD3100, demonstrating a cooperation between the androgen- and chemokine signaling in CNS remyelination (Fig. 4a-c). Previously, we have shown that T treatment stimulates myelin regeneration in both sexes<sup>16</sup>. Here, we show that T treatment also restores and AMD3100 also inhibits MBP<sup>+</sup> and GFAP<sup>+</sup> immunoreactivities within the LPC lesion of ovariectomized females (Fig. 4d,e).

The T-dependent regeneration of myelin sheaths was examined by electron microscopy. The majority of ventral funiculus axons were surrounded by thin compact myelin after 4 weeks of T treatment, whereas most axons were demyelinated in mice receiving an empty implant or in mice treated with T and AMD3100 (Fig. 4f). Moreover, the mean g-ratio of myelinated axons within the lesion was significantly lower in T-treated than in T+AMD3100 treated mice, reflecting enhanced remyelination (Fig. 4g). Of note, demyelinated axons within the LPC lesion of mice deprived of T or treated with T+AMD3100 contained swelled mitochondria (Fig. 4f). This indicates altered axonal transport and mitochondrial dysfunctions in the absence of oligodendrocyte remyelination<sup>23</sup>.

### **The dialogue between androgen and CXCR4 signaling is required for the recruitment of oligodendrocytes**

The recovery of MBP-immunoreactive CNS myelin within a demyelinated lesion requires the recruitment of OPC and their differentiation into myelinating oligodendrocytes. To visualize their migration into the LPC lesion, we used castrated PLP-eGFP transgenic mice, expressing the enhanced green fluorescent protein (eGFP)

under the control of the myelin proteolipid protein (PLP) gene promoter in oligodendroglial cells<sup>24</sup>. In castrated male mice, no eGFP fluorescent cells were observed within the LPC lesion at 30 dpl, showing that the disappearance of MBP<sup>+</sup> myelin was accompanied by the depletion of oligodendrocytes. Treatment of the castrated male mice with a Silastic T implant increased the number of eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells within the lesion (Fig. 5a,b). Colabeling with GFAP revealed parallel running astrocytic processes crossing the entire LPC lesion, along which the eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells were aligned, suggesting their migration along astrocytic fibers (Fig. 5a). Inhibition of CXCL12/CXCR4 signaling by AMD3100 prevented the T-dependent recruitment of oligodendroglial cells and the formation of astrocytic processes (Fig. 5a). Likewise, T increased the number of eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells within the LPC lesion in ovariectomized females (Fig. 5c).

Cells present within the area of remyelination also expressed the oligodendrocyte lineage transcription factor 2 (Olig2) (Fig. 5d,e). Double-staining with CC1, a marker of differentiated oligodendrocytes, showed that most Olig2<sup>+</sup> cells were mature oligodendrocytes (Fig. 5d,f,g). As expected, only very few Olig2<sup>+</sup> and CC1<sup>+</sup> oligodendrocytes were present in the lesion of mice treated with T and AMD3100. The density of OPC characterized by the expression of platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  (PDGFR $\alpha$ ) within the area of remyelination was also significantly increased by T, consistent with their T-dependent recruitment (Extended Data Fig. 2a,d,e). These PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> OPC also expressed CXCR4, as did Olig2<sup>+</sup> cells (Extended Data Fig. 2b,f). Previous studies have indeed shown that CXCL12/CXCR4 signaling plays an important role in the migration, proliferation and differentiation of OPC into mature oligodendrocytes<sup>25-27</sup>. Moreover, mature CC1<sup>+</sup> oligodendrocytes expressed AR (Extended Data Fig. 2c,g).

Further evidence in support of a key role for both T and CXCR4 in the differentiation and

migration of oligodendroglial cells was obtained in slice cultures of mouse spinal cord and cerebellum. Organotypic cultures faithfully recapitulate the process of myelination with a normal time course, and they provide powerful experimental systems for studying the demyelination and remyelination of axons<sup>28, 29</sup>. The *in vitro* results showed that T and CXCR4 increased in a concerted manner the migration, proliferation and differentiation of oligodendroglial cells (Supplementary data 1 and Supplementary Figs. 1-3).

### **Astrocytic CXCR4 plays a key role in the testosterone-dependent migration of astrocytes inside the demyelinated area and in remyelination**

Selective pharmacological blockade of CXCL12/CXCR4 signaling by AMD3100 prevented the T-dependent migration of CXCR4<sup>+</sup> astrocytes inside the demyelinated area and the restoration of MBP<sup>+</sup> CNS myelin by oligodendrocytes. To assess the role of astrocytic CXCR4 in the recruitment of astrocytes and remyelination, we generated CXCR4<sup>GFAPCre</sup> mice with selective ablation of CXCR4 in astrocytes by crossing Cxcr4tm2Yzo/J mice (exon 2 of the CXCR4 gene flanked by LoxP sites, CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice) with GFAP-cre mice (Cre recombinase under the control of the GFAP gene promoter) (Extended Data Fig. 1c). The selective ablation of CXCR4 in astrocytes was confirmed by the loss of CXCR4 immunolabeling in the spinal cord of CXCR4<sup>GFAPCre</sup> mice, whereas CXCR4 immunostaining was not reduced in CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> controls (Extended Data Fig. 1b).

Adult male CXCR4<sup>GFAPCre</sup>, CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> and unfluxed wildtype mice were then castrated and received an unilateral demyelinating LPC lesion in their ventral funiculus. CXCR4<sup>GFAPCre</sup> and CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice were treated for 4 weeks with a T-filled implant, whereas the wildtypes received an empty implant for comparison with the lack of T condition. In the lesion, CXCR4 immunostaining was markedly decreased in the T-treated CXCR4<sup>GFAPCre</sup> mice when compared to the T-treated CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> controls, which

were comparable to the very low levels of wildtypes receiving an empty implant (Fig. 6a). In T-treated CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice, elevated CXCR4 expression within the lesion was associated with strong GFAP and MBP immunostaining, whereas astrocyte-specific ablation of CXCR4 resulted in very low GFAP and MBP levels (Fig. 6b,c). These results demonstrate a key role of astrocytic CXCR4 in the migration of astrocytes into the demyelinated area and the recovery of MBP<sup>+</sup> CNS myelin.

Complementary to this experiment, the consequences of CXCR4 gain of function were examined in CXCR4<sup>+1013</sup> mice with the heterozygous CXCR4 mutation characteristic of the Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections, and Myelokathexis (WHIM) syndrome. This mutation results in impaired desensitization and internalization of CXCR4, leading to enhanced and prolonged G protein- and  $\beta$ -arrestin-dependent responses<sup>30</sup>. Adult male CXCR4<sup>+1013</sup> mice, their littermate controls and wildtype C57BL6/6J mice were castrated and after LPC lesion, they were treated for 15 days with an empty or T-filled implant to assess the early effects of CXCR4 gain of function in the absence or presence of T.

In the absence of T, CXCR4 immunostaining within the LPC lesion of CXCR4<sup>+1013</sup> mice was comparable to T-induced levels in wildtypes. Treatment of CXCR4<sup>+1013</sup> mice with T further increased CXCR4 immunolabeling (Fig. 6d). Of note, CXCR4 gain of function was sufficient, even in the absence of T, for astrocyte migration into the lesion and some MBP<sup>+</sup> myelin increase (Fig. 6d). In contrast, as in the previous experiments, the appearance of GFAP<sup>+</sup> astrocytes within the lesion was dependent on T in wildtype mice (Fig. 6e). However, although GFAP<sup>+</sup> astrocytes entered the lesion in CXCR4<sup>+1013</sup> mice in the absence of T, treatment with T increased MBP<sup>+</sup> myelin in both wildtype and Cxcr4<sup>+1013</sup> mice (Fig. 6f). Thus, CXCR4 gain of function is necessary but not sufficient for optimal remyelination at 15 dpl, requiring cooperativity between CXCR4 and androgen signaling.

However, at 30 dpl, CXCR4 gain of function allowed a significant rescue of myelin loss, even in the absence of T treatment. This was shown by treating wildtype, control and Cxcr4<sup>+1013</sup> mice with an empty implant during 4 weeks after LPC (Fig. 6g-i). Taken together, these results provide strong additional evidence for the respective importance of both CXCR4 and T signaling in myelin regeneration, and for the close cooperation between both signaling pathways.

### **Schwann cells replenish the demyelinated lesion and remyelinate axons in the absence of AR and CXCR4 signaling**

Oligodendrocyte remyelination thus requires the presence of activated astrocytes and the cooperation between androgen and CXCR4 signaling. In the absence of astrocytes, axons have been shown to undergo remyelination by Schwann cells<sup>31, 32</sup>. Also, paucity of astrocytes resulting from the absence of T or a functional AR, led to extensive Schwann cell remyelination<sup>15</sup>. At 30 dpl, when GFAP<sup>+</sup> astrocytes and MBP<sup>+</sup> CNS myelin remained sparse within the demyelinating lesion of castrated males, axons were remyelinated by MPZ<sup>+</sup> peripheral nervous system (PNS) myelin (Fig. 7a). Electron microscopy revealed that axons were remyelinated by Schwann cells, which are normally exclusively present in the PNS. They were identified by the presence of a large nucleus adjacent to the myelin (Fig. 7b,c). As expected, GFAP<sup>+</sup> and CXCR4<sup>+</sup> astrocytes were recruited, and MBP<sup>+</sup> CNS myelin was restored at the exclusion of MPZ<sup>+</sup> PNS myelin when castrated males were treated with T (Fig. 7a). AMD3100 inhibited the T-dependent recovery of activated astrocytes and MBP<sup>+</sup> myelin within the demyelinated lesion, giving way to MPZ<sup>+</sup> Schwann cell remyelination. Immunohistochemistry images suggested that in the absence of T or after inhibiting CXCR4 with AMD3100, the lack of astrocytes allowed MPZ<sup>+</sup> Schwann cells to migrate into the lesion from nearby ventral spinal nerve roots (Fig. 7a,d). Instead, MPZ-immunoreactive Schwann cells clearly remained confined to the PNS in T-

treated males with a functional CXCL12/CXCR4 axis, when the demyelinated lesion was replenished with astrocytes and oligodendrocytes (Fig. 7a,d).

The T-dependent migration of GFAP and CXCR4 expressing astrocytes into the demyelinated lesion and the exclusion of spinal nerve root Schwann cells involved a functional AR, as Schwann cell instead of oligodendrocyte remyelination took place in AR<sup>NesCre</sup> mice with CNS-selective ablation of AR (Fig. 7d-g). MPZ immunolabeling suggests the passage of Schwann cells from spinal nerve roots into the lesion in the absence of T or a functional AR. Dual immunolabeling of MPZ and the large axon marker NF200 showed that only part of the axons was remyelinated by Schwann cells (about 50%) (Extended Data Fig. 3a,d). Schwann cells invaded the LPC-induced lesion in both castrated males and ovariectomized females in the absence of T or after blocking CXCR4 with AMD3100, whereas Schwann cell remyelination was inhibited by T in both sexes (Extended Data Fig. 3b,c).

### **Astrocytes expressing CXCR4 and AR exclude Schwann cells in the area surrounding MS lesions**

To further investigate the significance of our experimental findings for demyelinating diseases, we performed different combinations of CXCR4, AR, MBP, GFAP and MPZ immunolabeling on autopsied spinal cord sections from 5 men and 5 women with secondary progressive (SP) or primary progressive (PP) multiple sclerosis (MS). Provided by the Netherland Brain Bank (NBB), the age of the donors ranged from 53 to 69 years, the postmortem delay did not exceed 10 hours, and importantly, the narrow postmortem cerebrospinal fluid pH range (6.14 - 6.88) ensured good histological and molecular tissue preservation<sup>33</sup> (Extended Data Table 1).

Immunohistochemistry analysis was performed in the center and border (rim) of active and mixed active/inactive (chronic active) lesions as well as in normal-appearing white matter (NAWM) (Fig. 8a-p). MBP

immunolabeling was very low within the center, elevated in the rim of MS lesions and even higher in NAWM (Fig. 8m). CXCR4 staining showed a similar pattern, reflecting the overlap of MBP and CXCR4 immunostaining in rim and NAWM (Fig. 8a-d and 8i,j). Remarkably, CXCR4 labeling was highest in the 2 identified remyelinated shadow plaques (Extended Data Fig. 4a).

In line with our experimental observations in mouse brain, the presence of MBP<sup>+</sup> myelin concurred with GFAP<sup>+</sup>/CXCR4<sup>+</sup> astrocytes in perilesional areas and NAWM, but was nearly absent in the myelin-poor MS lesion centers (Fig. 8a-j). CXCR4 and GFAP indeed colocalized in the rim of MS lesions, indicating CXCR4 expression in activated astrocytes surrounding areas of demyelination. GFAP immunostaining was even slightly but significantly higher in rim than in NAWM (Fig. 8o). Moreover, rim GFAP<sup>+</sup> astrocytes also expressed AR, consistent with cooperative androgen and chemokine signaling in the perilesional area, also containing MBP<sup>+</sup> myelin (Fig. 8k,l). Of note, the number of AR<sup>+</sup> cells was higher in lesion rim when compared to the lesion center and in particular NAWM, suggesting an upregulation of the receptor in response to demyelination (Fig. 8p). For these analyses, data of men and women were pooled as there were no differences between sexes for CXCR4 immunolabeling and the density of AR<sup>+</sup> cells in the center or at the borders of MS lesions (Extended Data Fig. 4b-e).

In MBP-sparse regions of MS lesions, infiltration of MPZ<sup>+</sup> Schwann cells was observed (Fig. 8g). GFAP/CXCR4/MPZ labeling in MS perilesional areas showed that GFAP<sup>+</sup>/CXCR4<sup>+</sup> immunostaining was exclusive to MPZ<sup>+</sup> immunostaining (Fig. 8h), as were CXCR4<sup>+</sup>/MBP<sup>+</sup> (Fig. 8i-j). and GFAP<sup>+</sup>/AR<sup>+</sup> immunostaining (Fig. 8k,l). Thus, as in demyelinating lesions of the mouse spinal cord, the presence of CXCR4 and AR expressing astrocytes appear to oppose the arrival of MPZ<sup>+</sup> Schwann cells at the border of MS lesions, most likely originating from nearby spinal roots (stars). The number of MPZ<sup>+</sup> cells entering MS

lesions did not differ between males and females (Extended Data Fig. 4f).

## Discussion

Sex differences in the incidence and progression of MS provided the rationale for earlier studies testing the effects of T therapy in EAE<sup>34</sup>. Their beneficial outcomes, ascribed to the immunomodulatory and neuroprotective effects of T<sup>35</sup>, prompted a pilot trial showing protective effects of transdermal testosterone in men with MS<sup>36, 37</sup>. The growing interest in regenerative therapies for restoring lost myelin<sup>38</sup> then prompted us to show remyelinating actions of T in models of toxin-induced demyelination<sup>15, 16</sup>. Moreover, T was shown to stimulate developmental myelination<sup>17</sup>.

Extending these experimental findings to myelin repair strategies required mechanistic insights into the promyelinating actions of T. An additive cooperation between T and the promyelination signaling pathway Hedgehog has been recently observed<sup>18</sup>. Present results demonstrate the unexpected regulation of the chemokine receptor CXCR4 by T, and their full **synergy** cooperation in myelin repair. The lack of T, a non-functional CNS AR or the inhibition of CXCR4 indeed resulted in the complete absence of new myelin formation by oligodendrocytes after LPC-induced demyelination.

Astrocytes can adopt reactivity states that facilitate OPC differentiation and myelin formation, and they have emerged as appealing therapeutic targets for remyelination therapies<sup>22</sup>. However, their promyelinating phenotype remains to be fully characterized<sup>21</sup>. Here, we identify activated astrocytes as the main cellular mediators of the interplay between T and CXCL12/CXCR4, necessary for myelin repair. The T- and CXCR4-dependent migration of astrocytes into an area of demyelination was indeed required for the recruitment of oligodendrocytes and the formation of new CNS myelin. Depriving mice of their endogenous T by castration, selective genetic inactivation of AR in the CNS, pharmacological inhibition of

CXCL12/CXCR4 signaling by AMD3100 or selective ablation of CXCR4 in astrocytes all entirely prevented the migration of astrocytes into the demyelinated lesion, leading to their accumulation at the borders. Remarkably, in mice with a heterozygous gain of function mutation in CXCR4, astrocytes and CNS myelin were partially rescued within the lesion even in the absence of T, providing further strong evidence for the key importance of CXCL12/CXCR4 signaling in remyelination.

In mouse models of demyelination, CXCL12 expression was up-regulated in astrocytes, and inhibition of its signaling decreased the differentiation of progenitor cells into myelinating oligodendrocytes<sup>10, 11, 39</sup>. OPC also co-express CXCL12 and CXCR4, indicating additional autocrine signaling<sup>40</sup>. In addition to the key role of astrocytic CXCR4 in remyelination demonstrated here, we confirm CXCL12 expression by astrocytes and CXCR4 expression by oligodendroglial cells, consistent with autocrine/paracrine CXCL12/CXCR4 signaling involved in oligodendrocyte maturation and myelination. However, the astrocyte-specific silencing of CXCR4 prevented the migration of astrocytes into the demyelinated lesion and remyelination by oligodendrocytes.

Importantly, astrocytic CXCR4 signaling was dependent on the T environment. In the presence of T and CXCL12/CXCR4 signaling, astrocytic processes were observed to cross the LPC lesion. Along them, eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells were aligned suggesting their migration. Newly formed oligodendrocytes have indeed been observed along fiber-like processes formed by astrocytes<sup>41</sup>.

Whereas oligodendrocytes remyelinated axons in the presence of activated astrocytes migrating into the lesion in a T- and CXCR4-dependent manner, axons were remyelinated in their absence by Schwann cells. In the CNS, axons can indeed be remyelinated by Schwann cells in the absence of astrocytes<sup>15, 31, 42</sup>. Astrocyte activation also determines the balance of oligodendrocyte versus Schwann cell remyelination<sup>43</sup>. Our immunohistochemical



pictures strongly suggest that in the absence of astrocytes, MPZ<sup>+</sup> Schwann cells migrate from nearby ventral spinal nerve roots into the lesion. In the spinal cord, Schwann cells derived from spinal nerves can remyelinate axons after the disruption of astrocyte limitans<sup>44</sup>.

Organotypic cultures of LPC-demyelinated spinal cord and cerebellar slices prepared from mice expressing the eGFP reporter in oligodendroglial cells allowed us to further characterize the reciprocal interactions between T and CXCR4 during major stages of the remyelination process. Addition of T to the culture medium stimulated the replenishment of the demyelinated slices with oligodendrocytes and the recovery of MBP<sup>+</sup> myelin, and these effects were blocked by AMD3100. T also enhanced in a CXCR4-dependent manner the migration of oligodendroglial cells into demyelinated cerebellar slices.

Immunohistochemical analysis of autopsied spinal cord sections from MS patients provided support for the physiopathological relevance of our experimental findings. Important observations were the correspondence between CXCR4 and MBP expression in NAWM and at the rim of active and mixed active/inactive lesions, and the colocalization of CXCR4 with GFAP. Perilesional astrocytes also expressed AR, in accordance with an interdependent astrocytic androgen and chemokine signaling. Strong AR immunoreactivity colocalizing with GFAP<sup>+</sup> astrocytes has previously been observed in the rim of MS lesions<sup>45</sup>. Importantly, as in the LPC demyelinated lesions, CXCR4<sup>+</sup> and AR<sup>+</sup> astrocytes were exclusive to MPZ<sup>+</sup> Schwann cells around MS lesions.

The regulation of CXCR4 by T and their (synergistic) cooperative signaling guide to the importance of normalizing low T levels for efficient myelin regeneration therapy. Restoring T levels to age-adjusted physiological levels is indeed associated with multiple health benefits in men<sup>46, 47</sup>. Depending on the patient cohort and clinical progression of MS, the prevalence of serum T levels below the lower limit of normal (<10 nmol/L) lies between 30% and 80%<sup>5, 6</sup>.

Interestingly, T has also beneficial immunological effects relevant for MS<sup>48</sup>, and CXCL12/CXCR4 signaling is protective in EAE by preventing lymphocytes from invading the CNS and by restraining autoimmune inflammatory processes<sup>49, 50</sup>. Restoring normal T levels may thus become part of personalized remyelinating treatments and precision medicine in MS.

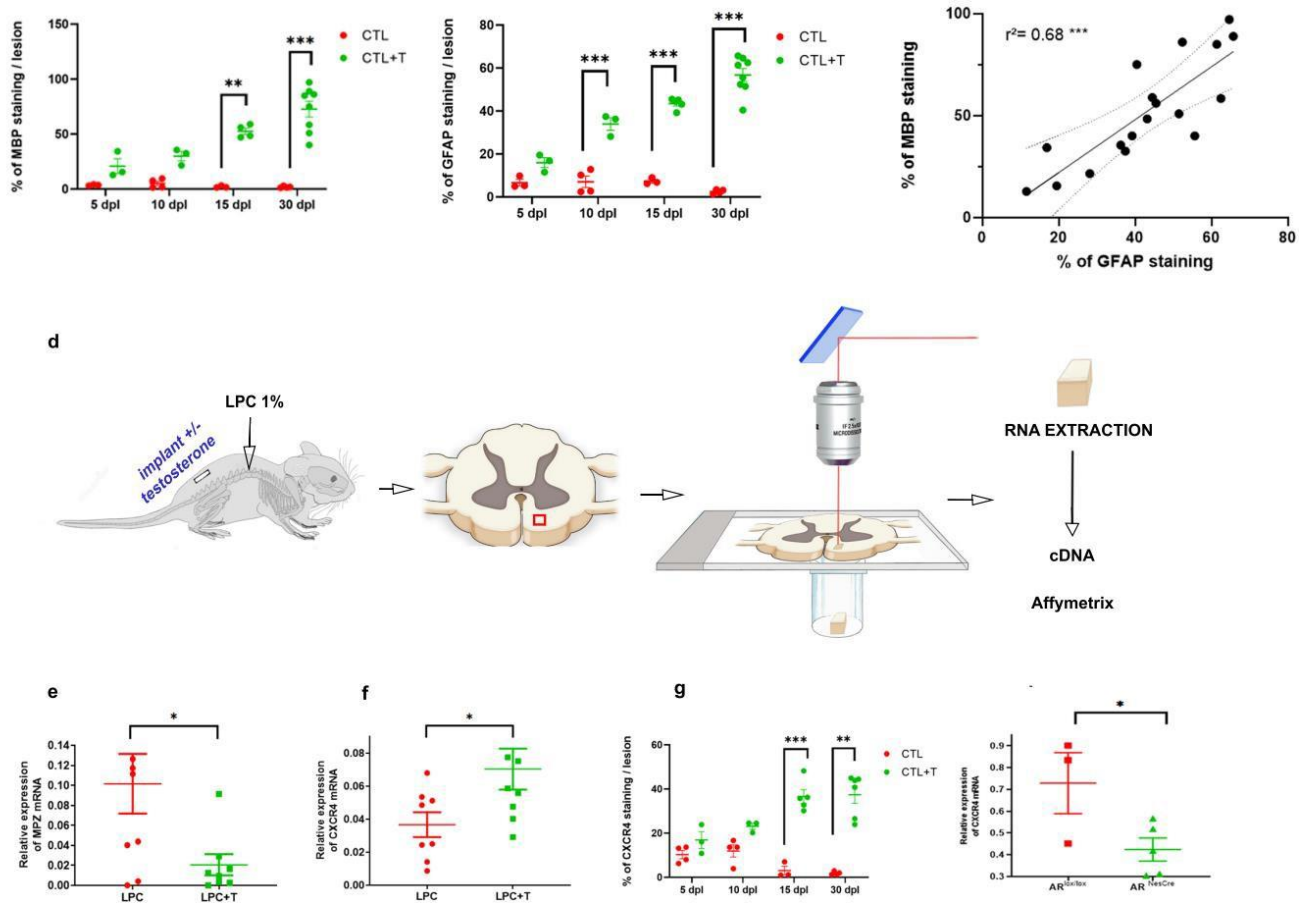
## References

1. Simons, M. & Nave, K.A. Oligodendrocytes: Myelination and axonal support. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8, a020479 (2015).
2. Franklin, R.J.M., Frisén, J. & Lyons, D.A. Revisiting remyelination: Towards a consensus on the regeneration of CNS myelin. *Semin Cell Dev Biol* 116, 3-9 (2021).
3. Plemel, J.R., Liu, W.Q. & Yong, V.W. Remyelination therapies: a new direction and challenge in multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov* 16, 617-634 (2017).
4. Bezukladova, S., Genchi, A., Panina-Bordignon, P. & Martino, G. Promoting exogenous repair in multiple sclerosis: myelin regeneration. *Curr Opin Neurol* 35, 313-318 (2022).
5. Safarinejad, M.R. Evaluation of endocrine profile, hypothalamic-pituitary-testis axis and semen quality in multiple sclerosis. *J Neuroendocrinol* 20, 1368-1375 (2008).
6. Bove, R., et al. Low testosterone is associated with disability in men with multiple sclerosis. *Mult Scler* 20, 1584-1592 (2014).
7. Pakpoor, J., Goldacre, R., Schmierer, K., Giovannoni, G. & Goldacre, M.J. Testicular hypofunction and multiple sclerosis: Cause or consequence? Reply. *Ann Neurol* 76, 765-766 (2014).
8. Giatti, S., et al. Acute experimental autoimmune encephalomyelitis induces sex dimorphic changes in neuroactive steroid levels. *Neurochem Int* 56, 118-127 (2010).
9. Milosevic, A., et al. Testicular steroidogenesis is suppressed during experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *Sci Rep* 11, 8996 (2021).
10. Patel, J.R., McCandless, E.E., Dorsey, D. & Klein, R.S. CXCR4 promotes differentiation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 11062-11067 (2010).

11. Carbajal, K.S., Miranda, J.L., Tsukamoto, M.R. & Lane, T.E. CXCR4 signaling regulates remyelination by endogenous oligodendrocyte progenitor cells in a viral model of demyelination. *Glia* 59, 1813-1821 (2011).
12. Chu, T., et al. CXCL12/CXCR4/CXCR7 Chemokine Axis in the Central Nervous System: Therapeutic Targets for Remyelination in Demyelinating Diseases. *Neuroscientist* 23, 627-648 (2017).
13. Chu, T., et al. Dynamic response of microglia/macrophage polarization following demyelination in mice. *J Neuroinflammation* 16, 188 (2019).
14. Miller, R.H.F.-M., S.; Caprariello, A.C. Animal models for the study of multiple sclerosis. in *Animal models for the study of human diseases* (ed. M.P. Conn) 967-988 (Elsevier, 2017).
15. Bielecki, B., et al. Unexpected central role of the androgen receptor in the spontaneous regeneration of myelin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113, 14829-14834 (2016).
16. Hussain, R., et al. The neural androgen receptor: a therapeutic target for myelin repair in chronic demyelination. *Brain* 136, 132-146 (2013).
17. Abi Ghanem, C., et al. Long-lasting masculinizing effects of postnatal androgens on myelin governed by the brain androgen receptor. *PLoS Genet* 13, e1007049 (2017).
18. Laouarem, Y., et al. Functional cooperation of the hedgehog and androgen signaling pathways during developmental and repairing myelination. *Glia* 69, 1369-1392 (2021).
19. Breza, M. & Koutsis, G. Kennedy's disease (spinal and bulbar muscular atrophy): a clinically oriented review of a rare disease. *J Neurol* 266, 565-573 (2019).
20. Negro, S., et al. CXCL12 $\alpha$ /SDF-1 from perisynaptic Schwann cells promotes regeneration of injured motor axon terminals. *EMBO Mol Med* 9, 1000-1010 (2017).
21. Rawji, K.S., Gonzalez Martinez, G.A., Sharma, A. & Franklin, R.J.M. The Role of Astrocytes in Remyelination. *Trends Neurosci* 43, 596-607 (2020).
22. Gorter, R.P. & Baron, W. Recent insights into astrocytes as therapeutic targets for demyelinating diseases. *Curr Opin Pharmacol* 65, 102261 (2022).
23. Court, F.A. & Coleman, M.P. Mitochondria as a central sensor for axonal degenerative stimuli. *Trends Neurosci* 35, 364-372 (2012).
24. Mallon, B.S., Shick, H.E., Kidd, G.J. & Macklin, W.B. Proteolipid promoter activity distinguishes two populations of NG2-positive cells throughout neonatal cortical development. *J.Neurosci.* 22, 876-885 (2002).
25. Maysami, S., et al. Modulation of rat oligodendrocyte precursor cells by the chemokine CXCL12. *Neuroreport* 17, 1187-1190 (2006).
26. Banisadr, G., et al. The role of CXCR4 signaling in the migration of transplanted oligodendrocyte progenitors into the cerebral white matter. *Neurobiol Dis* 44, 19-27 (2011).
27. Patel, J.R., et al. Astrocyte TNFR2 is required for CXCL12-mediated regulation of oligodendrocyte progenitor proliferation and differentiation within the adult CNS. *Acta Neuropathol* 124, 847-860 (2012).
28. Birgbauer, E., Rao, T.S. & Webb, M. Lysolecithin induces demyelination in vitro in a cerebellar slice culture system. *J.Neurosci.Res.* 78, 157-166 (2004).
29. Hussain, R., et al. Progesterone and nestorone facilitate axon remyelination: a role for progesterone receptors. *Endocrinology* 152, 3820-3831 (2011).
30. Balabanian, K., et al. Proper desensitization of CXCR4 is required for lymphocyte development and peripheral compartmentalization in mice. *Blood* 119, 5722-5730 (2012).
31. Woodruff, R.H. & Franklin, R.J. Demyelination and remyelination of the caudal cerebellar peduncle of adult rats following stereotaxic injections of lysolecithin, ethidium bromide, and complement/anti-galactocerebroside: a comparative study. *Glia* 25, 216-228 (1999).
32. Talbott, J.F., et al. Endogenous Nkx2.2+/Olig2+ oligodendrocyte precursor cells fail to remyelinate the demyelinated adult rat spinal cord in the absence of astrocytes. *Exp.Neurol.* 192, 11-24 (2005).
33. Kingsbury, A.E., et al. Tissue pH as an indicator of mRNA preservation in human post-mortem brain. *Brain Res Mol Brain Res* 28, 311-318 (1995).
34. Voskuhl, R.R. & Gold, S.M. Sex-related factors in multiple sclerosis susceptibility and progression. *Nat Rev Neurol* 8, 255-263 (2012).
35. Gold, S.M. & Voskuhl, R.R. Estrogen and testosterone therapies in multiple sclerosis. *Prog Brain Res* 175, 239-251 (2009).

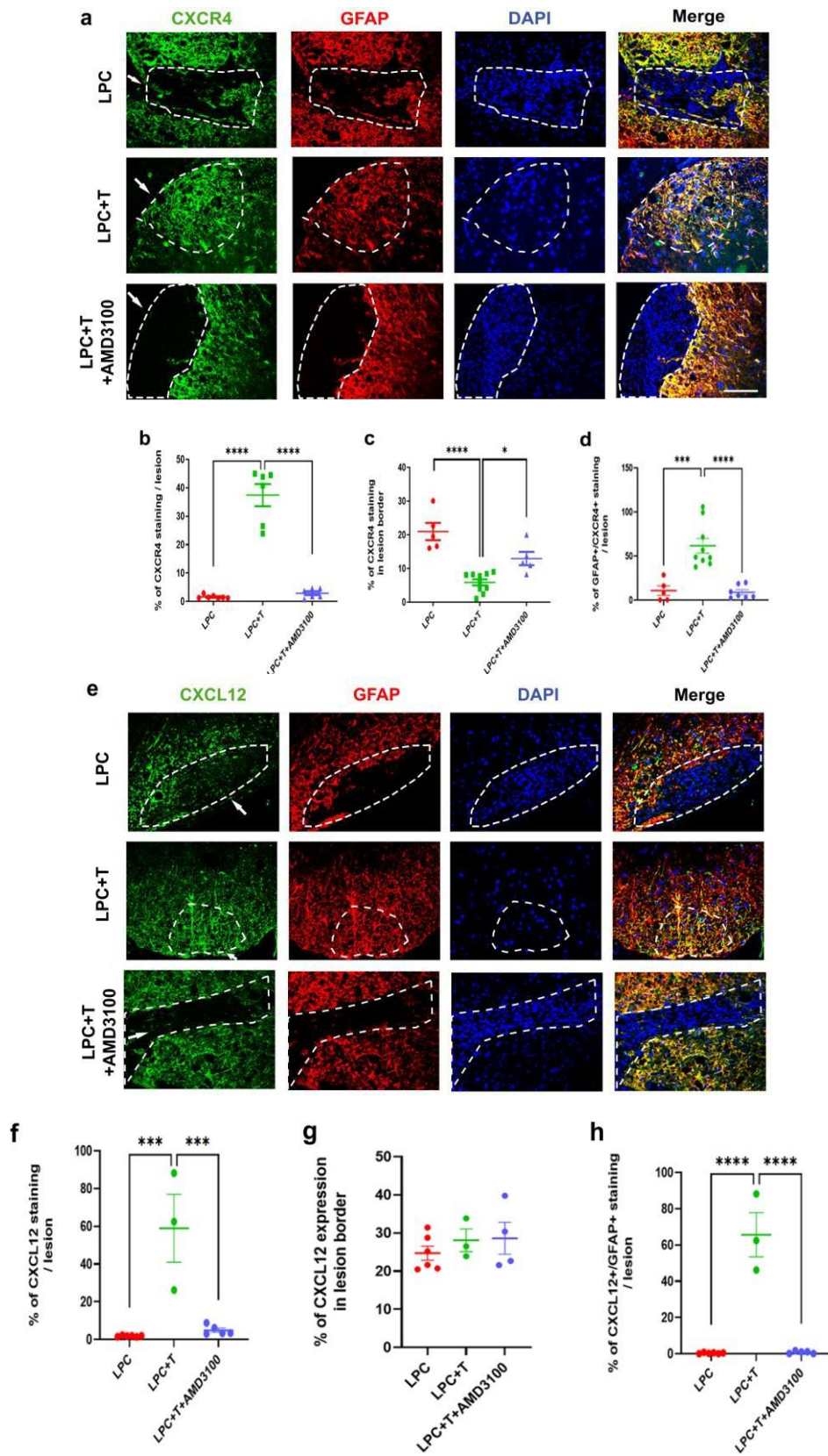
36. Sicotte, N.L., et al. Testosterone treatment in multiple sclerosis: a pilot study. *Arch.Neurol* 64, 683-688 (2007).
37. Kurth, F., et al. Neuroprotective effects of testosterone treatment in men with multiple sclerosis. *Neuroimage Clin* 4, 454-460 (2014).
38. Franklin, R.J. & Ffrench-Constant, C. Remyelination in the CNS: from biology to therapy. *Nat Rev Neurosci* 9, 839-855 (2008).
39. Carbajal, K.S., Schaumburg, C., Strieter, R., Kane, J. & Lane, T.E. Migration of engrafted neural stem cells is mediated by CXCL12 signaling through CXCR4 in a viral model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 11068-11073 (2010).
40. Zilkha-Falb, R., Kaushansky, N., Kawakami, N. & Ben-Nun, A. Post-CNS-inflammation expression of CXCL12 promotes the endogenous myelin/neuronal repair capacity following spontaneous recovery from multiple sclerosis-like disease. *J Neuroinflammation* 13, 7 (2016).
41. Schirmer, L., et al. Differential loss of KIR4.1 immunoreactivity in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 75, 810-828 (2014).
42. Talbott, J.F., et al. Schwann cell-like differentiation by adult oligodendrocyte precursor cells following engraftment into the demyelinated spinal cord is BMP-dependent. *Glia* 54, 147-159 (2006).
43. Monteiro de Castro, G., Deja, N.A., Ma, D., Zhao, C. & Franklin, R.J. Astrocyte Activation via Stat3 Signaling Determines the Balance of Oligodendrocyte versus Schwann Cell Remyelination. *Am J Pathol* 185, 2431-2440 (2015).
44. Franklin, R.J. & Blakemore, W.F. Requirements for Schwann cell migration within CNS environments: a viewpoint. *Int J Dev Neurosci* 11, 641-649 (1993).
45. Luchetti, S., et al. Gender differences in multiple sclerosis: induction of estrogen signaling in male and progesterone signaling in female lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 73, 123-135 (2014).
46. Caliber, M. & Saad, F. Testosterone Therapy for Prevention and Treatment of Obesity in Men. *Androgens: Clinical Research and Therapeutics* 1, 40-61 (2020).
47. Morgentaler, A. & Traish, A. The History of Testosterone and the Evolution of its Therapeutic Potential. *Sex Med Rev* 8, 286-296 (2020).
48. Lasrado, N., et al. Mechanisms of sex hormones in autoimmunity: focus on EAE. *Biol Sex Differ* 11, 50 (2020).
49. Meiron, M., Zohar, Y., Anunu, R., Wildbaum, G. & Karin, N. CXCL12 (SDF-1alpha) suppresses ongoing experimental autoimmune encephalomyelitis by selecting antigen-specific regulatory T cells. *J Exp Med* 205, 2643-2655 (2008).
50. Janssens, R., Struyf, S. & Proost, P. Pathological roles of the homeostatic chemokine CXCL12. *Cytokine Growth Factor Rev* 44, 51-68 (2018).
51. Raskin, K., et al. Conditional inactivation of androgen receptor gene in the nervous system: effects on male behavioral and neuroendocrine responses. *J.Neurosci.* 29, 4461-4470 (2009).
52. Balabanian, K., et al. WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood* 105, 2449-2457 (2005).
53. Ghomari, A.M., Baulieu, E.E. & Schumacher, M. Progesterone increases oligodendroglial cell proliferation in rat cerebellar slice cultures. *Neuroscience* 135, 47-58 (2005).

**Figure 1:**



**Figure 1: Upregulation of CXCR4 mRNA and downregulation of MPZ mRNA by T in microdissected LPC lesions.** **a,b**, Immunostaining of MBP (**a**) and GFAP (**b**) in the LPC demyelinated lesion at 5, 10, 15 and 30 days post-lesion (dpl). Adult castrated male mice received a subcutaneous (s.c.) Silastic implant, empty (CTL, control) or filled with testosterone (T). CTL indicates LPC and CTL+T indicates LPC+T. Data are presented as mean  $\pm$  s.e.m. (two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). **c**, Positive correlation between MBP and GFAP staining within the LPC lesion (Pearson's  $r = 0.68$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). **d**, LPC-induced demyelination and laser microdissection of the lesion area on spinal cord sections (red square) followed by Affymetrix ChIP analysis. **e,f**, Relative expression of two candidate genes, CXCR4 (**e**) and MPZ (**f**), assessed by qRT-PCR on RNA from LPC-demyelinated area at 5 dpl. Castrated males were treated with an empty (LPC) or T-filled (LPC+T) implant. Data are presented as mean  $\pm$  s.e.m. (two-tailed unpaired Student's t-test). **g**, Immunostaining of CXCR4 in the LPC demyelinated lesion at 5, 10, 15 and 30 dpl. Castrated males were treated with an empty (LPC) or T-filled (LPC+T) implant. Data are presented as mean  $\pm$  s.e.m. (two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). **h**, Relative expression of CXCR4, assessed by qRT-PCR on RNA extracted from the spinal cord of AR<sup>Lox/Lox</sup> and AR<sup>NesCre</sup> male mice. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (two-tailed unpaired Student's t-test). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P < 0.001$ , \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$ .

Figure 2:

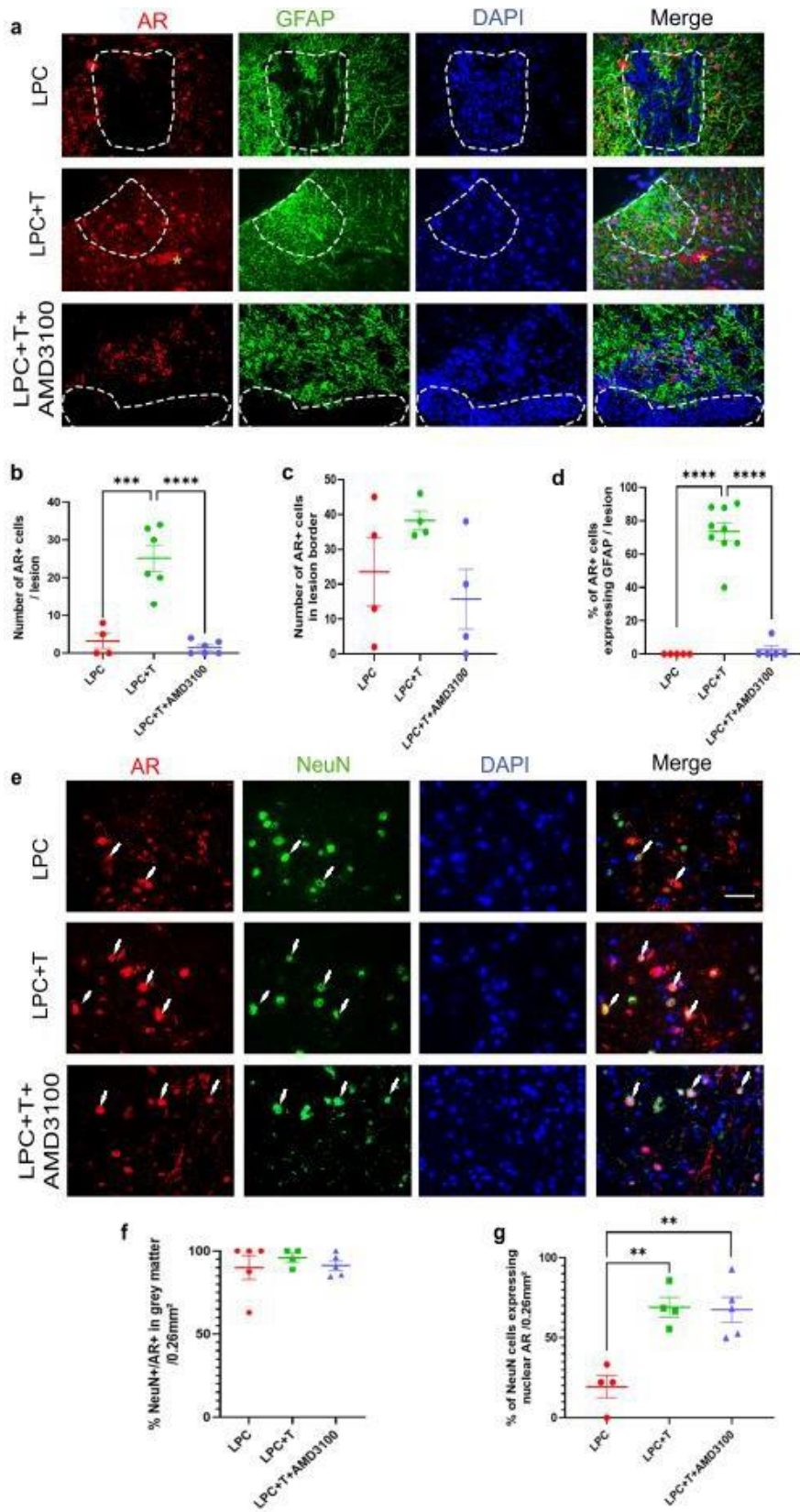


**Figure 2: Chemokine receptor CXCR4 and its ligand CXCL12 are expressed by astrocytes.**

**a-d**, Double labeling of CXCR4 and GFAP on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, CXCR4 and GFAP staining were very low in males receiving an empty implant (LPC), but high levels of CXCR4 and GFAP colocalized in males receiving an implant filled with T (LPC+T) (**a,b,d**). AMD3100 blocked the T-dependent appearance and colocalization of CXCR4 and GFAP inside the lesion. The arrival of CXCR4<sup>+</sup> astrocytes in the lesion coincided with their reduction at the borders (**c**). **e-h**, Double labeling of CXCL12 and GFAP on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. CXCL12 and GFAP staining were very low in control males (LPC), but elevated in males receiving an implant filled with T (LPC+T) (**e,f,h**). AMD3100 blocked the T-dependent appearance and colocalization of CXCL12 and GFAP inside the lesion. The arrival of CXCL12<sup>+</sup> astrocytes in the lesion was not accompanied by a reduction in CXCL12 staining at the borders (**g**). Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P < 0.001$ , \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$ . Scale bars: 20  $\mu$ m.



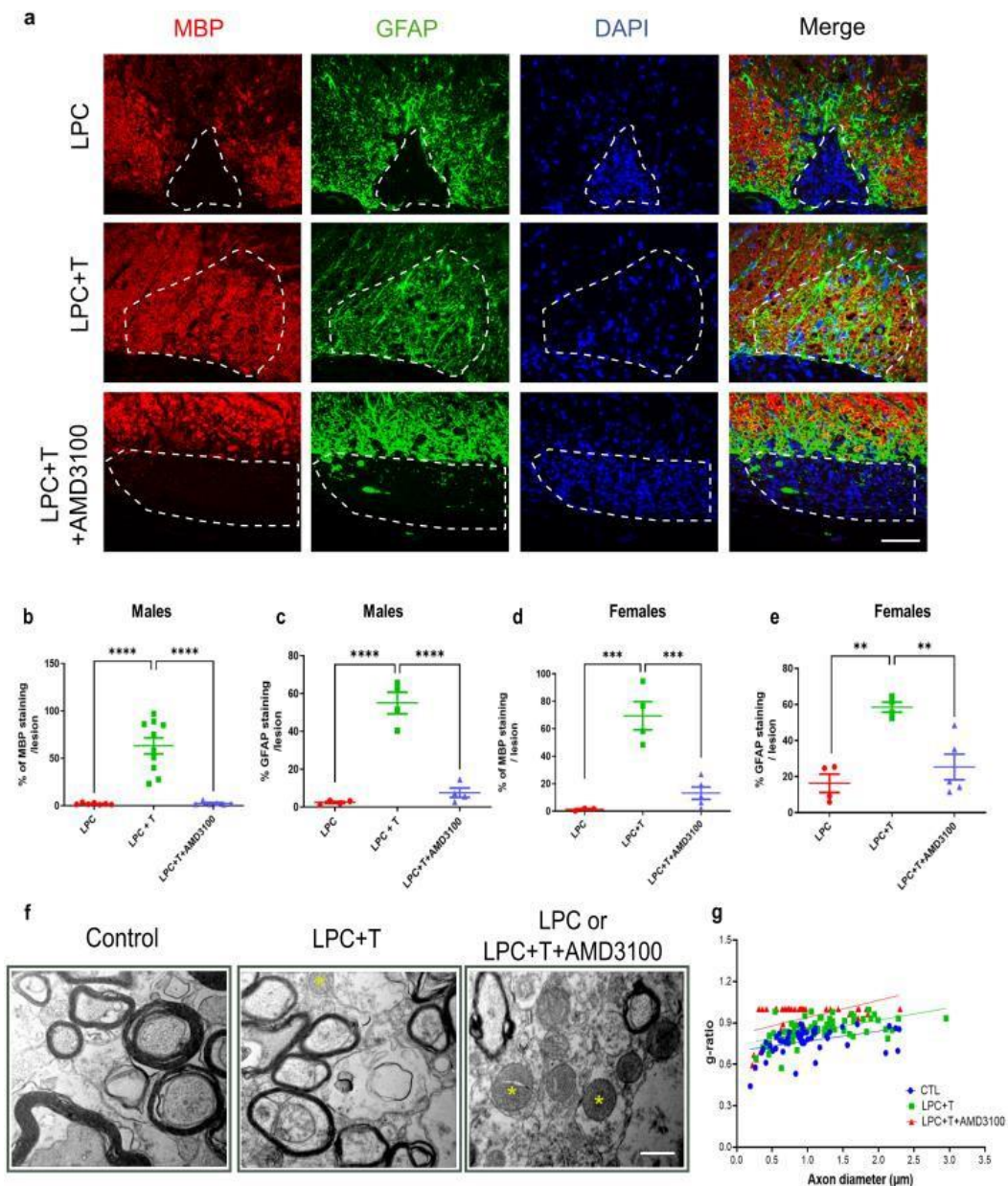
Figure 3:



**Figure. 3: Androgen receptor (AR) expression. a-d**, Double labeling of AR and GFAP on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, AR and GFAP staining were very low in males receiving an empty implant (LPC), but AR and GFAP colocalized in males receiving an implant filled with T (LPC+T) (**a,b,d**). AMD3100 blocked the T-dependent colocalization of AR and GFAP inside the lesion. AR immunostaining remained present around the lesion after the migration of AR<sup>+</sup> astrocytes in the lesion (**c**). **e-g**, Colocalization of AR and NeuN<sup>+</sup>, marking spinal motoneurons. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. AR immunostaining in neurons was not affected by treatment with T and AMD3100 (**f**). However, T treatment was associated with the translocation of neuronal AR into the nucleus and the appearance of nuclear AR immunostaining was not prevented by AMD3100 (**g**). Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05. Scale bars: 20  $\mu$ m (**a**) and 10  $\mu$ m (**e**).

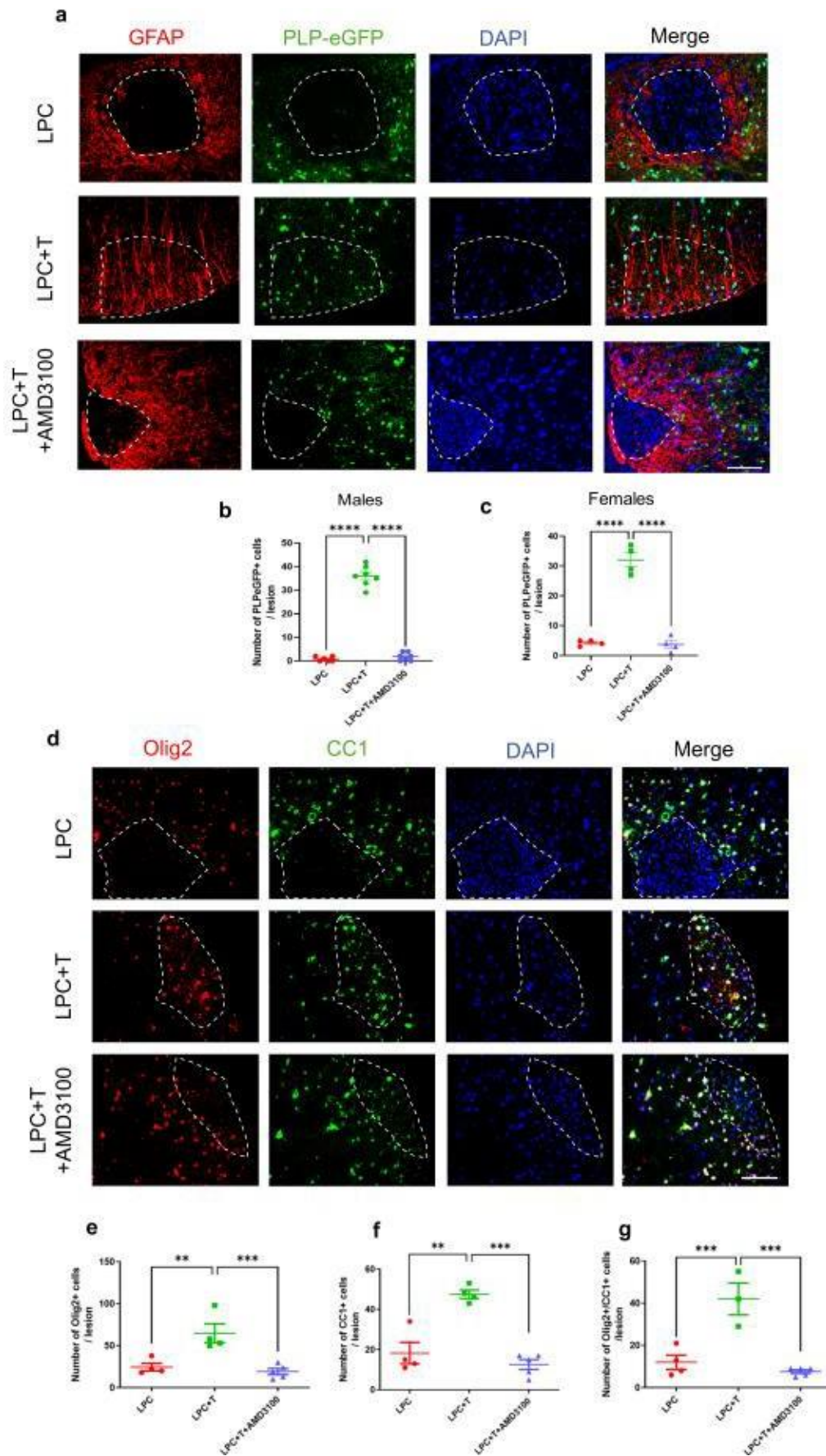


**Figure 4:**



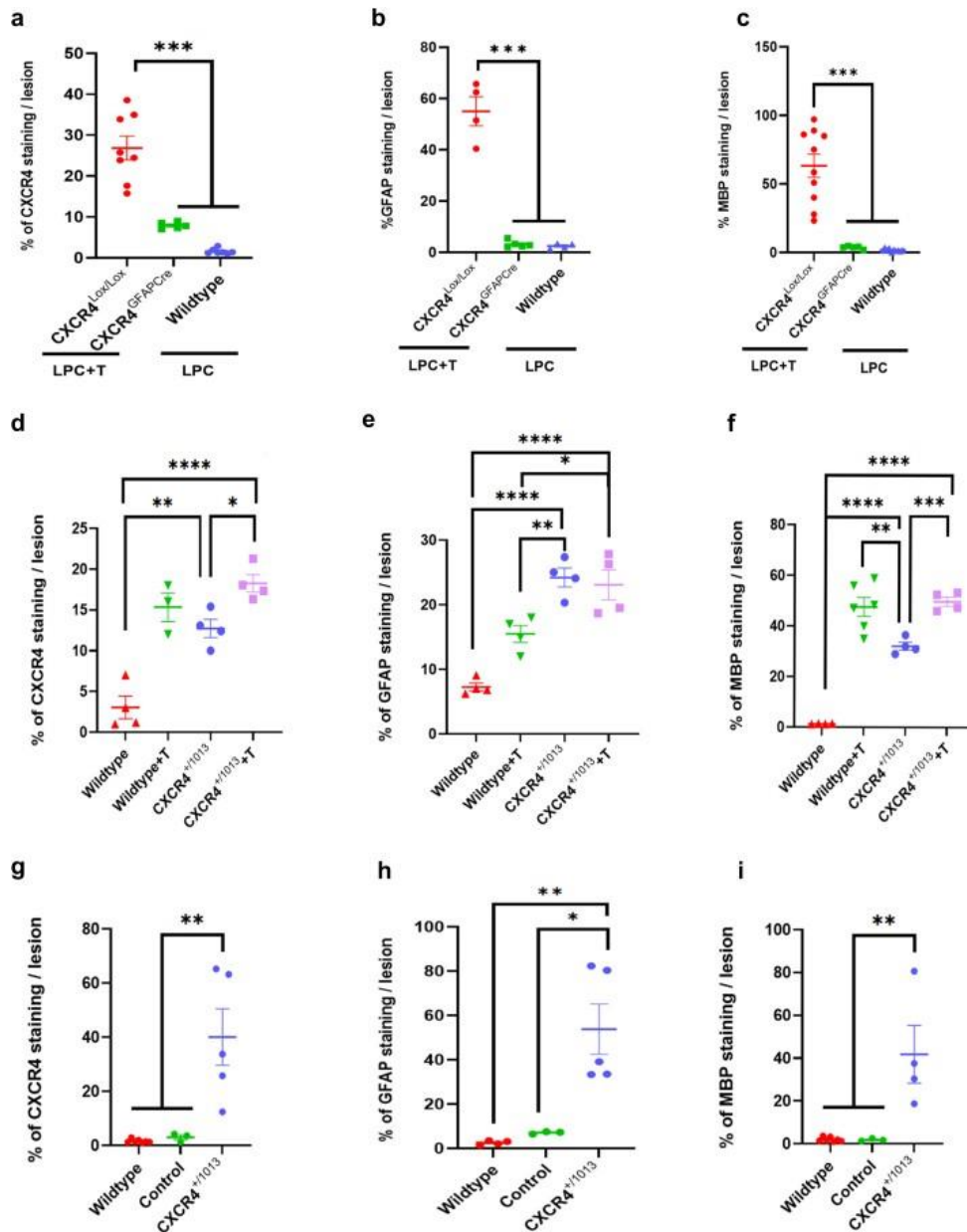
**Figure 4: Inhibition of CXCR4 blocks T-dependent remyelination a-c**, Double labeling of MBP and GFAP on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, both MBP (**a,b**) and GFAP (**a,c**) staining were nearly absent in males receiving an empty implant (LPC), but MBP and GFAP co-occurred in males receiving an implant filled with T (LPC+T). AMD3100 blocked the T-dependent colocalization of MBP and GFAP inside the lesion (LPC+T+AMD3100). **d,e**, T also restored MBP (**d**) and GFAP (**e**) immunostaining within the LPC lesion of ovariectomized females, and its effect was inhibited by AMD3100. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P < 0.001$ , \*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$ . Scale bar: 20  $\mu\text{m}$ . **f**, Electron microscopy images of axons and their myelin sheaths within the ventral spinal white matter of gonadally intact males (Control, left), or within the LPC lesion at 30 dpl of castrated males treated with T (middle) or T+AMD3100 (right). Yellow stars indicate mitochondria inside axons. Scale bar: 0.5  $\mu\text{m}$ . **g**, Correlations between g-ratios and axon diameters in control males (blue) and within the LPC lesion of castrated males treated with T (green) or T+AMD3100 (red).

Figure 5:



**Figure 5: Inhibition of CXCR4 blocks T-dependent recruitment and differentiation of oligodendroglial cells.** **a,b**, Double labeling of GFAP (astrocytes) and eGFP (oligodendroglial cells) on spinal cord cross sections of castrated P1p-eGFP male mice at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, both GFAP and eGFP staining were absent in males receiving an empty implant (LPC), but in males treated with T, (LPC+T) GFAP<sup>+</sup> astrocytic processes crossed the lesion, and eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells were aligned along them. AMD3100 blocked the T-dependent presence of GFAP immunostaining and eGFP<sup>+</sup> cells inside the lesion. **c**, T also induced the presence of GFAP immunostaining and eGFP<sup>+</sup> cells within the LPC lesion of ovariectomized females, and its effect was inhibited by AMD3100. **d-f**, Immunostaining of Olig2 (oligodendroglial cells) and CC1 (mature oligodendrocytes) on spinal cord cross sections of castrated male mice at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, both Olig2<sup>+</sup> and CC1<sup>+</sup> cells were scarce in males receiving an empty implant (LPC), but in males treated with T (LPC+T), they were abundant. The T-dependent recruitment of Olig2<sup>+</sup> and CC1<sup>+</sup> cells within the lesion was blocked by AMD3100. **g**, Most of the Olig2<sup>+</sup> cells were mature oligodendrocytes coexpressing CC1 at 30 dpl. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05. Scale bar: 20  $\mu$ m.

**Figure 6**

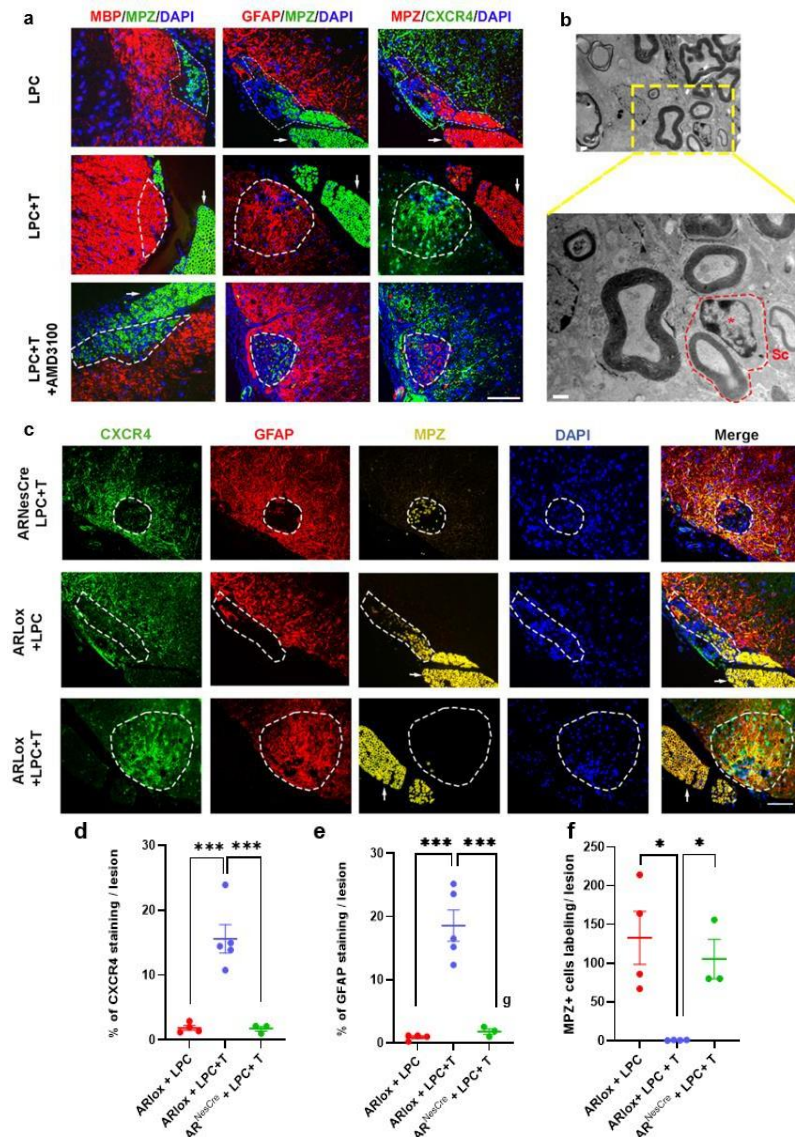


**Figure 6: Ablation of CXCR4 in astrocytes and CXCR4 gain of function**

**a-c**, CXCR4 (**a**), GFAP (**b**) and MBP (**c**) immunostaining were quantified within the LPC lesion at 30 dpl of castrated male CXCR4<sup>GFAPCre</sup> (inactivation of CXCR4 in astrocytes), CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> (exon 2 LoxP-flanked) and unfloxed wildtype mice. CXCR4<sup>GFAPCre</sup> and CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> mice were treated during 4 weeks with a T-filled implant, whereas the wildtypes received an empty implant. **d-f**, CXCR4 (**d**), GFAP (**e**) and MBP (**f**) immunostaining were quantified within the LPC lesion at 15 dpl of castrated male CXCR4<sup>+1013</sup> mice (heterozygous CXCR4 gain of function mutation) and wildtype mice receiving an empty or T filled implant. **g-i**, CXCR4 (**g**), GFAP (**h**) and MBP (**i**) immunostaining were quantified within the LPC lesion at 30 dpl of castrated male wildtype mice, CXCR4<sup>+1013</sup> mice and the corresponding littermate control mice. All castrated males received an empty implant. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05.

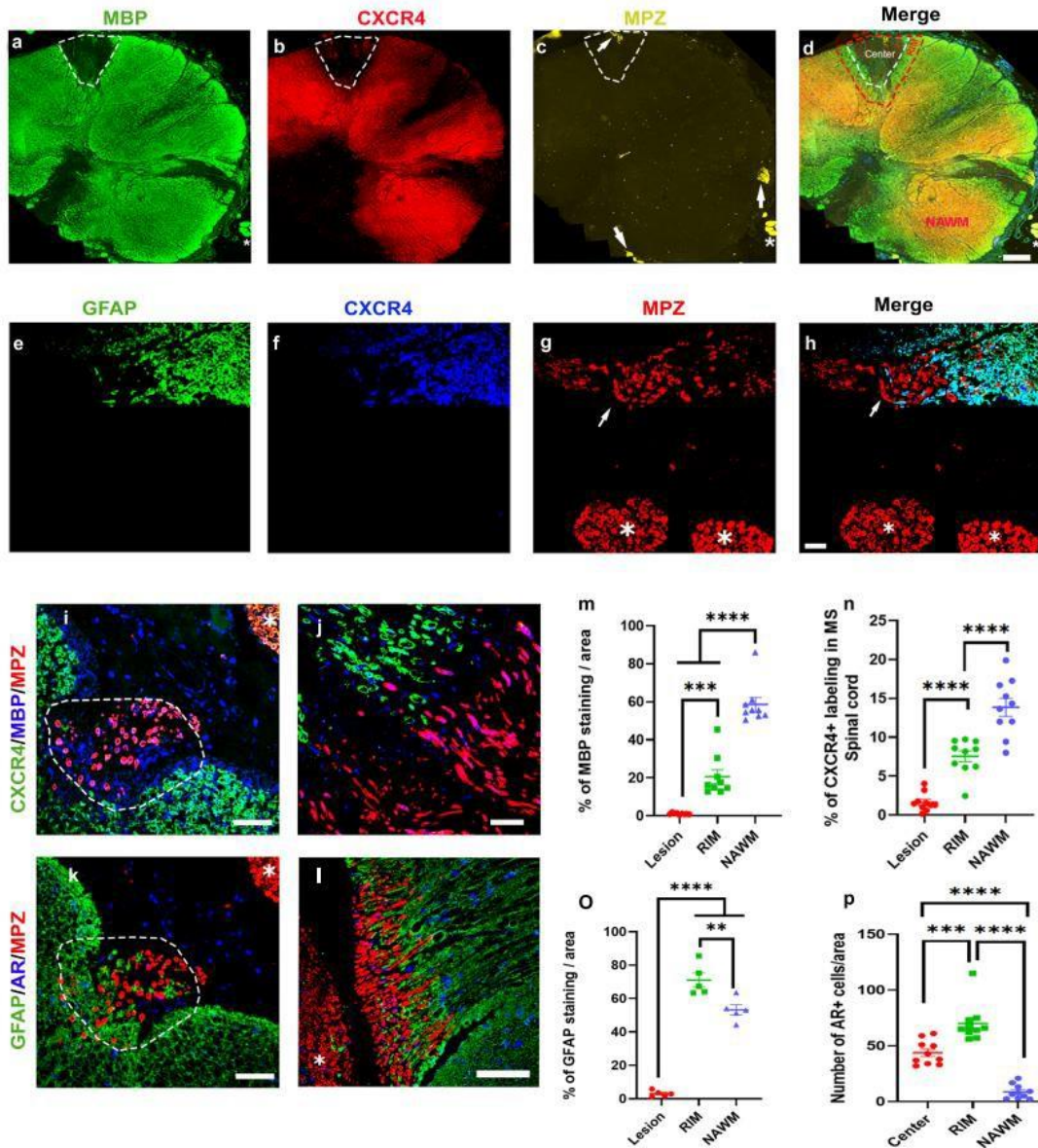


**Figure 7**



**Figure 7: Schwann cell remyelination takes place in the absence of CXCR4 or AR signaling.** **a**, MPZ/MBP (left), MPZ/GFAP (middle) and MPZ/CXCR4 (right) double-labeling on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. The LPC lesion is delimited by a dotted line. MPZ<sup>+</sup> Schwann cells, most likely originating from the ventral spinal roots (indicated by arrows) invaded the lesion only in the absence of MBP, GFAP or CXCR4 immunostaining, which means in the absence of T (empty implant) or CXCR4 signaling (AMD3100). Scale bar: 20  $\mu$ m. Electron microscopy image (**b**) and its enlargement (**c**) showing that in the absence of T, axons are remyelinated by Schwann cells (Sc), characterized by a large nucleus close to the myelin sheaths (indicated by a star). **d-g**, CXCR4, GFAP, and MPZ immunostaining of spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. AR<sup>NesCre</sup> mice with CNS-selective ablation of AR and control AR<sup>Lox/Lox</sup> mice were used. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. The LPC lesion is delimited by a dotted line. MPZ<sup>+</sup> Schwann cells, most likely originating from the ventral spinal roots (indicated by arrows), invaded the lesion only in the absence of CXCR4 and GFAP immunostaining (AR<sup>Lox/Lox</sup> mice receiving an empty implant or AR<sup>NesCre</sup> mice receiving a T implant), but were excluded from the lesion in their presence (AR<sup>Lox/Lox</sup> mice receiving T implant). Scale bar: 20  $\mu$ m. **e-g**, Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05.

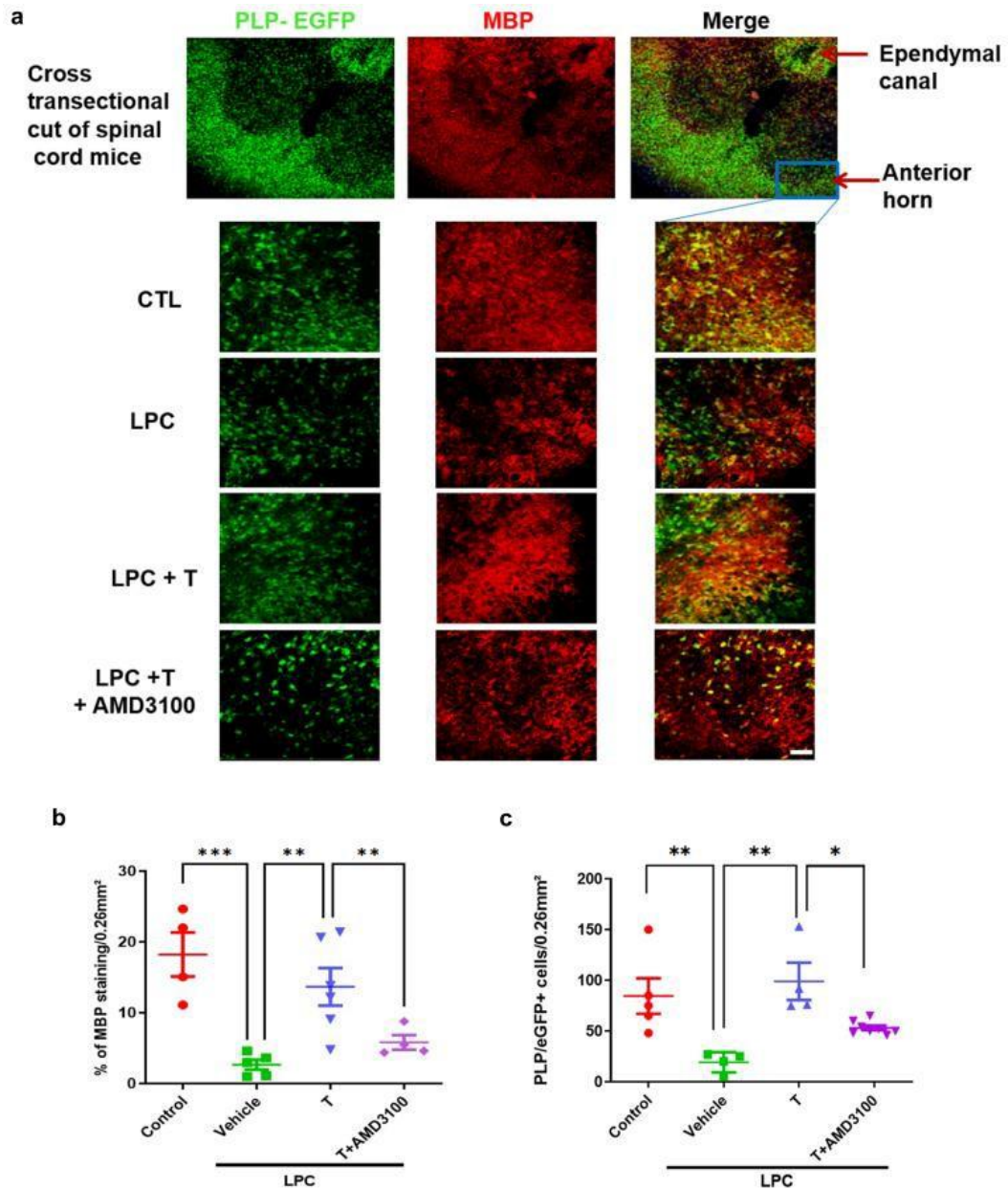
**Figure 8**



**Figure 8: Astrocytes, AR and CXCR4 are highly expressed in border of human white matter MS lesions.** a-d, Coronal section of the thoracic spinal cord from a female MS patient with 3 mixed active/inactive (chronic active) lesions were immunostained for MBP (green), CXCR4 (red) and MPZ (yellow). The center and rim of the lesions are delimited by dotted lines. NAWM = Normal Appearing White Matter. Scale bar: 1 mm. e-h, Enlarged image of a lesion rim immunostained for GFAP (green), CXCR4 (blue) and MPZ (red). GFAP and CXCR4 colocalized, indicating CXCR4 expressing astrocytes, and their immunostaining never overlapped with the Schwann cell marker MPZ (arrows). The MPZ<sup>+</sup> Schwann cells most likely originated from nearby spinal nerve roots (indicated by stars). Scale bar: 30  $\mu$ m. i, j, Enlarged view of the colocalization of CXCR4 and MBP at the RIM, which was excluded of MPZ<sup>+</sup> immunostaining. Scale bar: 50  $\mu$ m. k, l, GFAP and AR immunostaining colocalized and were exclusive to MPZ<sup>+</sup> Schwann cells, most likely originating from nearby spinal nerve roots (star). Scale bar: 50  $\mu$ m. m-p, Quantification of MBP (m), CXCR4 (n) and GFAP (o) immunostaining and counting of AR<sup>+</sup> cells (p) within the lesion center, lesion rim and NAWM of the MS lesions identified on spinal cord sections from the 10 MS patients (5 men and 5 women). Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05.



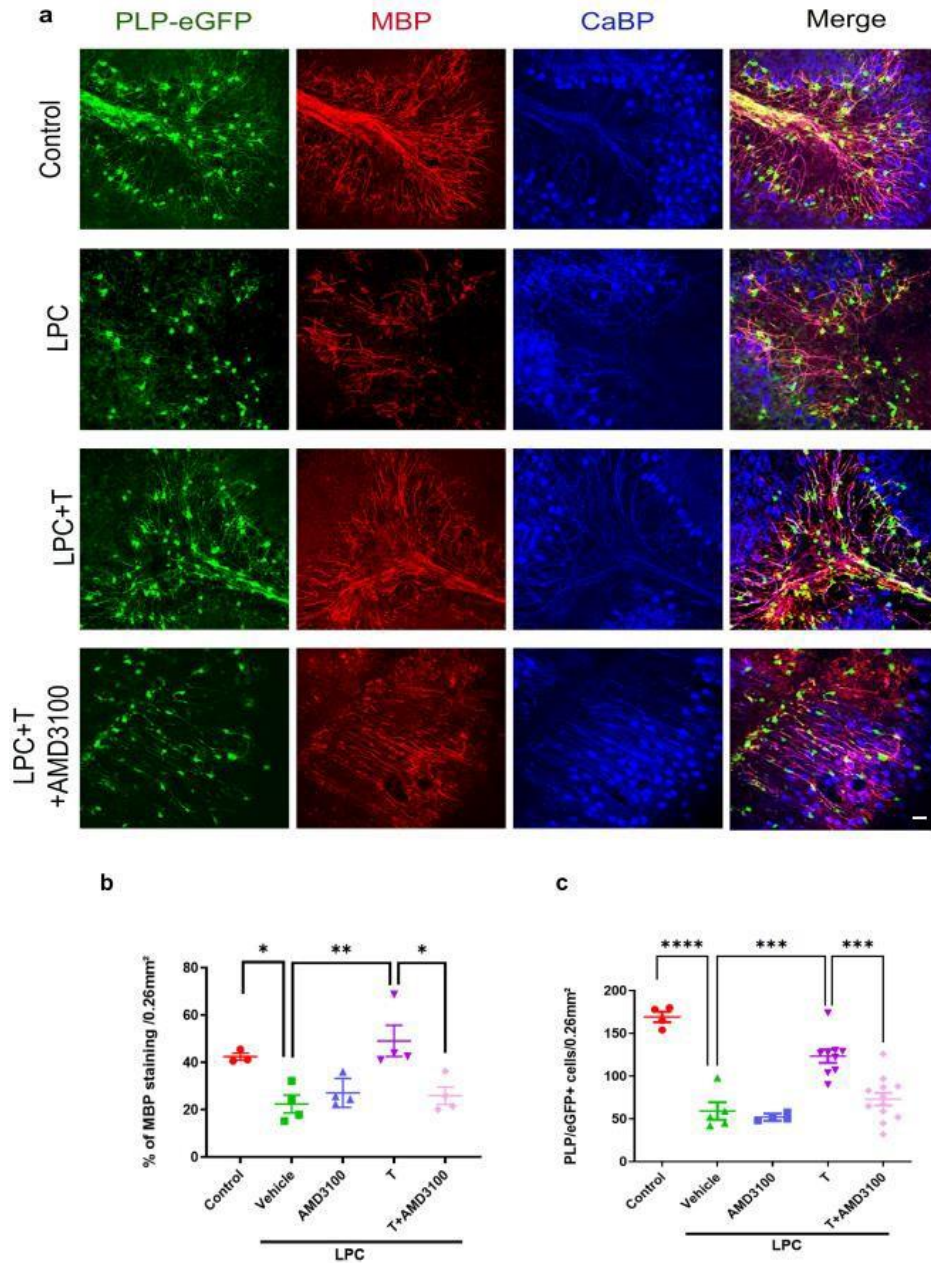
## Supplementary data 1



**Inhibition of CXCR4 blocks T-dependent remyelination in organotypic spinal cord cultures. a,** Organotypic cultures of coronal spinal cord slices from postnatal 10 (P10) PLP-eGFP mice. They were double-stained for eGFP (oligodendroglial cells) and MBP (CNS myelin). The blue square indicates the area analyzed for the different treatments. Control (CTL) slices were only exposed to vehicle (0.1% ethanol). Treated slices were exposed to 0.5 mg/ml LPC for 17-18 hrs to cause their demyelination. They were then treated with vehicle, T (1  $\mu$ M) or T + AMD3100 (5  $\mu$ M) during 5 days. The density of MBP immunostaining and of eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells were quantified. **a,b,** Slices treated with vehicle or AMD3100 alone remained largely demyelinated. T restored MBP<sup>+</sup> myelin, and its remyelinating effect was inhibited by AMD3100. **a,c,** Slices treated with vehicle remained largely depleted of eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells. T treatment replenished eGFP<sup>+</sup> cells, and its effect was again inhibited by AMD3100. Data are presented as mean  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05. Scale bar: 20

µm.

## Supplementary Figure 2

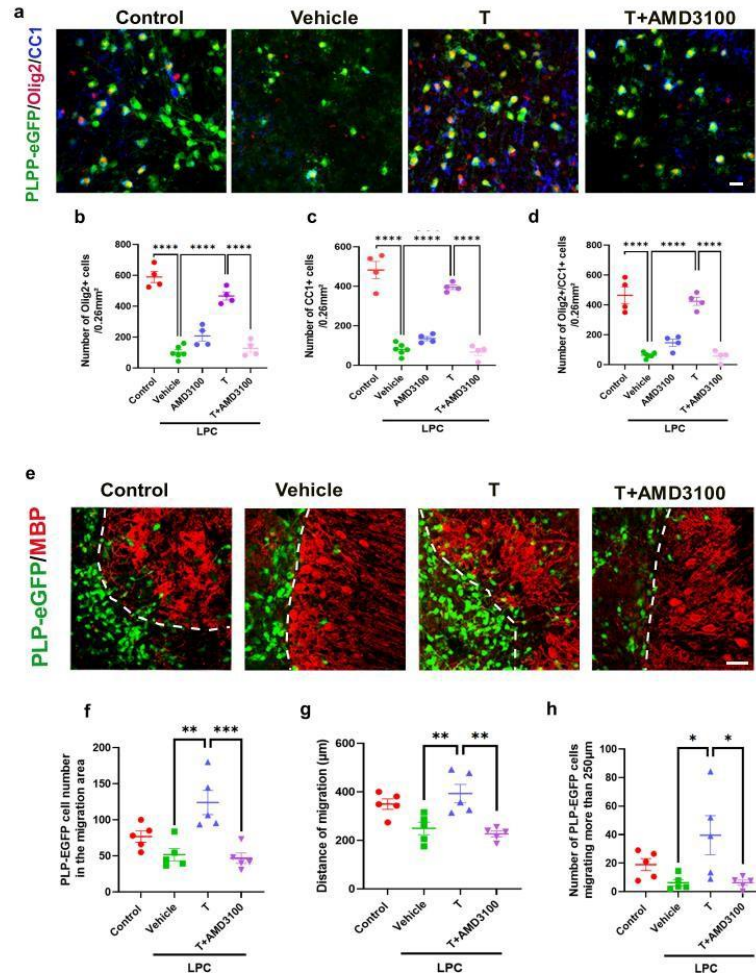


**Inhibition of CXCR4 blocks T-dependent remyelination in organotypic cultures of cerebellar slices.** **a**, Organotypic cultures of sagittal cerebellar slices from postnatal 10 (P10) PLP-eGFP mice. They were triple-stained for eGFP (oligodendroglial cells), MBP (CNS myelin) and calbindin (Purkinje neurons). Control (CTL) slices were only exposed to vehicle (0.1% ethanol). Treated slices were exposed to 0.5 mg/ml LPC for 17-18 hrs to cause their demyelination. They were then treated with vehicle, T (1 µM) or T + AMD3100 (5 µM) during 5 days. The density of MBP immunostaining and of eGFP+ oligodendroglial cells were quantified. **a-c**, Slices treated with vehicle or AMD3100 alone remained largely demyelinated (**b**) depleted of eGFP+ oligodendroglial cells (**c**). T treatment restored MBP+ myelin and replenished eGFP+ cells. The effects of T were inhibited by AMD3100. Data are



presented as mean  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05. Scale bar: 20  $\mu$ m.

### Supplementary Figure 3

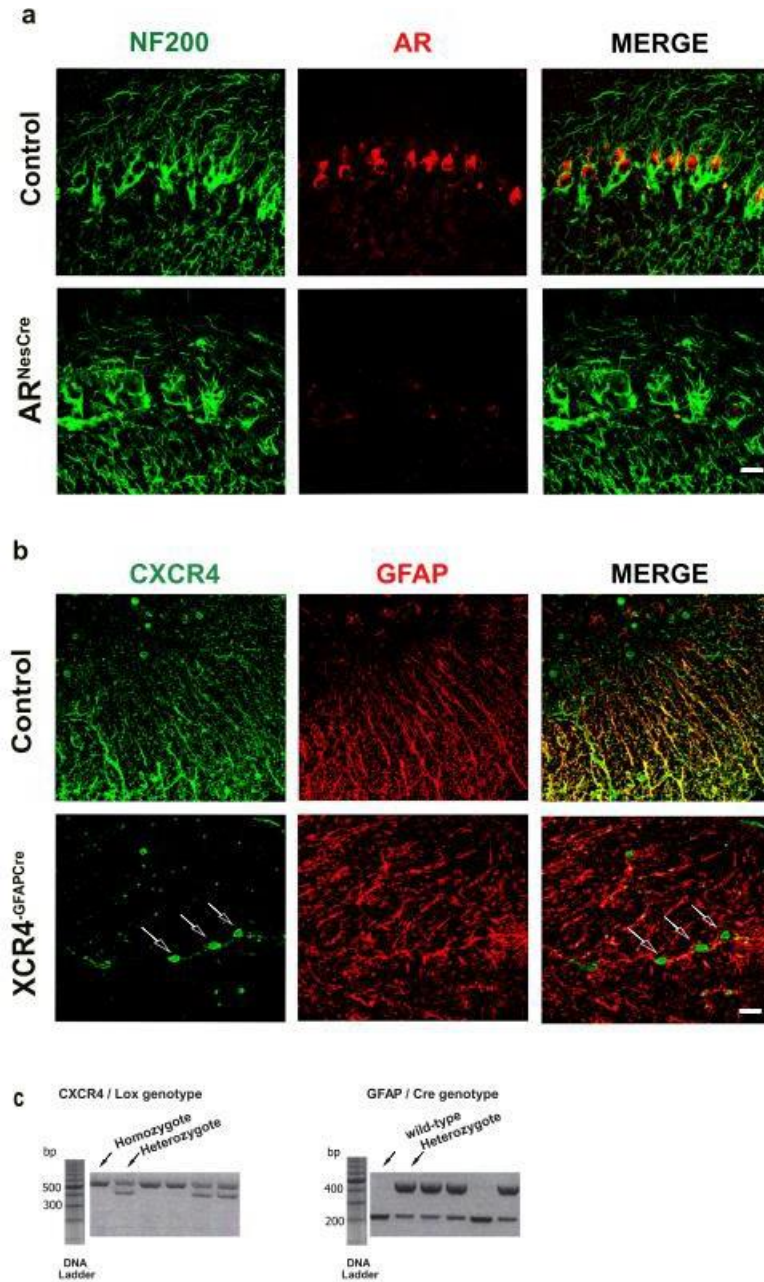


**Inhibition of CXCR4 blocks the T-dependent differentiation of oligodendrocytes and their migration.** **a-d:** Organotypic cultures of sagittal cerebellar slices from postnatal 10 (P10) PLP-eGFP mice. They were triple stained for eGFP, Olig2 (both markers of oligodendroglial lineage cells) and CC1 (maker of mature oligodendrocytes). Control (CTL) slices were only exposed to vehicle (0.1% ethanol). Treated slices were exposed to 0.5 mg/ml LPC for 17-18 hrs to cause their demyelination. They were then treated with vehicle, T (1  $\mu$ M) or T + AMD3100 (5  $\mu$ M) during 5 days. **b,c, Slices** treated with vehicle or AMD3100 alone remained largely depleted of Olig2+ cells and CC1+ mature oligodendrocytes. T treatment during 5 days replenished Olig2+ cells and CC1+ cells. **d,** Nearly all Olig2+ cells coexpressed CC1. The effects of T were inhibited by AMD3100. **e-h:** Coculture of demyelinated cerebellar slices from P10 C57BL/6 mice and of brain stem slices from P0 PLP-eGFP mice. The dorsal parts of LPC-demyelinated cerebellar slices were apposed with portions of P0 brain stem slices. The dashed line indicates the limit between the two slices. After 10 days of contact without treatment (control) or treatment with vehicle (0.1% ethanol), T (1  $\mu$ M) or T + AMD3100 (5  $\mu$ M), the cocultures were double stained for eGFP and MBP. T treatment increased the number eGFP+ oligodendroglial cells migrating from the brain stem slices into the demyelinated cerebellar slices (**f**), rose their distances of migration (**g**) and significantly increased the number of eGFP+ cells migrating a distance greater than 250  $\mu$ m

beyond the border (**h**). These effects of T were inhibited by AMD3100. Data are presented as mean  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05. Scale bar: 20  $\mu$ m.

### Extended data figures and tables

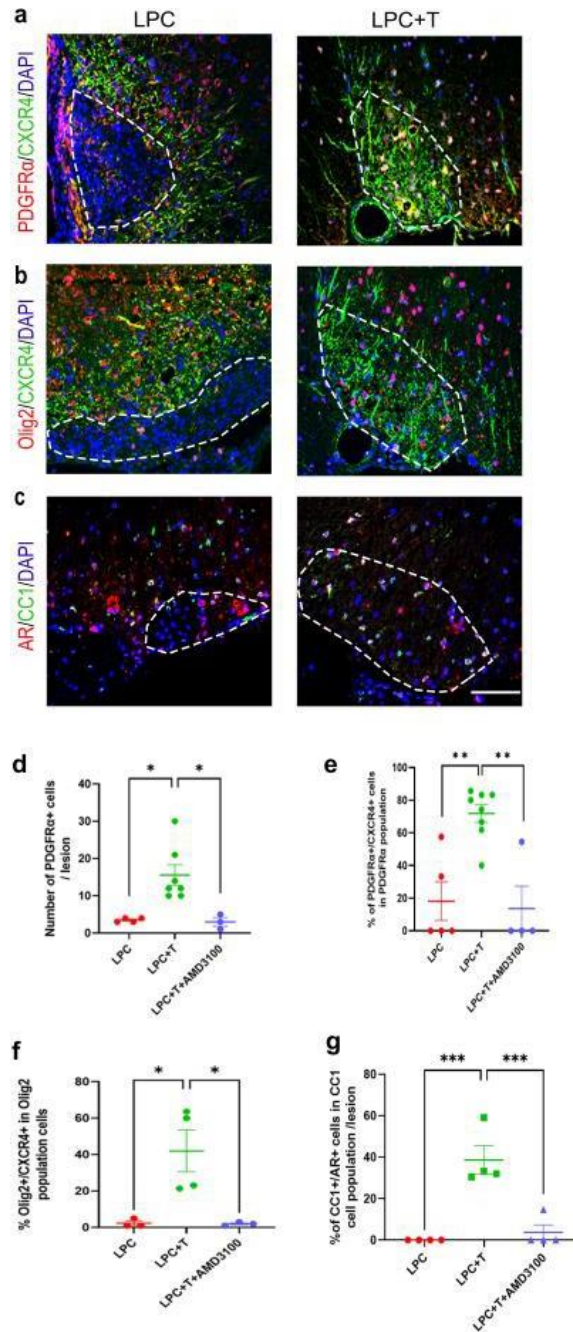
#### Extended data Figure 1



**Validation of AR antibody specificity and astrocyte-specific genetic inactivation of CXCR4. a**, Double labeling of 200-kD neurofilament protein (NF200) and AR on cerebellar sections of wildtype (control) or AR<sup>GFAPCre</sup> male mice with selective CNS ablation of AR. In the wildtype cerebellum, the monoclonal AR antibody stained the soma of Purkinje neurons. AR immunostaining was absent in

cerebellar neurons of AR<sup>GFAPCre</sup> mice. **b**, Double labeling of CXCR4 and GFAP on spinal cord white matter of CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> (control) or CXCR4<sup>GFAPCre</sup> male mice with selective ablation of CXCR4 in astrocytes. The GFAP<sup>+</sup> astrocytic processes of wildtype but not of CXCR4<sup>GFAPCre</sup> mice were immunostained for CXCR4. Only vessels were stained for CXCR4 (arrows). Scale bars = 20  $\mu$ m. **c**, Genotyping of CXCR4<sup>Lox/Lox</sup> and GFAP-cre mice by PCR analysis, followed by separation on 1,5% agarose gel. Samples were electrophoresed against a GeneRuler 100 bp DNA Ladder

## Extended data figure 2

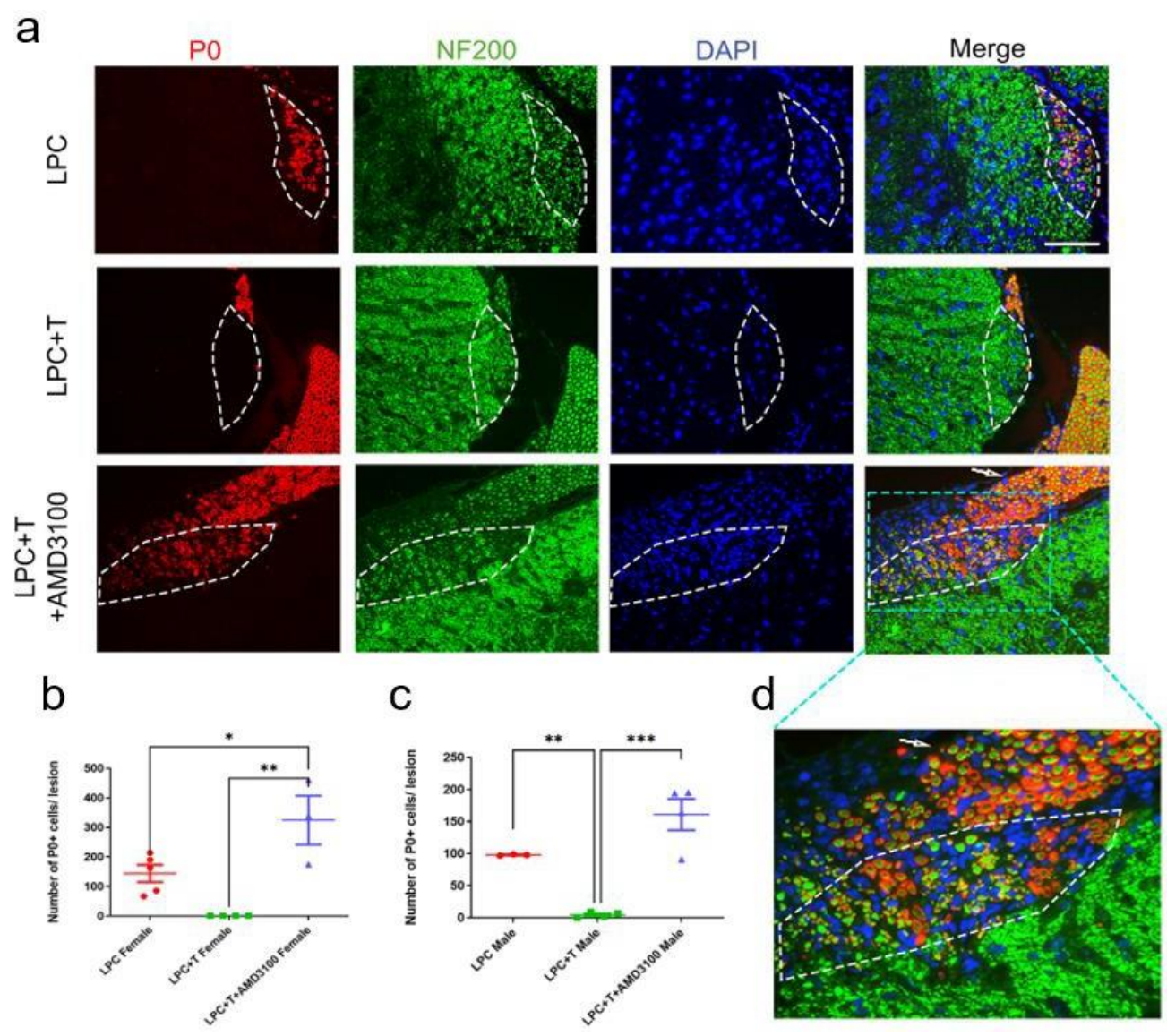


**Oligodendroglial cells express CXCR4 and AR.** **a**, Double labeling of the OPC marker PDGFR $\alpha$  and CXCR4 on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by the dotted line, PDGFR $\alpha$  and CXCR4 co-staining were nearly absent in males receiving an empty implant (LPC), but were present (yellow stain) in males



receiving a T implant (LPC+T). **d,e**, The T-dependent recruitment of PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> and CXCR4<sup>+</sup> cells was inhibited by AMD3100. **b,f**, Olig2<sup>+</sup> oligodendroglial cells migrating into the LPC lesion of T-treated males also expressed CXCR4, and their appearance was blocked by AMD3100. **c,g**, CC1<sup>+</sup> mature oligodendrocytes present in the LPC lesion of T-treated males expressed AR, and their appearance was blocked by AMD3100. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\**P*<0.001, \*\**P*<0.01, \**P*<0.05. Scale bar: 20  $\mu$ m.

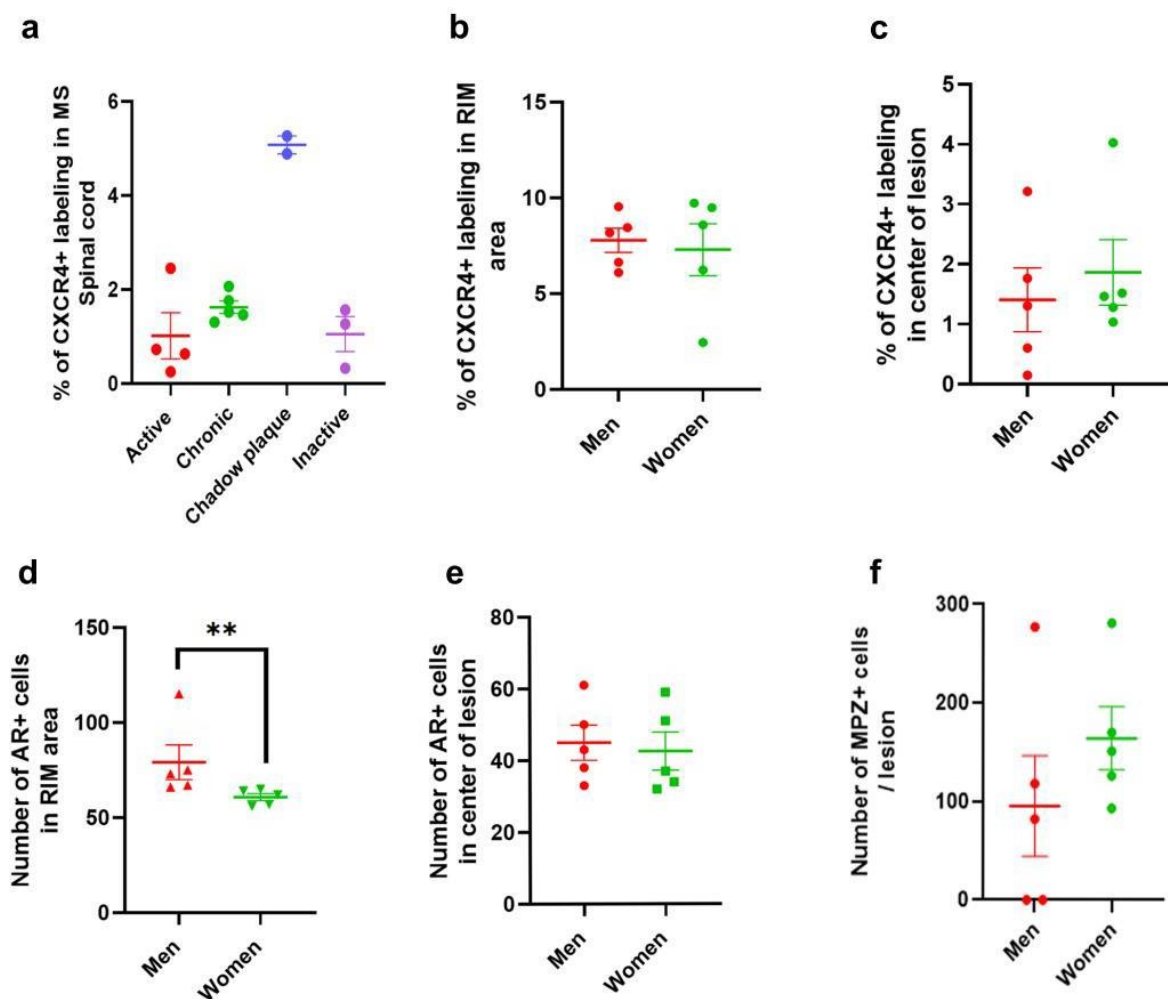
**Extended Data Figure 3**



**Inhibition of CXCR4 promotes remyelination of the central nervous system by Schwann cells. a**, Double labeling of MPZ and NF200 on spinal cord cross sections of castrated males at 30 dpl. Cell nuclei were counterstained in blue with DAPI. Within the LPC lesion, delimited by a dotted line, no MPZ staining was observed in males receiving an implant filled with T, but MPZ<sup>+</sup> Schwann cells migrated from ventral spinal roots (indicated by arrows) into the lesion in males treated with an empty implant or T+AMD3100 (Scale bar: 20  $\mu$ m). **d**, Enlargement of the square (T+AMD3100 treatment) showed that about half of the NF200<sup>+</sup> axons within the lesion were remyelinated by MPZ<sup>+</sup> myelin (Scale bar: 10  $\mu$ m).

**b,c**, In the LPC lesion, Schwann cells myelinated axons in the absence of T or CXCR4 signaling in both males and females. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05.

**Extended data figure 4**



**Comparison of CXCR4, AR and MPZ immunostaining between men and women with MS.** **a**, Comparison of CXCR4 immunostaining between active, chronic, shadow and inactive MS lesions. **b-f**: Comparison of immunostaining between MS lesions in men ( $n = 5$ ) and women ( $n = 5$ ): (**b**) CXCR4 in rim, (**c**) CXCR4 in lesion center, (**d**) number of AR<sup>+</sup> cells in rim, (**e**) number of AR<sup>+</sup> cells in lesion center, (**f**) number of MPZ<sup>+</sup> cells per lesion. Data are presented as means  $\pm$  s.e.m. (one-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons tests or two-tailed unpaired Student's t-test). Asterisks mark significant differences. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05.

## Extended tables

**Extended Table 1. Clinicopathologic Data on Multiple Sclerosis Patients and Controls**

CODE	SEX	AGE (years)	PMD (h:min)	pH	MS Type
2006-052	F	69	7:30	6,14	PP
2007-085	F	66	6:30	6,18	SP
2011-077	F	66	9:35	6,45	PP
2013-019	F	53	7:15	6,81	SP
2014-052	F	61	10:00	6,88	SP
2008-072	M	57	7:55	6,50	SP
2008-095	M	61	9:15	6,88	SP
2011-048	M	53	10:00	6,38	SP/PP?
2013-026	M	54	6:40	6,54	SP
2014-072	M	54	7:55	6,60	SP
Mean (F/M)	5/5	63/56	8:40/7:22	6,49/6,6	

F, female; M, male; MS, multiple sclerosis; PMD, postmortem delay (h: hours; min: minutes); PP primary progressive; SP secondary progressive.

**Extended Table 2. Antibodies used for immunohistochemistry**

REAGENT	SOURCE	IDENTIFIER
Rabbit anti-Olig2	Millipore	Cat# AB9610; RRID: AB_570666
Mouse anti-Olig2	Millipore	Cat# MABN50; RRID: AB_1141521
rabbit anti-MBP	Abcam	Cat# ab40390; RRID: AB_92396
Mouse anti-MBP	Millipore	Cat# MAB381; RRID: AB_11212910
Rat anti-MBP	Millipore	Cat# MAB386; Clone 12; RRID: AB_94975
Mouse anti- Adenomatous Polyposis Coli (CC1)	Millipore	Cat# OP80; RRID: AB_2057371
Mouse anti-Calbindin D-28K	Swant	Cat# 300; RRID: AB_10000340
Rabbit anti-Calbindin D-28K	Swant	Cat# CB-38; RRID: AB_10000347
Human CXCR4 (4G10)	(Santa Cruz Biotechnology)	Cat# sc-53534, RRID: AB_782002)
Human/Mouse CXCL12/SDF-1 MAb (Clone 79018) antibody	R and D Systems	Cat# MAB350, RRID: AB_2088149
CD140a (PDGFR $\alpha$ ) Monoclonal Antibody (APA5)	Thermo Fisher Scientific	Cat# 16-1401-050, RRID: AB_2865868
Glial Fibrillary Acidic Protein (Multipurpose) antibody	Agilent	Cat# Z0334, RRID: AB_10013382
Mouse Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) Monoclonal Antibody, Clone G-A-5	Sigma-Aldrich	Cat# G3893, RRID: AB_477010
Androgen Receptor antibody (AR)	Thermo Fisher Scientific AR Monoclonal Antibody (AR 441)	Cat #MA5-13426, RRID: AB_11000751
Mouse Anti-Neurofilament 200 kD (clone NE14)	Millipore	Cat# MAB5256, RRID: AB_95184)
P-Zero Myelin Protein (PZO) antibody (P0)	Aves Labs	Cat# PZO, RRID: AB_2313561
anti-mouse Alexa488 conjugated	Thermo Fisher Scientific	Cat# A11070; RRID: AB_2534114
anti-mouse Alexa633 conjugated	Thermo Fisher Scientific	Cat# A-21053; RRID: AB_2535720
anti-rat Cy3 conjugated	Jackson ImmunoResearch	Cat# 111-165-144; RRID: AB_2338006



## Supplementary information

### Supplementary data 1

#### **Testosterone stimulates the differentiation and migration of oligodendroglial cells in organotypic cultures in a CXCR4-dependent manner.**

Further evidence in support of a key role for both T and CXCR4 in the differentiation and migration of oligodendroglial cells was obtained in slice cultures of mouse spinal cord and cerebellum. We first examined the cooperation between T and CXCR4 in promoting myelin regeneration in cultured spinal cord slices prepared from postnatal day 10 (P10) PLP-eGFP mouse pups. The slices were cultured for 7 days *in vitro* (DIV) to become fully myelinated, and they were then demyelinated by exposing them during 17-18 hours to LPC (0.5 mg/ml) as previously described<sup>29</sup>. The culture medium was then changed and slices were treated with vehicle (0.1% ethanol), T (1  $\mu$ M), AMD3100 (5  $\mu$ M) or T together with AMD3100 (dosing has been tested). The LPC-treated slices were also compared to controls (CTL), not treated with LPC. After 5 days, LPC-demyelinated slices treated with vehicle were still much depleted in eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells, and MBP immunoreactive myelin was sparse when compared to controls (Supplementary Fig. 1). Treatment with T restored the density of eGFP<sup>+</sup> cells and MBP<sup>+</sup> myelin, becoming comparable to controls. As *in vivo*, the effects of T were blocked by cotreatment with AMD3100.

The effects of T treatment and CXCR4 inhibition by AMD3100 on the replenishment of oligodendrocytes and oligodendroglial cell migration were then examined in LPC-demyelinated slices of mouse cerebellum, because of its precise cellular organization with defined myelinated fiber tracts. Cerebellar slices were prepared from P10 PLP-eGFP mice and treated like the spinal cord slices. The preserved cellular structures in these cultures revealed that eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells and MBP<sup>+</sup> processes were aligned along CaBP<sup>+</sup> Purkinje cell axons in control and in LPC-demyelinated slices treated during 5 days with T. In contrast, in LPC-demyelinated slices treated with vehicle or concurrently with T and AMD3100, both eGFP<sup>+</sup> cells and MBP immunoreactivity were scant (Supplementary Fig. 2).

To assess the cooperation between T and CXCR4 in the replenishment of oligodendroglial cells and their differentiation into mature oligodendrocytes, we double immunostained the cerebellar slices of PLP-eGFP mice with an antibody against the transcription factor Olig2, expressed throughout the oligodendroglial lineage, and an antibody against the CC1 marker of mature oligodendrocytes. After LPC demyelination, T significantly increased the number of mature oligodendrocytes coexpressing eGFP, Olig2 and CC1 to levels observed control slices (CTL) that were not demyelinated by LPC (Supplementary Fig. 3a-d). Most Olig2<sup>+</sup> oligodendroglial cells coexpressed CC1. Thus, T stimulated the replenishment of oligodendroglial cells and their differentiation into mature oligodendrocytes after LPC-induced demyelination. The effects of T required cooperation with CXCR4 signaling, as they were inhibited by AMD3100 (Supplementary Fig. 3a-d).

The recruitment of new myelinating oligodendrocytes requires not only the proliferation and differentiation of their progenitors, but also their migration into areas of demyelination. To assess whether the cooperation between T and CXCR4 is also involved in oligodendroglial cell migration, P10 cerebellar slices of wildtype mice after 7 DIV were used as controls or demyelinated as described above with LPC. They were then apposed to brain stem slices of newborn (P0) PLP-eGFP mice, which are rich in eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells at this developmental stage. This coculture system allowed us a more precise analysis of the migrating eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells and their fate. The cocultures of LPC-demyelinated cerebellar slices and P0 brain stem slices were then treated with vehicle, T or T + AMD3100. After 10 days of coculture, the number of eGFP<sup>+</sup> oligodendroglial cells that had migrated from the brainstem into the cerebellar slices were counted, and the distances travelled from the border of the apposed slices were measured. T treatment increased both the number of migrating

oligodendroglial cells and the distances covered by them (Supplementary Fig. 3e-h). There were 6 times more oligodendroglial cells that migrated a distance greater than 250  $\mu\text{m}$  beyond the border in the presence of T (Supplementary Fig. 3h). The promigratory effect of T was once again inhibited by AMD3100. Thus, T and CXCR4 increased in a concerted manner the migration, proliferation and differentiation of oligodendroglial cells.

## VIII. Matériel & méthodes supplémentaires

Nous avons réalisé la demyélinisation par injection stéréotaxique de LPC 1% au niveau de la substance blanche ventrale de souris femelles adultes préalablement ovariectomisés et des mâles castrés. Après demyélinisation les souris ont reçu ou non un implant d'oestradiol, en sous cutannée. Tous les 2 jours les souris ont été injectées par l'inhibiteur pharmacologique de CXCR4, l'AMD3100. Quatre semaines après la lésion, les souris ont été euthanasiées et les techniques d'analyses histochimiques ont été réalisées de la même manière que celle évoquée dans l'article.

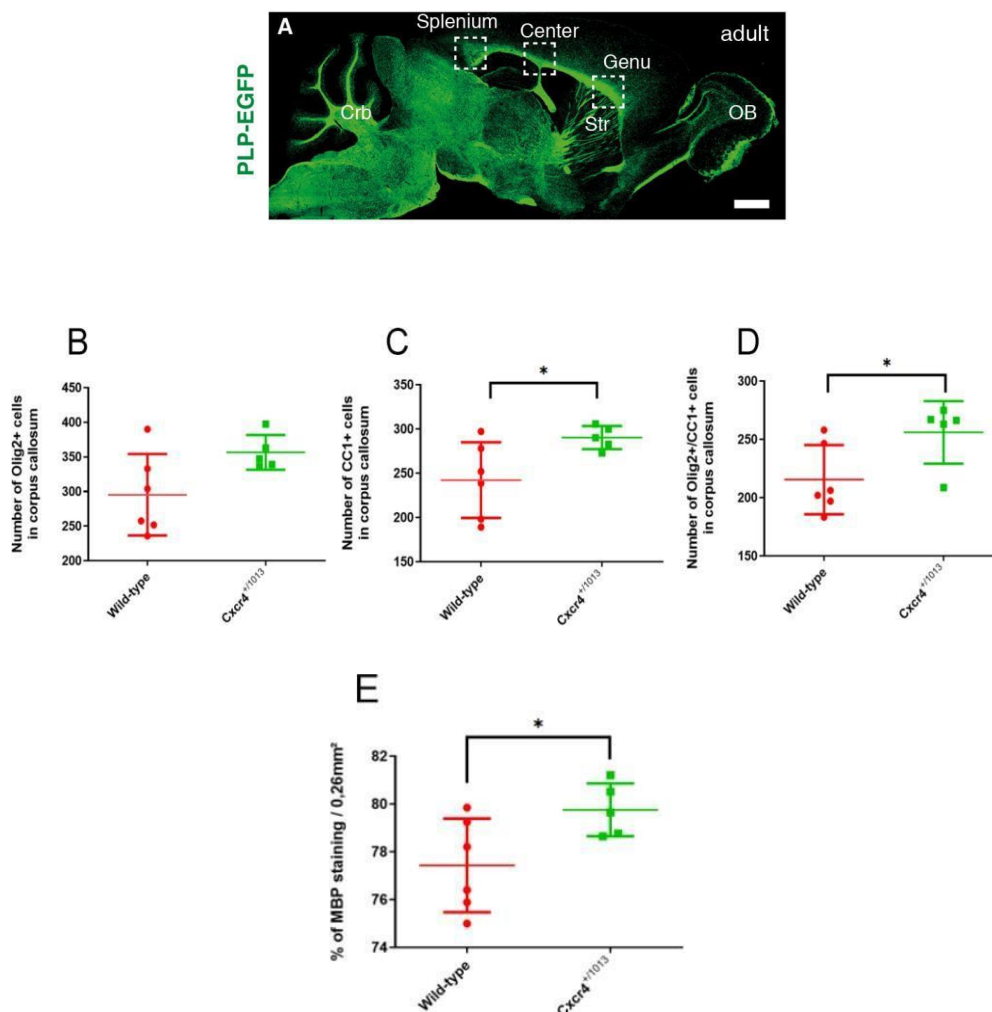
L'immunohistochimie des coupes de cerveaux de souris CXCR4+/1013 a été réalisée sur des animaux âgées de 2 à 4 mois. Les cerveaux ont été fixés dans du PFA 4% et coupés au vibratome à une épaisseur de 30 µm. Les immunofluorescences ont été réalisées comme précédemment décrit.

## IX. Résultats supplémentaires

**Figure 38 : Etude des composants myéliniques des souris CXCR4<sup>+1013</sup>**

La caractérisation des souris CXCR4<sup>+1013</sup> mâles adultes (2-3mois) a été réalisée grâce au marquage d'oligodendrocytes immatures Olig2+ et matures CC1+ au niveau du corps calleux ainsi que du marquage de la myéline (MBP). Nous avons réalisée pour chaque souris des photos de ces différents marqueurs au niveau des 3 régions du corps calleux à savoir le splenium, le centre et le genou (**Figure 38,A** d'après (Abi Ghanem et al. 2017)) puis nous avons réalisé une moyenne afin d'obtenir une valeur pour chaque souris. Le marquage des oligodendrocytes Olig2+, présent tout au long du linéage oligodendrocytaire ne montre pas de différences entre les souris CXCR4<sup>+1013</sup> et les souris Wild-type **Figure 38**. Cependant, nous observons une augmentation significative des oligodendrocytes matures (CC1+ cellules) ainsi que du comarquage Olig2+/CC1+ des souris CXCR4<sup>+1013</sup> comparée au souris wild-type **Figure 38,C,D**. L'augmentation des oligodendrocytes matures chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup> est corrélée avec un pourcentage de surface marquée par la myéline (MBP) plus important chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup> comparée au souris Wild-type **Figure 38,E**. Ainsi, le gain de fonction du CXCR4 chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup> entraîne une augmentation des cellules oligodendrocytes matures ainsi que du pourcentage de la myéline.

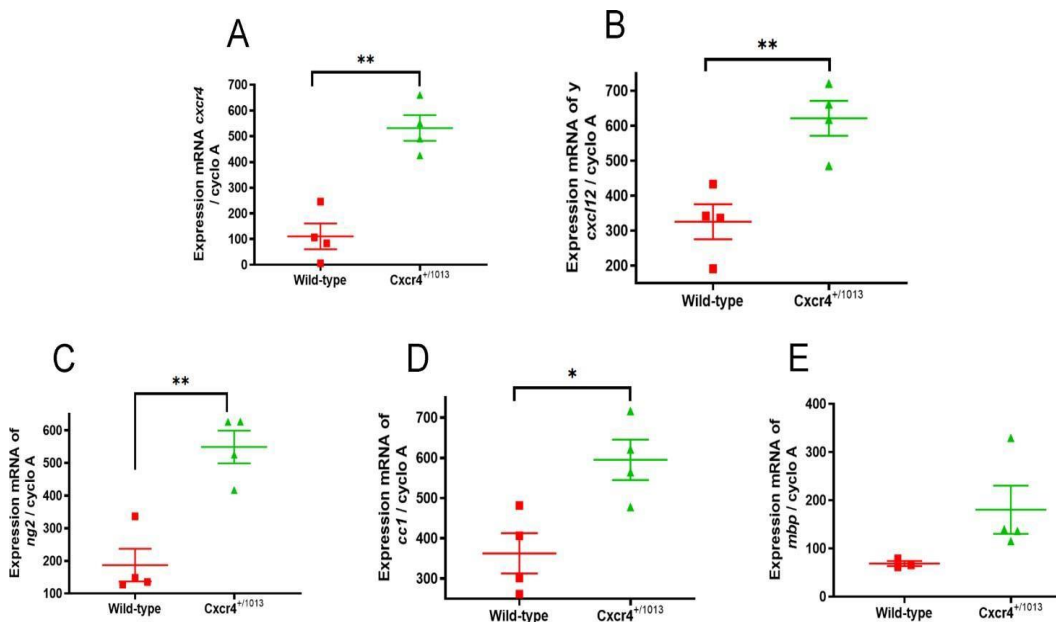
Les pourcentages de densité de coloration sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM, \*P<0,01, par un test t student ; n=5.



**Figure 39: Analyses de l'expression des gènes associées aux composants myéliniques par qRT-PCR des souris CXCR4<sup>+/-1013</sup>**

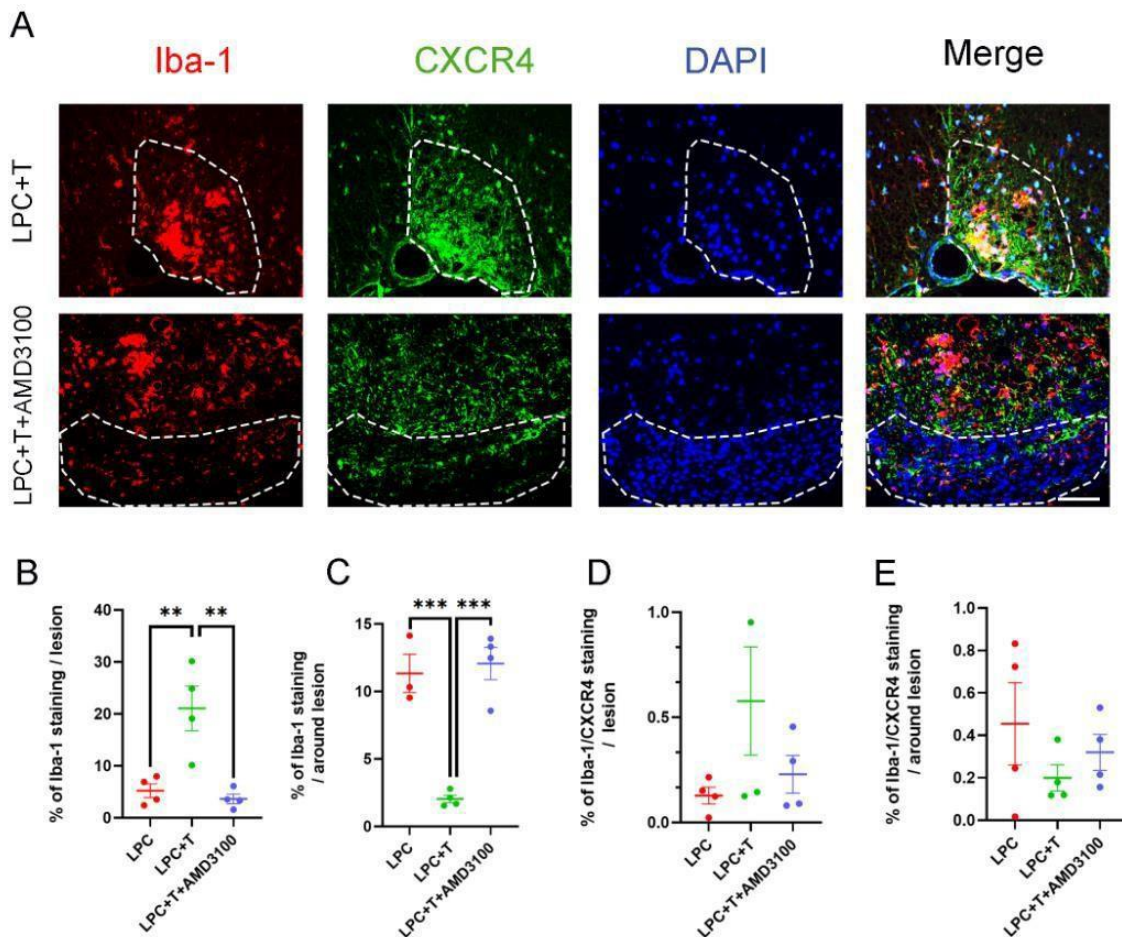
Nous avons réalisé des qRT-PCR à partir d'ARNm de cerveaux de souris mâles adultes CXCR4<sup>+/-1013</sup> et des souris sauvages C57BL/6. L'expression relative des gènes a été normalisée par le gène de ménage *cyclo A*. On observe une augmentation significative du gène *cxcr4* et *cxcl12* chez les souris CXCR4<sup>+/-1013</sup> comparée aux souris Wild-type **Figure 39,A,B**. L'expression relative des gènes exprimés par les oligodendrocytes immatures (*ng2*) et mature (*cc1*) sont significativement augmentées chez les souris CXCR4<sup>+/-1013</sup> comparé aux souris Wild-type, confirmant les résultats présentés ci-dessus (**Figure 38**), **Figure 39,C,D**. Néanmoins, l'expression relative du marqueur majeur de la myéline (*mbp*), même si elle est plus forte chez les souris CXCR4<sup>+/-1013</sup>, elle n'est pas significativement différente de celle obtenue chez les souris sauvages **Figure 39,E**.

Les données sont représentées en moyenne  $\pm$  SEM. Le test student T a été utilisé entre les deux groupes analysés. Les astérisques indiquent les p-values suivantes : \*p $\leq$  0.05, \*\*p $\leq$  0.01. (n=4).



**Figure 40: Rôle de la microglie (cellules IBA1+) dans la remyélinisation par la testostérone après lésion de la moelle épinière induite par la LPC.**

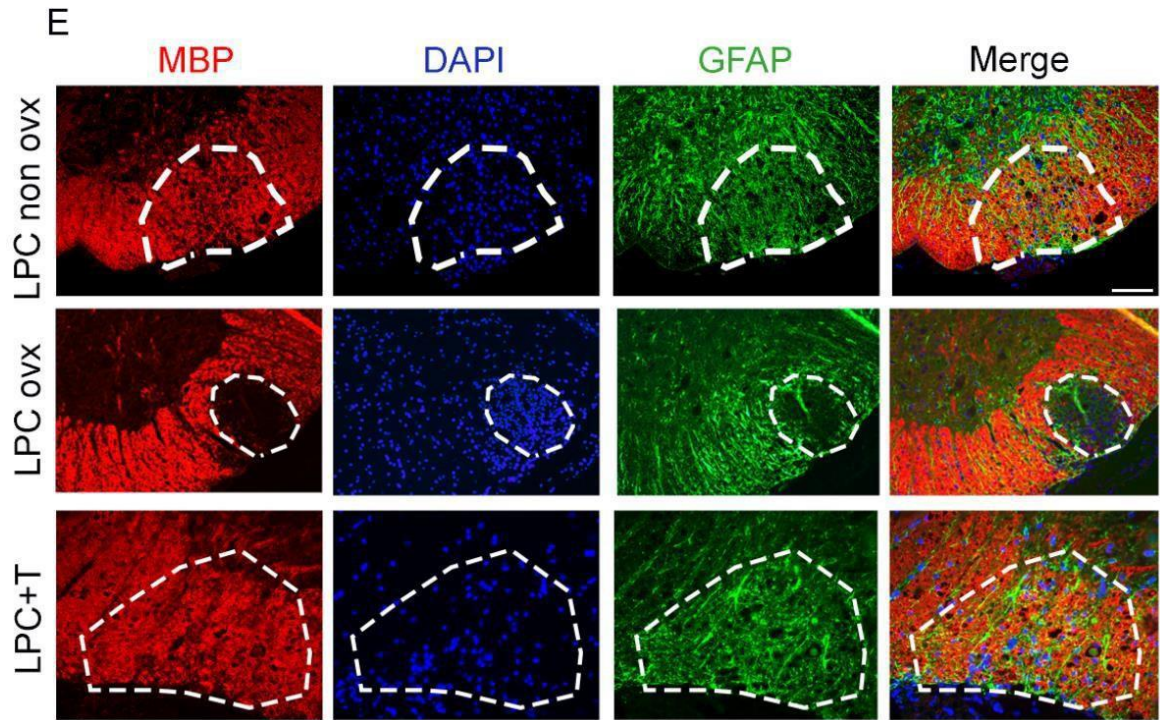
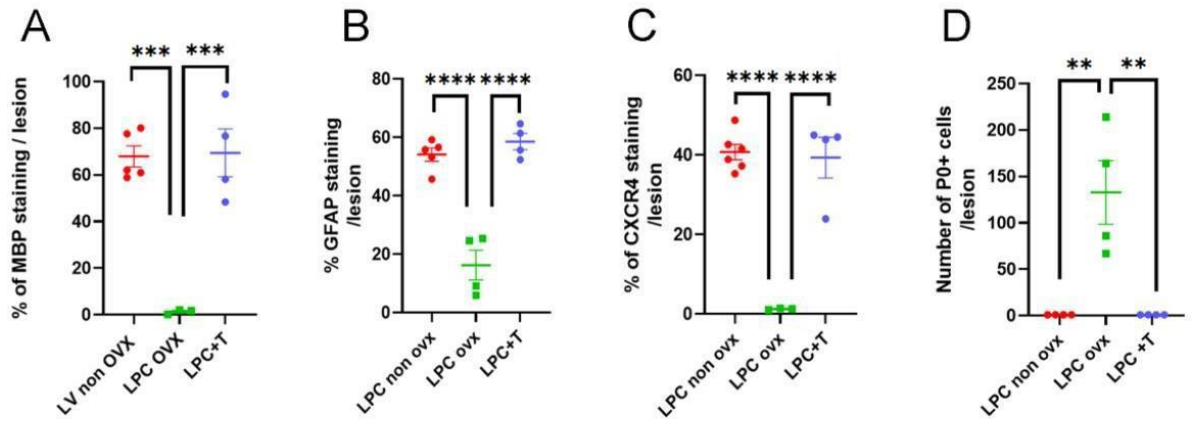
Le rôle majeur de la microglie dans le phénomène de remyélinisation a largement été démontré notamment dans des contextes inflammatoires (Shemer et al. 2020) et phagocytose des débris toxiques myéliniques (Lloyd and Miron 2019). Nous avons identifié l'expression de la microglie grâce à l'utilisation du marqueur Iba-1, quatre semaines après la démyélinisation de la substance blanche ventrale de la moelle épinière de souris. Comme reporté dans la littérature, nous observons une accumulation de cellules Iba-1+ lors de la remyélinisation par la testostérone au sein des zones lésées ce qui se traduit par une diminution de leur expression en bordure. L'effet inverse est observé chez les souris n'ayant pas remyélinisé (condition LPC seul et LPC+T+AMD3100) **Figure 40B,C**. Le comarquage des cellules Iba-1+/CXCR4+ montre un pourcentage de coexpression très faible (0,578%) dans les zones remyélinisées. La différence n'est pas significative entre les 3 conditions (LPC ; LPC+T et LPC+T+AMD3100), **Figure 40A,D**. De même, la bordure des zones lésées de nos différents traitements ne présentent aucune différence significative concernant le comarquage des cellules Iba-1+/CXCR4+ **Figure 40A,E**. Les pourcentages de densité de coloration sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM, \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  par one-way ANOVA suivi du test post hoc de Tukey ;  $n = 3-4$  ; Barre d'échelle : 50 $\mu$ m.



#### **Figure 41 : Remyélinisation spontanée chez les souris femelles non ovariectomisées (non ovx)**

Nous avons précédemment montré que la castration des souris mâles et femelles abolie la remyélinisation des axones par les oligodendrocytes après une démyélinisation focale induite par la lysolécithine (LPC) dans la substance blanche de la moelle épinière ventrale (funiculus ventral). Nous montrons ici, 4 semaines après induction de la lésion, une remyélinisation spontanée chez les femelles intactes (non ovariectomisées) grâce à une augmentation significative du marquage MBP de 66,59%, comparée aux souris ovariectomisées ayant reçu un implant vide. On remarque également que les souris non ovariectomisées remyélinisent la surface de lésion à un niveau comparable à celui observé chez les souris castrées et ayant reçu un implant de testostérone (67,93%±4,3 souris non ovx versus 69,44±10,24 souris LPC+T) **Figure 41A.E**. L'augmentation du pourcentage de surface marquée de la MBP chez les souris non ovx s'accompagne d'une entrée d'astrocytes réactifs de 54,09% au sein des zones démyélinisées. Nous retrouvons un niveau de marquage de GFAP équivalent (58,51% ± 2,763) pour les souris ayant reçues un implant de testostérone et ovariectomisées **Figure 41B et 41E**. La conservation des androgènes chez les souris femelles (non ovx) active la migration des cellules CXCR4+ dans la lésion, comme observée chez les souris ayant reçues un implant de testostérone après la castration (40,70 ± 1,94 chez les souris non ovx versus 39,31% ± 5,138 chez les souris LPC+T) **Figure 41C**. Comme montré dans nos précédents résultats, l'absence de remyélinisation des souris privés d'androgènes (ovx+LPC) conduit à une remyélinisation par des cellules du SNP, observé grâce au marquage PO+ (composant structurel majeur de la gaine de myéline du SNP). Nous montrons ici, que la remyélinisation spontanée observée chez les souris non ovx par les OL du SNC bloque l'infiltration des cellules de Schwann au niveau des sites lésés comme observée chez les souris ovx traitées par la testostérone **Figure 41**. Les pourcentages de densité de coloration sont présentés sous forme de moyennes ± SEM, \*\*\*P<0,001, \*\*\*\*P<0,0001, analysés par one-way ANOVA suivi du test post hoc de Tukey ; n=3-6 ; Barre d'échelle: 50µm.





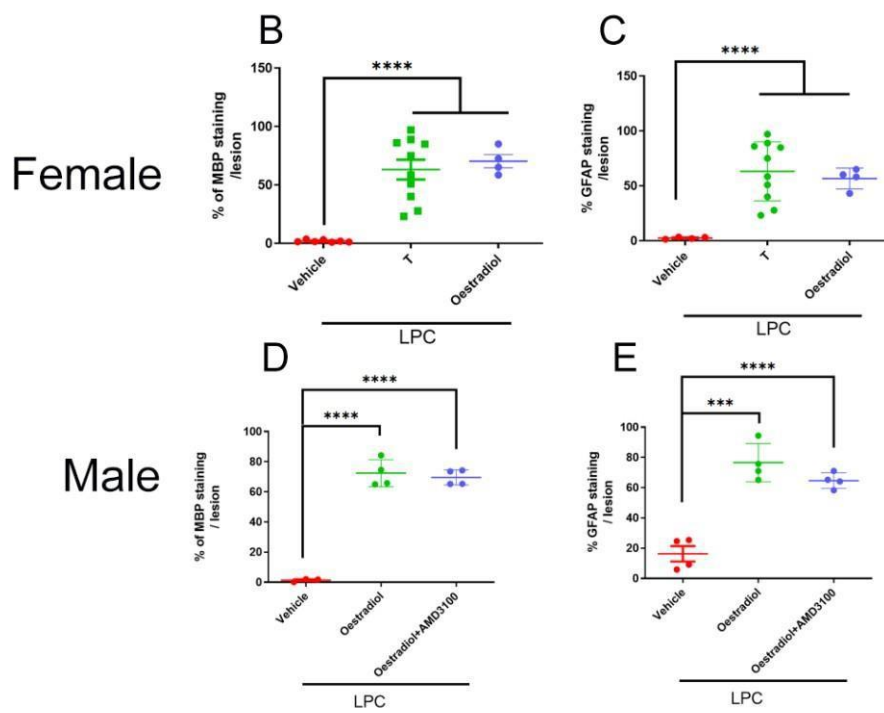
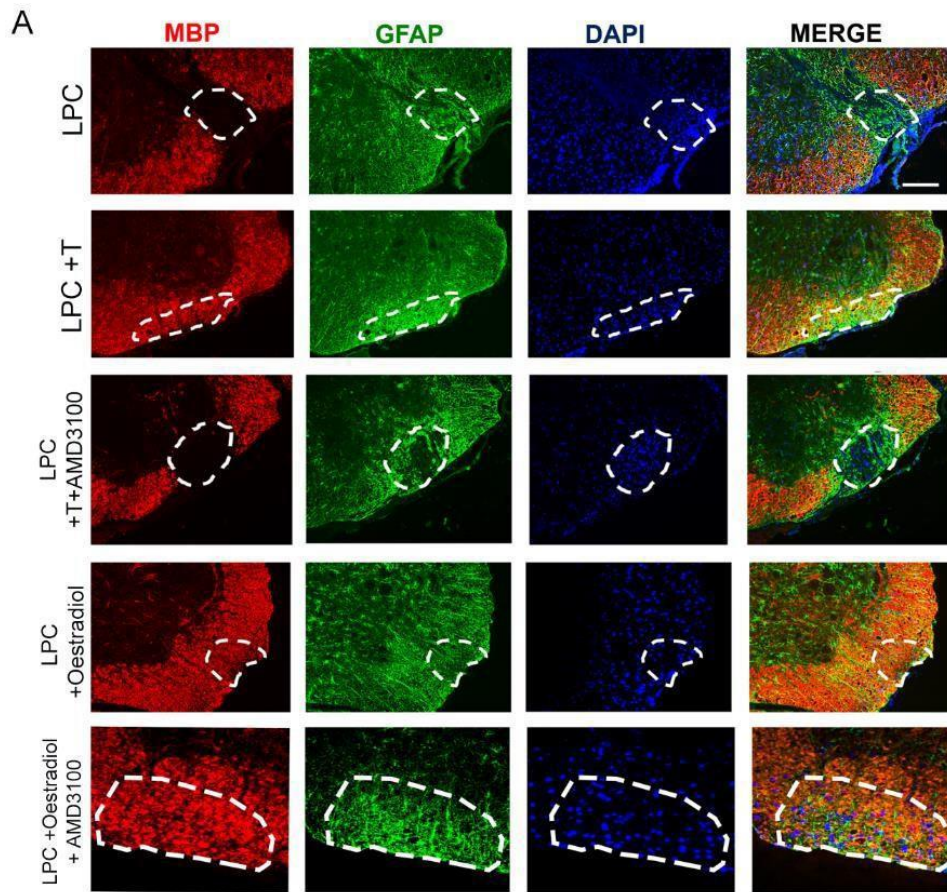
**Figure 42 : La remyélinisation par l'oestradiol chez les souris mâles et femelles n'implique pas le récepteur de chimiokine CXCR4.**

Nous avons précédemment montré l'effet remyélinisant de la testostérone sur des souris mâles et femelles castrées ainsi qu'une remyélinisation spontanée des souris femelles non ovariectomisées, suggérant l'implication des hormones endogènes femelles. Nous avons donc réalisé des lésions de la moelle épinière de la substance blanche ventrale de souris mâles et femelles castrées suivie de l'administration d'implant d'oestradiol. Après 4 semaines, nos résultats montrent une remyélinisation des souris mâles et femelles, au niveau des sites lésés, se reflétant par une augmentation significative de la myéline (MBP) comparable à celle observés chez les souris traitées par la testostérone **Figure 42,A,B,D**. Le traitement par l'oestradiol induit une colonisation des zones lésées par les astrocytes, avec une augmentation de 64,65% chez la femelle contre 56,69% chez le mâle comparé aux souris ayant reçu un implant vide **Figure 42,A,C,E**.

Nous avons précédemment démontré que le traitement avec l'AMD3100, l'inhibiteur spécifique du CXCR4, bloque la remyélinisation par la testostérone. Nous avons donc voulu déterminer si comme la testostérone, l'effet remyélinisant de l'oestradiol pouvait être bloqué par l'inhibition du CXCR4. Les souris mâles montrent une remyélinisation complète des zones lésées, avec des taux de surfaces de marquage de la MBP similaires à ceux observés chez les souris ayant été traitées par l'oestradiol seul ( $76,57\% \pm 6,3$  pour l'oestradiol seul versus  $64,65\% \pm 2,61$  pour le traitement oestradiol+AMD3100) **Figure 42,A,D**. De même, le marquage astrocytaire au sein des lésions n'est pas impacté par l'inhibition du CXCR4 et nous retrouvons une similarité du pourcentage de marquage des cellules GFAP+ comparable à celle observée chez la souris traitée par l'oestradiol seul ( $76,57\% \pm 6,31$  pour le traitement oestradiol seul versus  $64,65 \pm 2,613$  pour les souris oestradiol+AMD3100) **Figure 42,A,E**. Les mêmes résultats ont été trouvés chez les souris femelles (data non présentés).

L'ensemble de ces résultats démontrent l'action remyélinisante de l'oestradiol à la fois chez la souris mâle et chez la souris femelle, tout comme la testostérone. Cependant, contrairement à la testostérone, l'inhibition du CXCR4 n'a aucun effet sur la remyélinisation médiée par l'oestradiol.

Les pourcentages de densité de coloration sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  SEM,  $**P < 0,01$ ,  $***P < 0,001$  par one-way ANOVA suivi du test post hoc de Tukey ;  $n=4-10$  ; Barre d'échelle :  $50\mu\text{m}$ .



# Discussion

## X. Discussion

La perte de la myéline, caractérisant la maladie de la sclérose en plaques (SEP) relève d'une importance clinique et pathologique capitale. Elle se manifeste par une combinaison de processus inflammatoire, de démyélinisation et de dégénérescence axonale du SNC, qui sont à l'origine d'handicaps neurologiques. Parmi les perspectives thérapeutiques pour favoriser la réparation de la myéline, l'utilisation de petites molécules telles que les stéroïdes et en particulier les androgènes, présente un intérêt majeur. En effet, l'androgène via son récepteur (AR) représente une des voies de signalisation intracellulaire qui régule la myélinisation et la remyélinisation ( Hussain et al. 2013; Bielecki et al. 2016;Abi Ghanem et al. 2017).

### I / Gènes régulés par la testostérone lors de la remyélinisation par la testostérone

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée à la compréhension des mécanismes mis en jeu lors de la remyélinisation par la testostérone et son récepteur AR, dans un modèle de démyélinisation basé sur l'injection stéréotaxique de la LPC au niveau de la substance blanche ventrale de la moelle épinière de souris castrées/ovariectomisées. La remyélinisation par la testostérone et l'implication de son récepteur (AR) a été précédemment décrite par notre laboratoire, à la fois dans des modèles de démyélinisation chronique et aiguë. Cependant, à ce jour, les mécanismes sous-jacents à l'effet remyélinisant de la testostérone restent inconnus. En ce sens, nous avons voulu identifier les gènes différentiellement exprimés lors de la remyélinisation par la testostérone en étudiant le transcriptome des zones lésées. Afin d'identifier la phase critique précédant l'activation des acteurs de la remyélinisation, nous avons réalisé une cinétique d'expression de la protéine de la myéline MBP pendant les temps suivants : 5, 10, 15 et 30 jours post-lésion. De plus, l'étude de la remyélinisation, pendant ces temps, dans le modèle LPC, a permis de mettre en lumière l'implication de plusieurs processus tels que la présence accrue des cellules astrocytaires (cellules GFAP+) ainsi que la formation d'une barrière autour des zones lésées lors d'un échec de la remyélinisation. La cinétique de la remyélinisation médiée par la testostérone, a permis de mettre en évidence une corrélation positive entre les marqueurs de la myéline (MBP) et des astrocytes (GFAP), démontrant ainsi que l'apparition des astrocytes dans la lésion s'accompagne d'une production de la gaine de myéline lors de la remyélinisation testostérone-dépendante. Nos premières expériences ont révélé des différences significatives des marquages MBP et GFAP à 15 et 30 jours post-lésion entre les groupes ayant subi une lésion + implant vide et ceux ayant reçu un implant contenant la testostérone. Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés dans la littérature montrant une remyélinisation complète des lésions, induite par LPC, à 15 et 30 jours post-lésion (Franklin 2002; Franklin and Ffrench-Constant 2008). Dix jours après la lésion, malgré l'absence de significativité pour le marqueur MBP, nous

observons une augmentation significative des astrocytes dans la condition LPC+T comparé à la condition LPC+ implant vide. La réalisation d'une analyse transcriptomique 10 jours après la lésion montrerait donc un niveau élevé des gènes associés aux astrocytes, mais également de ceux liés à la myéline, puisque la différenciation des OPC commence à 7 jours et augmenterait donc le seuil de détection. Cinq jours après la lésion (day post lesion : dpl), nous n'avons pas observé une différence significative pour les expressions des marqueurs de la myéline et des astrocytes entre les différentes conditions de traitements. Cependant, une augmentation légère de l'expression de ces marqueurs est obtenue suite au traitement par la testostérone. Ce qui nous a orienté vers le choix de ce temps pour l'analyse transcriptomique. Ce choix est d'autant plus pertinent qu'il permet de s'affranchir du pic inflammatoire observé au 3<sup>ème</sup> jour post-lésion, tout en permettant la détection des gènes responsables du recrutement des OPC dont le point culminant se situe entre le 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> jour (Feret et al. 2013). L'analyse transcriptomique des gènes issus des zones lésées après 5 jours de lésions, a mis en évidence la surexpression du gène *cxcr4* (codant pour le récepteur de chimiokine CXCR4) lors du traitement par la testostérone. Une analyse par la RT-qPCR a confirmé la surexpression de ce gène. La reproductibilité et la robustesse de ces analyses se reflètent par la surexpression du gène *mpz* ou *P0* codant pour la protéine majeure de la myéline du SNC en absence de la remyélinisation par la testostérone (condition LPC) et dont l'implication a été précédemment décrite par notre laboratoire (Bieliński et al., 2016). Sous l'effet de la testostérone, le pourcentage de marquage du CXCR4 a montré une augmentation progressive dès le 5<sup>ème</sup> jour post-lésion, jusqu'à atteindre des différences significatives entre le 15<sup>ème</sup> jour et le 30<sup>ème</sup> jour, coïncidant avec les temps de remyélinisation (MBP). Ainsi, pour la première fois, nous démontrons l'implication du gène *cxcr4* dans le processus de remyélinisation par la testostérone (T) et son récepteur AR. Un autre argument en faveur du *cxcr4* comme gène régulé par le couple T/AR est la très forte diminution d'expression de ce gène dans le SNC des souris dépourvues du AR (AR<sup>NesCre</sup>). En effet, la déplétion sélective du AR au niveau des cellules neurales murines (souris AR<sup>NesCre</sup>), montre une diminution significative de l'ARNm du CXCR4 comparée aux souris témoins (AR<sup>lox/lox</sup>), résultats obtenus lors de mes travaux de thèse. Inversement, d'autres études ont montré que l'induction du AR dans des lignées de cellules cancéreuses de la prostate (LNCaP) entraîne une augmentation de l'ARNm du *cxcr4* (Frigo et al. 2009). Ces résultats consolident l'hypothèse selon laquelle la testostérone induit la surexpression du CXCR4 via l'activation de son récepteur AR.

## II/ L'expression du CXCR4 par les astrocytes est nécessaire pour l'effet remyélinisant de la testostérone

Nous avons voulu déterminer si l'expression du gène *cxcr4* est essentielle à la restauration complète de la myéline observée après 4 semaines de traitement par la testostérone. Pour cela, nous avons



inhibé la fonction du CXCR4 lors de la remyélinisation induite par la testostérone, en utilisant l'inhibiteur spécifique du CXCR4 (AMD3100). L'analyse de l'expression du CXCR4 par immunohistochimie après 4 semaines de lésions par LPC ou LPC+T+AMD3100 chez les souris mâles castrées a montré une absence de marquage au niveau des zones lésées comparée aux souris ayant reçues un implant de testostérone. En réponse au traitement par la testostérone, les cellules exprimant CXCR4 semblent avoir migrées dans la zone démyélinisée comme le montre la diminution de son expression au niveau des bordures de la lésion et l'augmentation du marquage CXCR4 au sein de la lésion. Ainsi, l'inhibition du CXCR4 par l'AMD3100 a entraîné le blocage de la migration des cellules CXCR4+ au sein de la lésion. Le même comportement des cellules CXCR4+ a été observé en absence de testostérone. Ces éléments montrent que le comportement migratoire des cellules CXCR4+ dépend de la présence de la testostérone, dont l'effet est aboli en son absence ou lors de l'inhibition du CXCR4 par l'AMD3100. Comme mentionnée précédemment, les cellules capables de former une barrière autour de la zone démyélinisée lors d'un défaut de remyélinisation ou au contraire d'envahir cette zone lors de la réparation de la gaine de myéline sont les cellules astrocytaires (Bielecki et al. 2016). Les cellules CXCR4+ semblent avoir un comportement similaire à celui des astrocytes suggérant une expression du CXCR4 par ces dernières. Afin de confirmer cette hypothèse et d'identifier formellement le type cellulaire exprimant CXCR4, impliqué dans ce processus de remyélinisation, nous avons réalisé un double immunomarquage CXCR4+/GFAP+. Les résultats ont révélé une coexpression du marqueur GFAP (cellules astrocytaires) et du CXCR4. Nous démontrons donc pour la 1<sup>ère</sup> fois que ce sont les astrocytes qui expriment CXCR4, ce qui suggère que la migration des astrocytes, sous l'effet de la testostérone, implique la signalisation du CXCR4, puisqu'elle est inhibée par le traitement avec l'AMD3100. Par ailleurs, l'activation du CXCR4 au niveau des astrocytes implique la présence de son unique ligand endogène de type chimiokine, CXCL12. Pour cela, nous avons voulu évaluer le profil cellulaire d'expression du CXCL12 dans les lésions selon nos différentes conditions. Nos résultats montrent une augmentation significative du CXCL12 ainsi que de son comarquage avec la GFAP dans les lésions en présence de testostérone, de la même façon que le CXCR4, indiquant une signalisation autocrine de la chimiokine CXCL12 et de son récepteur CXCR4. Ces résultats sont en concordance avec les données de la littérature qui rapportent une expression de CXCL12 par les astrocytes dans des processus de remyélinisation induit dans d'autres modèles de démyélinisation notamment, l'EAE (Zilkha-Falb et al. 2016) ou dans le modèle l'ischémie cérébrale (Yaning Li et al. 2015). De plus, comme pour les astrocytes exprimant CXCR4, l'apparition des astrocytes exprimant CXCL12 au sein de la lésion est bloquée par le traitement avec l'AMD3100. Néanmoins, les comportements de CXCL12 et du CXCR4 sont différents, car contrairement au CXCR4, l'apparition du CXCL12 dans la lésion n'est pas accompagnée d'une diminution de son marquage dans la zone péri-lésionnelle suggérant ainsi l'existence d'autres sources cellulaires exprimant le CXCL12. L'identification de ces cellules nécessiterait des recherches complémentaires. Ainsi, nos résultats ont mis en évidence une régulation positive du gène *cxcr4* et de son ligand CXCL12 au niveau des astrocytes, permettant leur migration vers les zones lésées, afin de les réparer, sous l'effet de la testostérone. Ce processus est totalement inhibé en



absence de testostérone ou lors de l'inhibition du CXCL12/CXCR4 par l'AMD3100, menant à un échec de la remyélinisation. La signalisation autocrine du CXCR4 est donc nécessaire pour la stimulation de la migration des astrocytes par la testostérone démontrant ainsi, pour la première fois, une coopération entre les chimiokines et les androgènes. Les études réalisées précédemment par notre laboratoire, ont démontré le rôle clé du AR dans la signalisation et la remyélinisation par la testostérone, grâce au blocage pharmacologique ou par déplétion génétique du AR (Hussain et al. 2013; Bielecki et al., 2016; Abi Ghanem et al. 2017; Laouarem et al. 2021). Ici, nous montrons que la migration des astrocytes dans les zones lésées est dépendante du traitement par la testostérone et de l'expression du AR. De même, les astrocytes qui restent bloqués dans la zone peri-lésionnelle expriment aussi le AR, mais en absence de la testostérone, le AR reste dans le cytoplasme et ne rentre pas dans les noyaux de ces cellules. Le même processus est constaté après traitement par l'AMD3100. En effet, nous constatons non seulement le blocage de la migration des astrocytes en bordure de la lésion, mais également une absence d'expression du AR à sein de leurs noyaux. A noter que nous avons au préalable, confirmé la spécificité du marqueur AR en comparant des immunomarquages de cellules de Purkinje de souris dépourvues du AR (AR<sup>NesCre</sup>) et de souris sauvages témoins (AR<sup>lox/lox</sup>). De plus, nous retrouvons une expression du AR par les motoneurones (Neun+) à proximité des sites lésés par la LPC. Ainsi, le traitement par la testostérone permet à la fois d'augmenter le niveau d'expression du AR au sein de la lésion et sa translocation au sein des noyaux des cellules permettant la remyélinisation, et donc une signalisation active du AR neural. De manière intéressante, lors du traitement des souris mâles castrés par LPC + implant vide, on constate à la fois une diminution significative de l'expression du AR par les motoneurones, mais également une séquestration du AR dans leur cytoplasme, bien que les motoneurones soient connus pour exprimer le CXCR4 (Negro et al. 2017). La spécificité de l'immunomarquage du AR montre pour la première fois une expression du AR par les astrocytes après démyélinisation des axones et pendant le processus de remyélinisation. Jusqu'ici, le AR a été principalement localisé dans les motoneurones spinaux normaux ou affectés suite à des maladies telles que l'amyotrophie spinale et bulbaire (SBMA) (Breza and Koutsis 2019).

### III/ Gain et perte de fonction du récepteur de chimiokine CXCR4 : impact sur l'effet remyélinisant de la testostérone

Afin d'évaluer le rôle de l'expression du CXCR4 par les astrocytes ou la perte de son expression dans le processus de remyélinisation par la testostérone, nous avons, dans un premier temps, généré des souris transgéniques avec une déplétion sélective du CXCR4 dans les astrocytes grâce au système

Cre-Lox. Les mêmes expériences, décrites précédemment, ont été réalisées chez des souris mâles castrés, à savoir une démyélinisation aiguë et focale de la substance blanche ventrale par la LPC suivie d'une injection d'un implant vide ou d'un implant de testostérone. Quatre semaines après la lésion, nos résultats montrent un effondrement des marquages CXCR4, GFAP et MBP lors de la remyélinisation par la testostérone chez les souris dont les astrocytes sont dépourvues du gène *cxcr4* (souris CXCR4<sup>GFAPCre</sup>) comparé aux souris témoins CXCR4<sup>lox/lox</sup> dont les niveaux sont comparables à ceux observés lors d'une démyélinisation sans apport exogène de testostérone. Ces résultats démontrent de manière irréfutable la nécessité de l'expression du CXCR4 par les astrocytes pour leur migration dans les zones démyélinisées et la réparation de la myéline du SNC.

Inversement, nous avons souhaité évaluer les conséquences du gain de fonction du CXCR4 dans le processus de remyélinisation chez les souris surexprimant *cxcr4* (souris CXCR4<sup>+1013</sup>). Nous avons précédemment démontré que la remyélinisation du SNC par la testostérone est réalisée dès 15 jours après la lésion, c'est pourquoi nous avons effectué l'immunomarquage des protéines (MBP, GFAP et CXCR4) d'abord à 15 jours post-lésion puis et à 30 jours post-lésion. Nos résultats ont révélé que l'immunomarquage du CXCR4 dans la lésion des souris CXCR4<sup>+1013</sup> mâles castrés en absence de traitement avec la testostérone était comparable aux niveaux induits par la testostérone chez les souris sauvages, castrées. Aussi, l'ajout d'un implant de testostérone augmente encore plus le niveau de marquage du CXCR4 chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup>. Le gain de fonction du CXCR4 était suffisant, même en l'absence de T, pour la migration des astrocytes dans la lésion. En revanche, comme dans les expériences précédentes, l'apparition d'astrocytes GFAP+ dans la lésion était dépendante de la testostérone chez les souris sauvages. Cependant, nous observons une légère augmentation de l'expression de la MBP dans les sites lésés pour les souris CXCR4<sup>+1013</sup> en absence de testostérone, alors que l'ajout de l'hormone chez ces mêmes souris permet de retrouver un pourcentage de remyélinisation semblable à celui observé chez les souris Wild-type traitées par la testostérone, pendant 30 jours. Ces résultats suggèrent qu'à 15 jours après la lésion, le gain de fonction du CXCR4 permet de stimuler la migration des astrocytes au sein des zones lésées, mais n'est pas suffisant pour une remyélinisation complète dont le processus est dépendant de la synergie entre les actions de la chimiokine et l'androgène testostérone. À 30 jours post-lésion, chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup> ayant été injectées par la LPC et sans testostérone, nous retrouvons une restauration quasi complète de la myéline au sein des zones lésées. L'ensemble de ces données démontrent le rôle clé de l'hyperactivité du CXCR4 qui permet à long terme d'induire la remyélinisation indépendamment de la testostérone, néanmoins la coopération entre l'effet de la testostérone et le gain de fonction du CXCR4 contribue à l'accélération de la remyélinisation après seulement 15 jours de lésion.

Le gain de fonction du CXCR4 chez les souris CXCR4<sup>+1013</sup> permettant de mettre en évidence une accélération du processus de remyélinisation nous a conduit à caractériser le phénotype oligodendrocytaire et myélinique de ces souris, d'autant plus que la caractérisation de ces souris n'a été réalisée principalement que dans le cadre de pathologies cancéreuses. Nous avons donc procédé à des analyses histochemique et moléculaire afin d'examiner le niveau basal de la myéline ainsi que des oligodendrocytes de souris mâles adultes. Nos analyses histochemiques ont montré une augmentation du nombre d'oligodendrocytes matures (CC1+) ainsi que du pourcentage de marquage de la myéline en comparaison à des souris sauvages (**Figure 38**). Les analyses par RT-qPCR ont confirmé ces résultats, mais révèlent en plus l'augmentation significative du gène *ng2* exprimé par les OPC immatures ainsi que du marqueur de la myéline et des OL (**Figure 39**). Ces résultats démontrent pour la première fois que le gain de fonction du CXCR4 influence positivement la myélinisation du SNC des souris mâles adultes. D'autres expériences permettront de confirmer cette hypothèse notamment à un stade juvénile entre le 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour post-natal. Chez les patients, le gain de fonction du CXCR4 est associé au syndrome de WHIM dont très peu de travaux ont étudié le lien direct avec la myéline. Cependant, une étude sur les patients atteints de neuropathies démyélinisantes associées à la macroglobulinémie de Waldenström a montré que ces patients développent des lymphocytes B anti- MAG après mutation de deux gènes, dont *cxcr4*. La mutation de ce gène entraînant un gain de fonction n'est pas recensée comme un facteur génétique de prédisposition pour cette neuropathie démyélinisante (Allain et al. 2018). De plus la prévalence de cette pathologie est masculine est touchée des hommes âgés de 50 à 75 ans, susceptible de présenter une diminution des taux de testostérone associés au vieillissement (Liu et al. 2016). Ces données soutiennent notre hypothèse selon laquelle la coopération entre le gain de fonction du CXCR4 et l'action de la testostérone permettent la régénération de la myéline dans notre modèle de démyélinisation.

#### IV/ L'axe CXCR4/CXCL12 est spécifique pour l'effet remyélinisant de la testostérone aussi bien chez les souris mâles que les femelles.

Afin d'évaluer si l'axe CXCR4/CXCL12 est également requis dans le processus de remyélinisation dépendant de la testostérone, nous avons procédé à l'immunomarquage de la protéine majeure de la myéline du SNC (MBP) après 4 semaines de démyélinisation chez les souris mâles castrées et les souris femelles ovariectomisées. Nous avons démontré que le traitement par la testostérone chez les deux sexes induit à la fois une entrée complète des astrocytes dans la lésion, mais également une restauration totale de la gaine de myéline. Ainsi, nous reproduisons les résultats précédemment obtenus par notre équipe (Bielecki et al., 2016) tout en confirmant l'efficacité de la testostérone dans la restauration de la gaine de myéline autour des axones (NF200) chez les femelles ovariectomisées, aussi précédemment montré par notre équipe dans un modèle de démyélinisation

chronique (Hussain et al. 2013). En outre, il est important de noter que la réparation de la myéline (MBP) et la migration des astrocytes dans les zones en remyélinisation sont complètement inhibées par le traitement avec l'AMD3100 chez les deux sexes, ce qui appuie d'avantage l'implication d'une signalisation des androgènes et des chimiokines dans le processus de remyélinisation du SNC. La confirmation de ces résultats se reflète par nos analyses de microscopie électronique où nous observons une majorité d'axones entourés d'une fine gaine de myéline compacte après 4 semaines de traitements par la testostérone tandis que la plupart des axones provenant de souris ayant reçues un implant vide ou celles ayant été traitées par la testostérone et l'AMD3100, sont dépourvus de la gaine de myéline. Le calcul du g-ratio au niveau des lésions confirme nos observations. Par ailleurs, il est intéressant de noter la présence de gonflements mitochondriaux anormaux des axones non remyélinisés comme retrouvés chez les souris démyélinisées de manière chronique (Faizi et al. 2016) et chez les patients SEP, où l'on recense un déplacement de la mitochondrie du corps cellulaire vers l'axone en réponse à la démyélinisation afin de protéger l'axone avant la dégénérescence (Licht-Mayeret al. 2020). De plus, ce processus est également caractéristique d'une altération du transport axonal en l'absence de remyélinisation par les oligodendrocytes (Ferreirinha et al. 2004; Court and Coleman 2012).

La région lésée par la LPC, et traitée ou non par la testostérone, présente aussi l'expression d'autres marqueurs, à savoir IBA-1, marqueur de la microglie. Nos résultats complémentaires (**Figure 40**) ont démontré l'augmentation significative de la microglie IBA1+ coexprimant CXCR4+, néanmoins à des niveaux plus bas que ceux observés pour les astrocytes, au sein des zones lésées lors de la remyélinisation dont la présence témoigne de la phagocytose de débris myéliniques toxiques indispensable à ce processus (Lampron et al. 2015). De plus, les dernières données de la littérature sont cohérent avec la présence accrue de microglie capable d'établir des interactions précoces avec les nœuds de Ranvier permettant à la fois la régulation directe de la lignée des OL et indirectement la modulation du switch phénotypique de la microglie en un profil pro-régénératif (Ronzano et al. 2021). Il sera important de procéder à des analyses plus approfondies d'immunohistochimies afin de confirmer le caractère pro-régénératif de la microglie lors du traitement par la testostérone, notamment grâce à l'utilisation de marqueurs tels que l'Arg-1+, le CD206+ et l'IGF-1+ (Lloyd et al. 2019).

Il est bien établi que les hormones femelles (œstrogène et progestérone) sont, comme la testostérone, capables d'induire une remyélinisation (Crawford et al. 2010; Hussain et al., 2011; El-Etret al. 2015). Nous avons commencé par confirmer ces données en réalisant des démyélinisations de la substance blanche ventrale de souris femelles intactes. Pour la première fois, nous avons démontré, après 4 semaines de lésion, une remyélinisation spontanée et complète des sites lésés impliquant

comme chez les souris castrées une migration des astrocytes exprimant le CXCR4 (**Figure 41**). Pour approfondir ce mécanisme, nous avons d'une part démontrée que les œstrogènes induisent la remyélinisation des zones lésées des femelles ovariectomisées mais également des mâles castrés. Puis, nous avons voulu savoir si, comme pour la testostérone, l'œstrogène, nécessite l'activation du CXCR4 dont l'effet a déjà été démontré dans la régulation de l'activité de son récepteur ER (estrogen receptor) dans un modèle de cellules cancéreuses (Sauvé et al. 2009). Nos résultats montrent que le traitement par l'œstradiol suivi par l'injection de l'AMD3100 n'affecte pas la remyélinisation chez les deux sexes (**Figure 42**). Ces résultats démontrent la sélectivité du récepteur CXCR4 pour l'hormone mâle, et donc seule la testostérone permet l'activation de l'expression du CXCR4 par les astrocytes dans le processus de remyélinisation.

#### V/ Le récepteur de chimiokine CXCR4 est nécessaire pour le recrutement des OPC lors de la remyélinisation par la testostérone

La restauration de la gaine de myéline du SNC au sein d'une lésion démyélinisée nécessite le recrutement de cellules progénitrices d'oligodendrocytes (OPC) et leur différenciation en oligodendrocytes myélinisants. Pour visualiser leur migration dans la lésion de LPC, nous avons utilisé des souris transgéniques Plp-EGFP mâles et femelles castrées, exprimant la protéine fluorescente verte améliorée (eGFP) sous le contrôle du promoteur du gène de la protéine protéolipide de la myéline (PLP) dans les cellules oligodendrogiales à tous les stades de leur maturation (Mallon et al., 2002). Nos résultats révèlent que le défaut de remyélinisation s'accompagne de l'absence d'oligodendrocytes au sein des lésions chez les souris démyélinisées et traitées avec l'AMD3100. Au contraire, le traitement avec la testostérone a permis une migration significative des oligodendrocytes au sein de la lésion, probablement médiée par l'invasion de longs processus fibreux des astrocytes. En effet, ce processus a précédemment été décrit par (Sofroniew and Vinters 2010; Schirmer et al. 2014). De surcroît, nous avons constaté une augmentation du nombre de facteur de transcription Olig2+ présent tout au long du linéage oligodendrocytaire, du PDGFR $\alpha$  (marqueurs d'oligodendrocytes immatures) ainsi qu'une augmentation d'oligodendrocyte mature (marqueur CC1+) seulement chez les souris traitées par la testostérone. Par ailleurs, nous avons identifié une expression du CXCR4 au niveau des OPC présents dans les zones remyélinisées. Comme attendu, nous observons un effondrement du nombre d'oligodendrocytes matures et immatures lors du traitement par l'AMD3100. Ces résultats montrent que l'inhibition du CXCR4 empêche à la fois la migration des astrocytes supportant le recrutement et la migration des OPC, ainsi que l'inhibition de leur différenciation en oligodendrocytes myélinisants lors du traitement par la testostérone. Nos résultats sont en concordance avec ceux décrits par la littérature, montrant l'implication de l'axe CXCR4/CXCL12 dans la migration, la prolifération et la différenciation des OPC en oligodendrocytes matures (Maysami et al. 2006; Patel et al. 2010b; Banisadr et al. 2011). Ainsi, nous démontrons que la remyélinisation dans un modèle de demyélinisation par la LPC implique l'existence d'un réseau de signalisation autocrine/paracrine complexe entre les astrocytes et les oligodendrocytes régulé par la testostérone et le

récepteur de chimiokine CXCR4. Nous avons réuni d'autres preuves du rôle clé de la testostérone et du CXCR4 dans la différenciation et la migration des cellules oligodendrogiales grâce à l'utilisation d'un modèle *ex vivo* de culture organotypique de cervelets de souris plp-eGFP. Nous avons démontré après démyélinisation des tranches de cervelets, une diminution simultanée du double marquage Olig2+ et CC1+ au niveau des cellules eGFP+ et du marquage de la myéline MBP+ autour des axones des cellules de Purkinje. À noter que le triple marquage des oligodendrocytes par eGFP+, Olig2+ et CC1+ permet de s'assurer du profil immature (Olig2+) et mature (CC1+). Le traitement par la testostérone confirme nos données *in vivo* puisque l'on arrive à produire une augmentation significative du nombre d'oligodendrocytes matures coexprimant eGFP, Olig2 et CC1, comparables aux niveaux observés dans des tranches de cervelets contrôles non démyélinisées. L'augmentation des oligodendrocytes matures est accompagnée par une remyélinisation, évaluée par le marquage MBP+. Cependant, l'inhibition de la coopération entre la testostérone et CXCR4 produite par l'utilisation de l'AMD3100 induit une diminution significative des cellules eGFP+, Olig2+ et des cellules eGFP+, Olig2+ et CC1+. Ainsi, ces résultats démontrent que la testostérone stimule le recrutement des cellules oligodendrogiales et leur différenciation en oligodendrocytes matures après une démyélinisation induite par la LPC, grâce à une coopération du récepteur de chimiokine CXCR4, puisque ses effets sont inhibés par l'AMD3100. Ces expériences ont également été réalisées sur des cultures organotypiques de moelles épinières de souris où les mêmes résultats ont été obtenus.

La problématique majeure dans les processus de remyélinisation chez l'homme, repose sur le défaut de recrutement de nouveaux oligodendrocytes myélinisants nécessitant non seulement la prolifération et la différenciation de leurs progéniteurs, mais aussi leur migration dans les zones de démyélinisation. Pour évaluer si la coopération entre la testostérone et CXCR4 est également impliquée dans la migration des cellules oligodendrogiales, nous avons réalisé des cocultures de cervelets de souris sauvages à P10 (10<sup>ème</sup> jours post-natal) qui ont été démyélinisées par la LPC puis apposées à des tranches de tronc cérébral de souris nouveau-nées PLP-eGFP (P0), qui sont riches en cellules oligodendrogiales eGFP+ à ce stade de développement. Ce modèle nous permet d'établir une frontière physique entre les axones démyélinisés de cervelets et l'apport exogène de oligodendrocytes permettant de visualiser le comportement migratoire de ces cellules ainsi que leur devenir, une fois à proximité des axones démyélinisés. Le traitement par la testostérone augmente par 6 fois le nombre de cellules oligodendrogiales migrantes et les distances parcourues au-delà de 250µm de la « frontière » par celles-ci. Cependant, le traitement par l'AMD3100 entraîne la diminution de ces

processus, d'ailleurs semblables à ceux observés lors de l'administration de la LPC seule. L'ensemble de ces résultats montre que l'action simultanée de la testostérone et du CXCR4 permet l'augmentation de la migration, la prolifération et la différenciation des cellules oligodendrogiales.

#### VI/ En absence d'astrocytes et de coopération entre la testostérone et CXCR4, les cellules de Schwann migrent vers les lésions et remplacent les oligodendrocytes pour la remyélinisation

La remyélinisation par les oligodendrocytes nécessite donc la présence d'astrocytes réactifs et la coopération entre la signalisation des androgènes et du CXCR4. Il a été rapporté que les régions démyélinisées du SNC, où les astrocytes sont absents, subissent une remyélinisation axonale par les cellules de Schwann (Woodruff, 1999 ; Talbott 2005). De même, la rareté des astrocytes après une démyélinisation induite par la LPC dans la moelle épinière ventrale de la souris, résultant de l'absence de testostérone ou d'un AR non fonctionnel, conduit à une remyélinisation extensive des cellules de Schwann (Bielecki et al. 2016). Nous avons donc voulu examiner, si l'inhibition de l'action de la testostérone par l'AM3100 provoquant un défaut de remyélinisation, faisait également intervenir les cellules de Schwann. Nous avons tout d'abord reproduit les résultats précédemment décrits par notre équipe (Bielecki et al., 2016). Nous avons observé, en absence de testostérone, à la fois chez les souris mâles et femelles sauvages castrées ainsi que chez les souris mâles déplétées du AR (souris AR<sup>NesCre</sup>) une infiltration de cellules de Schwann (cellules P0+) dans les zones démyélinisées. Le blocage de la migration des cellules de Schwann est observé suite au traitement par la testostérone qui permet à la fois la migration des astrocytes vers les zones lésées, mais également la remyélinisation par les cellules myélinisantes du SNC (OL), comme précédemment démontré. Chez les souris sauvages, nos résultats montrent également, que le blocage de la migration des astrocytes par l'inhibition du CXCR4, engendre une compensation de la remyélinisation du SNC par les cellules de Schwann issus du système nerveux périphérique, avec un effet plus marqué chez la femelle. Nous démontrons donc d'une part, le rôle clé du couple formé par la testostérone et son récepteur en coopération avec le récepteur de chimiokine CXCR4 dans la migration astrocytaire indispensable au processus de remyélinisation. D'autre part, nous montrons que l'expression du CXCR4 dans les astrocytes permettraient une répulsion plus importante des cellules myélinisantes du SNC, puisque son inhibition révèle la présence d'un nombre plus élevé de cellules P0+ que celui observé chez les souris traitées par le véhicule. Pour confirmer ce résultat, nous avons réalisé un marquage du nombre de cellules P0+ chez les souris dont les astrocytes sont dépourvues de l'expression du gène CXCR4 (souris CXCR4<sup>Crelox</sup>), traitées par la testostérone. Nous retrouvons un nombre similaire de cellules P0+ que celui observé chez les souris sauvages traitées par l'AMD3100. Nous démontrons encore une fois la concordance entre la déplétion des astrocytes en CXCR4 et son inhibition pharmacologique par l'AMD3100 dans le recrutement des cellules de Schwann dans les lésions par la LPC.



Par ailleurs, bien que la remyélinisation du SNC par les cellules de Schwann fait l'objet d'un débat concernant l'origine de ces cellules (périphérique ou centrale), nous avons remarqué de manière intéressante grâce aux immunohistochimies et aux analyses de microscopie électronique que ces dernières ont migré depuis les racines nerveuses spinales ventrales voisines de la lésion comme évoqué dans la littérature dans un modèle de démyélinisation de la corne dorsale (Ulanska-Poutanen et al. 2018; Abellanas et al. 2019). Par ailleurs, la présence des astrocytes lors de la remyélinisation empêche la migration des cellules de Schwann, probablement via un remodelage de la matrice extracellulaire (O'Neill et al. 2017) et/ou la sécrétion de protéines d'éphrines (Afshari, Kwok, and Fawcett 2010). Cependant d'autres expérimentations devraient être réalisées, notamment par l'utilisation de doubles marquages des cellules de Schwann précurseurs (EGR2 et/ou krox20) et matures (P0+) associés à un marquage de migration (Ki67). L'utilisation de souris Krox20Cre croisées avec les souris R26Tomato (en collaboration avec le Pr Piotr Topilko de l'U955 Inserm – Université de Paris Est Créteil) permettrait d'identifier l'origine de migration des cellules de Schwann lors d'un défaut de remyélinisation et de confirmer ou non les données de la littérature décrivant leur présence dans les premières étapes de réparation (Zawadzka et al. 2010b; Assinck et al. 2017).

Ainsi, nous avons démontré pour la première fois le mécanisme d'action de la testostérone et son récepteur AR dans le processus de remyélinisation, en révélant la nécessité absolue de la migration des astrocytes, exprimant CXCR4. De plus, nous avons démontré qu'un défaut de remyélinisation provoqué par l'absence de l'expression astrocytaire du CXCR4 entraîne l'apparition de cellules remyélinisantes du système nerveux périphérique, les cellules de Schwann.

#### VII/ Etude translationnelle montrant une corrélation d'expression du AR et du CXCR4 par les astrocytes en péri-lésions des échantillons SEP

L'étude translationnelle a été réalisée par une analyse d'immunomarquage du CXCR4, AR, MBP, GFAP et P0 sur des sections de moelles épinières humaines autopsiées, provenant de 5 hommes et 5 femmes atteints de sclérose en plaques (SEP) secondaire progressive (SP) ou primaire progressive (PP). L'analyse immunohistochimique a été réalisée au centre et à la bordure (RIM) des lésions actives et mixtes actives/inactives (actives chroniques) ainsi que dans la substance blanche d'apparence normale (NAWM). Nous avons observé un immunomarquage très faible de la MBP au centre des lésions de SEP et plus élevé dans la NAWM que dans la bordure. L'immunofluorescence du CXCR4 présentait un schéma très similaire à celui de la MBP, ce qui se reflète par un chevauchement des immunomarquages de la MBP et du CXCR4 dans de grandes parties du NAWM ainsi qu'en bordure des lésions. De plus, de manière intéressante, le marquage du CXCR4 était plus élevé au niveau des plaques remyélinisées que dans les centres pauvres en myéline des lésions de SEP actives, mixtes actives/inactives ou inactives.

Ces données concordent avec celles observées chez la souris où la présence du marquage du CXCR4 au niveau des zones démyélinisées est située en bordure, mais elle est absente au centre. Le marquage GFAP est faible aux centres des lésions SEP, pauvres en myéline, mais plus élevée dans les zones péri-lésionnelles, où la coloration GFAP est même significativement plus élevée que dans le NAWM, comme déjà décrit dans la littérature (Ponath et al. 2017; Brosnan and Raine 2013; Prineas and Lee 2019). Il est important de noter que les immunoréactivités du CXCR4 et de la GFAP colocalisent dans le pourtour des lésions de SEP avec une absence dans les zones lésées, indiquant que l'expression du CXCR4 est liée aux astrocytes réactifs entourant les zones de démyélinisation, comme retrouvé chez la souris. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par (Moll et al. 2009) où l'accumulation du CXCR4 est plus importante au niveau des bordures des zones qu'au niveau de la NAWM et du centre de la lésion du cerveau de patients post mortem. Toutefois, l'étude met en évidence la forte co-expression du CXCR4 avec les cellules microgliales, mais n'exclue pas l'expression du CXCR4 par les astrocytes. Il est important de noter que nous n'avons pas remarqué de différence des expressions du CXCR4 chez les deux sexes c'est pourquoi nous avons rassembler nos résultats en un seul graphique. La quantification des astrocytes GFAP+ au niveau de la bordure de la lésion a également montré une coexpression du AR, ce qui est cohérent avec la signalisation coopérative des androgènes et des chimiokines dans la zone périlésionnelle contenant la myéline MBP. De manière surprenante, on retrouve une augmentation progressive du AR de la zone périlésionnelle vers la NAWM avec une augmentation significative du AR, chez les hommes, dans la région proche de la lésion (RIM). Ces données suggèrent l'importance de la proximité du AR exprimé par les cellules astrocytaires dans la région RIM. Nos résultats confirment ceux de (Luchetti et al. 2014) qui montrent une coexpression des astrocytes et du AR au niveau des zones RIM. Cependant, contrairement à nos travaux, les auteurs n'ont pas noté de différences significatives entre les hommes et les femmes de l'expression du AR dans cette même zone. Par ailleurs, il est bien établi que les hormones et notamment la testostérone joue un rôle dans la maladie de la SEP. En effet, de faibles niveaux de testostérone sont reportés chez les deux sexes (Téllez et al. 2006; Chitnis 2018) et chez les femmes atteintes de SEP. Ces niveaux sont associés à des lésions tissulaires révélées par l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et accompagnées d'un handicap clinique (Tomassini et al. 2005). Par ailleurs, dans les lésions de SEP dépourvues de MBP, une infiltration de cellules de Schwann P0+ (MPZ) a été observée. Le comarquage GFAP/CXCR4/MPZ dans les zones péri-lésionnelles de la SEP a montré que l'immunomarquage GFAP+/CXCR4+ était exclusif de l'immunomarquage P0+. De même, les marquages GFAP+/AR+ et MPZ+ ne se chevauchaient pas. Ainsi, comme dans les lésions de démyélinisation de la moelle épinière de la souris, la présence d'astrocytes exprimant CXCR4 et AR semble s'opposer à l'arrivée de cellules de Schwann P0+ dans les lésions de SEP, provenant très probablement des racines spinales proches des lésions. Nos résultats vont dans le même sens que des études ayant rapporté la présence de

cellules de Schwann dans des lésions de la moelle épinière de patients SEP en absence d'astrocytes (Itoyama et al. 1985; Yamamoto et al. 1991). Des marquages complémentaires, sont à réaliser afin d'identifier l'expression du ligand de CXCL12 afin de confirmer son expression astrocytaire près du bord de la lésion comme démontré par (Calderon et al. 2006). L'accumulation du CXCL12 dans les liquides céphalorachidiens des patients SEP et plus particulièrement dans les plasmocytes qui sont issus de la population des lymphocytes B (Pashenkov, Söderström, and Link 2003; Corcione et al. 2004). De plus, l'absence de marquage CXCR4 au sein des lésions suggère que la signalisation de CXCL12 serait détournée vers son autre récepteur ACKR3. En effet, ACKR3 est exprimé par les astrocytes (Fumagalli et al. 2020) et les lymphocytes B peut piéger (récepteur leurre) le CXCL12, ce qui conduit à une inhibition de la signalisation du CXCR4 (Singh et al. 2013). De ce fait, le gradient de CXCL12 pourrait être affecté ce qui pourrait se traduire par un défaut de migration et, par conséquent un échec de la remyélinisation des plaques. Ainsi, l'axe CXCR4/CXCL12 représente une cible de la stratégie thérapeutique potentielle de la SEP.

## XI. Conclusion/perspectives

Au cours de ma thèse, j'ai démontré le rôle clé du récepteur de chimiokine CXCR4 dans la remyélinisation par la testostérone. Nous démontrons pour la première fois, la nécessité de l'expression du CXCR4 et du AR par les astrocytes afin de peupler les zones démyélinisées permettant la stimulation de la migration et la différenciation des OPC indispensables à la réparation de la gaine de myéline. Nos travaux sont d'autant plus importants qu'ils sont confirmés chez l'humain, malade de SEP. Nous apportons donc de nouvelles pistes dans la compréhension du défaut de remyélinisation permettant d'ouvrir de nouvelles méthodes de diagnostic de la SEP en utilisant par exemple le PET scan ciblant le CXCR4. En effet, cette technologie est déjà utilisée et montre des résultats prometteurs notamment dans la détection des lymphomes à cellules B du système nerveux central (Herhaus et al. 2020). Nous pourrions également proposer l'administration d'analogue de CXCL12 afin de stimuler l'expression du CXCR4. En effet, le CTCE-0214, un peptide modifié de CXCL12, est le seul analogue antagoniste du CXCR4 dont l'utilisation a montré une stabilité plasmatique (Fan et al. 2010).

Par ailleurs, il serait judicieux de poursuivre nos travaux chez la souris afin d'aller plus loin dans la compréhension du mécanisme d'action de la T et de son synergisme avec la signalisation du CXCR4. Les voies de signalisation en aval de l'activation du CXCR4 sont connues et font intervenir notamment les MAPK, c'est pourquoi, *ex-vivo* et *in vivo*, il serait intéressant de réaliser des démyélinisations par la LPC, suivie d'un traitement par la testostérone et d'une administration d'inhibiteur sélective des kinases tels que la protéine ERK1/2. D'autres part, il serait intéressant de générer des souris transgéniques déplétées du gène AR au niveau des astrocytes (système CreLox) afin d'évaluer la migration de ces dernières lors de la remyélinisation par la testostérone. Finalement, la caractérisation des souris CXCR4<sup>GFAPCre</sup> que nous avons généré lors de notre étude sera effectuée d'un point de vue microscopique afin d'analyser la caractérisation des cellules gliales et neuronales, mais également au niveau macroscopique avec la réalisation de tests comportementaux.

De même, pour les échantillons SEP post-mortem il serait intéressant de caractériser les différents marqueurs d'OPC et d'oligodendrocytes afin d'étudier un éventuel dimorphisme sexuel.

## Bibliographie

Abellanas, Miguel Angel, Marta Zamarbide, Leyre Basurco, et al. 2019 Midbrain Microglia Mediate a Specific Immunosuppressive

Allen, Nicola J., and David A. Lyons

2018 Glia as Architects of Central Nervous System Formation and Function. *Science (New York, N.Y.)* 362(6411): 181–185.

Arakane, Futoshi, Teruo Sugawara, Hideaki Nishino, et al.

1996 Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) Retains Activity in the Absence of Its Mitochondrial Import Sequence: Implications for the Mechanism of StAR Action. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93(24). *Proceedings of the National Academy of Sciences*: 13731–13736.

Arevalo, Maria-Angeles, Iñigo Azcoitia, and Luis M. Garcia-Segura

2015 The Neuroprotective Actions of Oestradiol and Oestrogen Receptors. *Nature Reviews Neuroscience* 16(1). Nature Publishing Group: 17–29.

Bachelierie, Françoise, Gerard J. Graham, Massimo Locati, et al.

2014 New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Nature Immunology* 15(3): 207–208.

Baerwald, K. D., and B. Popko

1998 Developing and Mature Oligodendrocytes Respond Differently to the Immune Cytokine Interferon-Gamma. *Journal of Neuroscience Research* 52(2): 230–239.

Banisadr, Ghazal, Joseph R. Podojil, Stephen D. Miller, and Richard J. Miller

2016 Pattern of CXCR7 Gene Expression in Mouse Brain Under Normal and Inflammatory Conditions. *Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology* 11(1): 26–35.

Baulieu, E. E.

1997 Neurosteroids: Of the Nervous System, by the Nervous System, for the Nervous System. *Recent Progress in Hormone Research* 52: 1–32.

Baumann, N., and D. Pham-Dinh

2001 Biology of Oligodendrocyte and Myelin in the Mammalian Central Nervous System. *Physiological Reviews* 81(2): 871–927.

Bielecki, Bartosz, Claudia Mattern, Abdel M. Ghoumari, et al.

2016 Unexpected Central Role of the Androgen Receptor in the Spontaneous Regeneration of Myelin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(51): 14829–14834.

Blakemore, W. F.

1976 Invasion of Schwann Cells into the Spinal Cord of the Rat Following Local Injections of Lysolecithin. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 2(1): 21–39.

Blakemore, W. F., and R. J. M. Franklin

2008 Remyelination in Experimental Models of Toxin-Induced Demyelination. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 318: 193–212.

Blakemore, William F., Jennifer M. Gilson, and A. John Crang

2003 The Presence of Astrocytes in Areas of Demyelination Influences Remyelination Following Transplantation of Oligodendrocyte Progenitors. *Experimental Neurology* 184(2): 955–963.

Blight, A. R., and W. Young

1989 Central Axons in Injured Cat Spinal Cord Recover Electrophysiological Function Following Remyelination by Schwann Cells. *Journal of the Neurological Sciences* 91(1–2): 15–34.

Bonora, M., E. De Marchi, S. Patergnani, et al.

2014 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Impairs Oligodendroglial Differentiation through a Mitochondria-Dependent Process. *Cell Death and Differentiation* 21(8): 1198–1208.

Braun, P. E., F. Sandillon, A. Edwards, J. M. Matthieu, and A. Privat

1988 Immunocytochemical Localization by Electron Microscopy of 2'3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase in Developing Oligodendrocytes of Normal and Mutant Brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 8(8): 3057–3066.

Butzkueven, Helmut, Jian-Guo Zhang, Merja Soilu-Hanninen, et al.

2002 LIF Receptor Signaling Limits Immune-Mediated Demyelination by Enhancing Oligodendrocyte Survival. *Nature Medicine* 8(6): 613–619.

Cai, Jun, Yingchuan Qi, Xuemei Hu, et al.

2005 Generation of Oligodendrocyte Precursor Cells from Mouse Dorsal Spinal Cord Independent of Nkx6 Regulation and Shh Signaling. *Neuron* 45(1): 41–53.

de Castro, Fernando, Ana Bribián, and Maria Cristina Ortega

2013 Regulation of Oligodendrocyte Precursor Migration during Development, in Adulthood and in Pathology. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 70(22): 4355–4368.

Christopherson, Kent W., Giao Hangoc, and Hal E. Broxmeyer

2002 Cell Surface Peptidase CD26/Dipeptidylpeptidase IV Regulates CXCL12/Stromal Cell-Derived Factor-1 Alpha-Mediated Chemotaxis of Human Cord Blood CD34+ Progenitor Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 169(12): 7000–7008.

Clercq, Erik De

2019 Mozobil® (Plerixafor, AMD3100), 10 Years after Its Approval by the US Food and Drug

Administration. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy* 27. SAGE Publications.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6379795/>, accessed November 9, 2022.

Cruz-Orengo, Lillian, David W. Holman, Denise Dorsey, et al.  
2011 CXCR7 Influences Leukocyte Entry into the CNS Parenchyma by Controlling Abluminal CXCL12 Abundance during Autoimmunity. *The Journal of Experimental Medicine* 208(2): 327–339.

Dawson, Mary R. L., Annabella Polito, Joel M. Levine, and Richard Reynolds  
2003 NG2-Expressing Glial Progenitor Cells: An Abundant and Widespread Population of Cycling Cells in the Adult Rat CNS. *Molecular and Cellular Neurosciences* 24(2): 476–488.

Dean, Laura  
2005 The Duffy Blood Group. *Blood Groups and Red Cell Antigens* [Internet]. National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2271/>, accessed October 9, 2022.

Dimou, Leda, Christiane Simon, Frank Kirchhoff, Hirohide Takebayashi, and Magdalena Götz  
2008 Progeny of Olig2-Expressing Progenitors in the Gray and White Matter of the Adult Mouse Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience* 28(41). Society for Neuroscience: 10434–10442.

Emery, Ben  
2010 Regulation of Oligodendrocyte Differentiation and Myelination. *Science (New York, N.Y.)* 330(6005): 779–782.

Fancy, Stephen P. J., Sergio E. Baranzini, Chao Zhao, et al.  
2009 Dysregulation of the Wnt Pathway Inhibits Timely Myelination and Remyelination in the Mammalian CNS. *Genes & Development* 23(13): 1571–1585.

Fancy, Stephen P. J., Chao Zhao, and Robin J. M. Franklin  
2004 Increased Expression of Nkx2.2 and Olig2 Identifies Reactive Oligodendrocyte Progenitor Cells Responding to Demyelination in the Adult CNS. *Molecular and Cellular Neurosciences* 27(3): 247–254.

Fogarty, Matthew, William D. Richardson, and Nicoletta Kessar  
2005 A Subset of Oligodendrocytes Generated from Radial Glia in the Dorsal Spinal Cord. *Development (Cambridge, England)* 132(8): 1951–1959.

Franklin, R. J., and W. F. Blakemore  
1993 Requirements for Schwann Cell Migration within CNS Environments: A Viewpoint. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 11(5): 641–649.

Franklin, Robin J. M., and Charles Ffrench-Constant  
2017 Regenerating CNS Myelin - from Mechanisms to Experimental Medicines. *Nature Reviews. Neuroscience* 18(12): 753–769.

Fu, Hui, Jun Cai, Hans Clevers, et al.  
2009 A Genome-Wide Screen for Spatially Restricted Expression Patterns Identifies Transcription



Factors That Regulate Glial Development. *Journal of Neuroscience* 29(36). Society for Neuroscience: 11399–11408.

Fumagalli, Amos, Joyce Heuninck, Anne Pizzoccaro, et al.  
2020 The Atypical Chemokine Receptor 3 Interacts with Connexin 43 Inhibiting Astrocytic Gap Junctional Intercellular Communication. *Nature Communications* 11(1): 4855.

Gallego, Carmen, Mathias Vétillard, Joseph Calmette, et al.  
2021 CXCR4 Signaling Controls Dendritic Cell Location and Activation at Steady State and in Inflammation. *Blood* 137(20): 2770–2784.

Gerrits, Han, Dorette S. van Ingen Schenau, Nicole E. C. Bakker, et al.  
2008 Early Postnatal Lethality and Cardiovascular Defects in CXCR7-Deficient Mice. *Genesis (New York, N.Y.: 2000)* 46(5): 235–245.

Goascogne, C., M. Gouézou, P. Robel, et al.  
1989 The Cholesterol Side-Chain Cleavage Complex in Human Brain White Matter. *Journal of Neuroendocrinology* 1(3): 153–156.

Graham, G. J., M. Locati, A. Mantovani, A. Rot, and M. Thelen  
2012 The Biochemistry and Biology of the Atypical Chemokine Receptors. *Immunology Letters* 145(1–2): 30–38.

Guo, Shenrui, Hui Wang, and Yafu Yin  
2022 Microglia Polarization From M1 to M2 in Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience* 14: 815347.

Hertz, Leif  
2014 Book Review: “Glial Physiology and Pathophysiology” by Alexei Verkhratsky and Arthur Butt, Wiley-Blackwell, 2013. *Frontiers in Systems Neuroscience* 8: 17.

Hill, Robert A., Kiran D. Patel, Jelena Medved, Alex M. Reiss, and Akiko Nishiyama  
2013 NG2 Cells in White Matter but Not Gray Matter Proliferate in Response to PDGF. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33(36): 14558–14566.

Hortega, Pío del Río  
1921 El tercer elemento de los centros nerviosos: Histogénesis y evolución normal ; Éxodo y distribución regional de la microglía. Museo Nacional de Ciencias Naturales.

Hu, Qi-Dong, Beng-Ti Ang, Meliha Karsak, et al.  
2003 F3/Contactin Acts as a Functional Ligand for Notch during Oligodendrocyte Maturation. *Cell* 115(2): 163–175.

Janssens, Rik, Sofie Struyf, and Paul Proost  
2018 The Unique Structural and Functional Features of CXCL12. *Cellular and Molecular Immunology* 15(4): 299–311.

Kamen, Yasmine, Helena Pivonkova, Kimberley A. Evans, and Ragnhildur T. Káradóttir

2022 A Matter of State: Diversity in Oligodendrocyte Lineage Cells. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry* 28(2): 144–162.

Kessarlis, Nicoletta, Matthew Fogarty, Palma Iannarelli, et al.

2006 Competing Waves of Oligodendrocytes in the Forebrain and Postnatal Elimination of an Embryonic Lineage. *Nature Neuroscience* 9(2): 173–179.

Ketelslegers, Immy A., Daniëlle E. Van Pelt, Susanne Bryde, et al.

2015 Anti-MOG Antibodies Plead against MS Diagnosis in an Acquired Demyelinating Syndromes Cohort. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 21(12): 1513–1520.

Labombarda, F., A. Pianos, P. Liere, et al.

2006 Injury Elicited Increase in Spinal Cord Neurosteroid Content Analyzed by Gas Chromatography Mass Spectrometry. *Endocrinology* 147(4): 1847–1859.

Lachapelle, F., M. Gumpel, M. Baulac, et al.

1983 Transplantation of CNS Fragments into the Brain of Shiverer Mutant Mice: Extensive Myelination by Implanted Oligodendrocytes. I. Immunohistochemical Studies. *Developmental Neuroscience* 6(6): 325–334.

Lentferink, Dennis H., Jacomien M. Jongsma, Inge Werkman, and Wia Baron

2018 Grey Matter OPCs Are Less Mature and Less Sensitive to IFN $\gamma$  than White Matter OPCs: Consequences for Remyelination. *Scientific Reports* 8(1): 2113.

Levine, J. M., R. Reynolds, and J. W. Fawcett

2001 The Oligodendrocyte Precursor Cell in Health and Disease. *Trends in Neurosciences* 24(1): 39–47.

Liere, Philippe, Antoine Pianos, Bernard Eychenne, et al.

2009 Analysis of Pregnenolone and Dehydroepiandrosterone in Rodent Brain: Cholesterol Autoxidation Is the Key. *Journal of Lipid Research* 50(12): 2430–2444.

Lohrberg, Melanie, Anne Winkler, Jonas Franz, et al.

2020 Lack of Astrocytes Hinders Parenchymal Oligodendrocyte Precursor Cells from Reaching a Myelinating State in Osmolyte-Induced Demyelination. *Acta Neuropathologica Communications* 8(1): 224.

Maro, Géraldine S., Matthieu Vermeren, Octavian Voiculescu, et al.

2004 Neural Crest Boundary Cap Cells Constitute a Source of Neuronal and Glial Cells of the PNS. *Nature Neuroscience* 7(9). Nature Publishing Group: 930–938.

Marques, Sueli, Amit Zeisel, Simone Codeluppi, et al.

2016 Oligodendrocyte Heterogeneity in the Mouse Juvenile and Adult Central Nervous System. *Science (New York, N.Y.)* 352(6291): 1326–1329.

McDermott, Kieran W, Denis S Barry, and Siobhan S McMahon

2005 Role of Radial Glia in Cytogenesis, Patterning and Boundary Formation in the Developing Spinal Cord. *Journal of Anatomy* 207(3): 241–250.

- McQuibban, G. A., G. S. Butler, J. H. Gong, et al.  
2001 Matrix Metalloproteinase Activity Inactivates the CXC Chemokine Stromal Cell-Derived Factor-1. *The Journal of Biological Chemistry* 276(47): 43503–43508.
- Mergenthaler, Philipp, Ute Lindauer, Gerald A. Dienel, and Andreas Meisel  
2013 Sugar for the Brain: The Role of Glucose in Physiological and Pathological Brain Function. *Trends in Neurosciences* 36(10): 587–597.
- Mi, Sha, Bing Hu, Kyungmin Hahm, et al.  
2007 LINGO-1 Antagonist Promotes Spinal Cord Remyelination and Axonal Integrity in MOG-Induced Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Nature Medicine* 13(10): 1228–1233.
- Mi, Sha, Robert H. Miller, Xinhua Lee, et al.  
2005 LINGO-1 Negatively Regulates Myelination by Oligodendrocytes. *Nature Neuroscience* 8(6):745–751.
- Miller, R. H., J. Payne, L. Milner, H. Zhang, and D. M. Orentas  
1997 Spinal Cord Oligodendrocytes Develop from a Limited Number of Migratory Highly Proliferative Precursors. *Journal of Neuroscience Research* 50(2): 157–168.
- Miyamoto, Nobukazu, Takakuni Maki, Akihiro Shindo, et al.  
2015 Astrocytes Promote Oligodendrogenesis after White Matter Damage via Brain-Derived Neurotrophic Factor. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 35(41): 14002–14008.
- Nash, Bisma, Kalliopi Ioannidou, and Susan C. Barnett  
2011 Astrocyte Phenotypes and Their Relationship to Myelination. *Journal of Anatomy* 219(1): 44–52.
- Naumann, Ulrike, Elisabetta Cameroni, Monika Pruenster, et al.  
2010 CXCR7 Functions as a Scavenger for CXCL12 and CXCL11. *PloS One* 5(2): e9175.
- Nawaz, Schanila, Paula Sánchez, Sebastian Schmitt, et al.  
2015 Actin Filament Turnover Drives Leading Edge Growth during Myelin Sheath Formation in the Central Nervous System. *Developmental Cell* 34(2): 139–151.
- Nibbs, Robert J. B., and Gerard J. Graham  
2013 Immune Regulation by Atypical Chemokine Receptors. *Nature Reviews. Immunology* 13(11): 815–829.
- Niu, Jianqin, Hui-Hsin Tsai, Kimberly K. Hoi, et al.  
2019 Aberrant Oligodendroglial-Vascular Interactions Disrupt the Blood-Brain Barrier, Triggering CNS Inflammation. *Nature Neuroscience* 22(5): 709–718.
- Orentas, D. M., J. E. Hayes, K. L. Dyer, and R. H. Miller  
1999 Sonic Hedgehog Signaling Is Required during the Appearance of Spinal Cord Oligodendrocyte Precursors. *Development (Cambridge, England)* 126(11): 2419–2429.

Ottum, Payton A., Gabriel Arellano, Lilian I. Reyes, Mirentxu Iruretagoyena, and Rodrigo Naves  
2015 Opposing Roles of Interferon-Gamma on Cells of the Central Nervous System in Autoimmune Neuroinflammation. *Frontiers in Immunology* 6.

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00539>, accessed August 8, 2022.

Papadopoulos, Vassilios, Yasaman Aghazadeh, Jinjiang Fan, et al.  
2015 Translocator Protein-Mediated Pharmacology of Cholesterol Transport and Steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 408. Sixteenth Conference on the Adrenal Cortex (Adrenal 2014): 90–98.

Pouzol, Laetitia, Nadège Baumlin, Anna Sassi, et al.  
2021 ACT-1004-1239, a First-in-Class CXCR7 Antagonist with Both Immunomodulatory and Promyelinating Effects for the Treatment of Inflammatory Demyelinating Diseases. *The FASEB Journal* 35(3): e21431.

Puchert, Malte, Fabian Pelkner, Gregor Stein, et al.  
2017 Astrocytic Expression of the CXCL12 Receptor, CXCR7/ACKR3 Is a Hallmark of the Diseased, but Not Developing CNS. *Molecular and Cellular Neurosciences* 85: 105–118.

Ranger, Ann, Soma Ray, Suzanne Szak, et al.  
2017 Anti-LINGO-1 Has No Detectable Immunomodulatory Effects in Preclinical and Phase 1 Studies. *Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation* 5(1): e417.

Rivers, Leanne E., Kaylene M. Young, Matteo Rizzi, et al.  
2008 PDGFRA/NG2 Glia Generate Myelinating Oligodendrocytes and Piriform Projection Neurons in Adult Mice. *Nature Neuroscience* 11(12): 1392–1401.

Rowitch, David H., and Arnold R. Kriegstein  
2010 Developmental Genetics of Vertebrate Glial–Cell Specification. *Nature* 468(7321). Nature Publishing Group: 214–222.

Sierro, Frederic, Christine Biben, Laura Martínez-Muñoz, et al.  
2007 Disrupted Cardiac Development but Normal Hematopoiesis in Mice Deficient in the Second CXCL12/SDF-1 Receptor, CXCR7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(37): 14759–14764.

Simons, Mikael, and Klaus-Armin Nave  
2016 Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 8(1): a020479.

Sommer, I., and M. Schachner  
1981 Monoclonal Antibodies (O1 to O4) to Oligodendrocyte Cell Surfaces: An Immunocytological Study in the Central Nervous System. *Developmental Biology* 83(2): 311–327.

Spitzer, Sonia Olivia, Sergey Sitnikov, Yasmine Kamen, et al.  
2019 Oligodendrocyte Progenitor Cells Become Regionally Diverse and Heterogeneous with Age. *Neuron* 101(3): 459-471.e5.

- Talbott, Jason F., David N. Loy, Ying Liu, et al.  
2005 Endogenous Nkx2.2+/Olig2+ Oligodendrocyte Precursor Cells Fail to Remyelinate the Demyelinated Adult Rat Spinal Cord in the Absence of Astrocytes. *Experimental Neurology* 192(1):11–24.
- Tassone, Laura, Daniele Moratto, William Vermi, et al.  
2010 Defect of Plasmacytoid Dendritic Cells in Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections, Myelokathexis (WHIM) Syndrome Patients. *Blood* 116(23): 4870–4873.
- Thelen, Marcus, and Sylvia Thelen  
2008 CXCR7, CXCR4 and CXCL12: An Eccentric Trio? *Journal of Neuroimmunology* 198(1–2): 9–13.
- van Tilborg, Erik, Caroline G. M. de Theije, Maurik van Hal, et al.  
2018 Origin and Dynamics of Oligodendrocytes in the Developing Brain: Implications for Perinatal White Matter Injury. *Glia* 66(2): 221–238.
- Trapp, B. D., L. Bernier, S. B. Andrews, and D. R. Colman  
1988 Cellular and Subcellular Distribution of 2',3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase and Its mRNA in the Rat Central Nervous System. *Journal of Neurochemistry* 51(3): 859–868.
- Tsai, Hui-Hsin, Jianqin Niu, Roeben Munji, et al.  
2016 Oligodendrocyte Precursors Migrate along Vasculature in the Developing Nervous System. *Science (New York, N.Y.)* 351(6271): 379–384.
- Watzka, M., F. Bidlingmaier, J. Schramm, D. Klingmüller, and B. Stoffel-Wagner  
1999 Sex- and Age-Specific Differences in Human Brain CYP11A1 mRNA Expression. *Journal of Neuroendocrinology* 11(12): 901–905.
- Williams, Jessica L., Sindhu Manivasagam, Brandon C. Smith, et al.  
2020 Astrocyte-T Cell Crosstalk Regulates Region-Specific Neuroinflammation. *Glia* 68(7): 1361–1374.
- Williams, Jessica L., Jigisha R. Patel, Brian P. Daniels, and Robyn S. Klein  
2014a Targeting CXCR7/ACKR3 as a Therapeutic Strategy to Promote Remyelination in the Adult Central Nervous System. *The Journal of Experimental Medicine* 211(5): 791–799.  
2014b Targeting CXCR7/ACKR3 as a Therapeutic Strategy to Promote Remyelination in the Adult Central Nervous System. *Journal of Experimental Medicine* 211(5): 791–799.
- Yu, Sangho, Dianna Crawford, Takatoshi Tsuchihashi, Timothy W. Behrens, and Deepak Srivastava  
2011 The Chemokine Receptor CXCR7 Functions to Regulate Cardiac Valve Remodeling. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists* 240(2): 384–393.
- Zawadzka, Malgorzata, Leanne E. Rivers, Stephen P. J. Fancy, et al.  
2010 CNS-Resident Glial Progenitor/Stem Cells Produce Schwann Cells as Well as Oligodendrocytes during Repair of CNS Demyelination. *Cell Stem Cell* 6(6): 578–590.

- Zhu, Qiang, Scott R. Whittemore, William H. Devries, et al. 2011 Dorsally-Derived Oligodendrocytes in the Spinal Cord Contribute to Axonal Myelination during Development and Remyelination Following Focal Demyelination. *Glia* 59(11): 1612–1621.
- Zhu, Xiaoqin, Dwight E. Bergles, and Akiko Nishiyama 2008 NG2 Cells Generate Both Oligodendrocytes and Gray Matter Astrocytes. *Development (Cambridge, England)* 135(1): 145–157.
- Zuchero, J. Bradley, Meng-Meng Fu, Steven A. Sloan, et al. 2015 CNS Myelin Wrapping Is Driven by Actin Disassembly. *Developmental Cell* 34(2): 152–167. under Inflammatory Conditions. *Journal of Neuroinflammation* 16(1): 233.
- Abi Ghanem, Charly, Cindy Degerny, Rashad Hussain, et al. 2017 Long-Lasting Masculinizing Effects of Postnatal Androgens on Myelin Governed by the Brain Androgen Receptor. *PLoS Genetics* 13(11): e1007049.
- Acs, P., M. A. Selak, S. Komoly, and B. Kalman. 2013 Distribution of Oligodendrocyte Loss and Mitochondrial Toxicity in the Cuprizone-Induced Experimental Demyelination Model. *Journal of Neuroimmunology* 262(1–2): 128–131.
- Afshari, Fardad T., Jessica C. Kwok, and James W. Fawcett. 2010 Astrocyte-Produced Ephrins Inhibit Schwann Cell Migration via VAV2 Signaling. *The Journal of Neuroscience* 30(12): 4246–4255.
- Aggarwal, Shweta, Nicolas Snaidero, Gesa Pähler, et al. 2013 Myelin Membrane Assembly Is Driven by a Phase Transition of Myelin Basic Proteins into a Cohesive Protein Meshwork. *PLoS Biology* 11(6): e1001577.
- Aggarwal, Shweta, Larisa Yurlova, and Mikael Simons. 2011 Central Nervous System Myelin: Structure, Synthesis and Assembly. *Trends in Cell Biology* 21(10). Elsevier: 585–593.
- Aguzzi, Adriano, Ben A. Barres, and Mariko L. Bennett. 2013 Microglia: Scapegoat, Saboteur, or Something Else? *Science (New York, N.Y.)* 339(6116): 156–161.
- Ahlbom, Eva, Gail S. Prins, and Sandra Ceccatelli. 2001 Testosterone Protects Cerebellar Granule Cells from Oxidative Stress-Induced Cell Death through a Receptor Mediated Mechanism. *Brain Research* 892(2): 255–262.
- Ahmed, Zubair, Daniel Fulton, and Michael R. Douglas. 2020 Opicinumab: Is It a Potential Treatment for Multiple Sclerosis? *Annals of Translational Medicine* 8(14): 892.
- Ahn, Hak Jun, Soon Young Hwang, Ngoc Hoan Nguyen, et al. 2019 Radiation-Induced CXCL12 Upregulation via Histone Modification at the Promoter in the Tumor Microenvironment of Hepatocellular Carcinoma. *Molecules and Cells* 42(7): 530–545.
- Ai, Li-Shaung, and Fang Liao. 2002 Mutating the Four Extracellular Cysteines in the Chemokine Receptor CCR6 Reveals Their Differing Roles in Receptor Trafficking, Ligand Binding, and Signaling. *Biochemistry* 41(26): 8332–8341.

Aiuti, A., I.J. Webb, C. Bleul, T. Springer, and J.C. Gutierrez-Ramos. 1997 The Chemokine SDF-1 Is a Chemoattractant for Human CD34+ Hematopoietic Progenitor Cells and Provides a New Mechanism to Explain the Mobilization of CD34+ Progenitors to Peripheral Blood. *The Journal of Experimental Medicine* 185(1): 111–120.

Alaamery, Manal, Nour Albeshir, Nora Aljawini, et al. 2021 Role of Sphingolipid Metabolism in Neurodegeneration. *Journal of Neurochemistry* 158(1): 25–35.

Ali, Meser M., Sanath Kumar, Adarsh Shankar, et al. 2013 Effects of Tyrosine Kinase Inhibitors and CXCR4 Antagonist on Tumor Growth and Angiogenesis in Rat Glioma Model: MRI and Protein Analysis Study. *Translational Oncology* 6(6): 660–669.

Allain, Jean-Sebastien, Florian Thonier, Morgane Pihan, et al. 2018 IGHV Segment Utilization in Immunoglobulin Gene Rearrangement Differentiates Patients with Anti-Myelin-Associated Glycoprotein Neuropathy from Others Immunoglobulin M-Gammopathies. *Haematologica* 103(5): e207–e210.

Allen, Samantha J., Susan E. Crown, and Tracy M. Handel. 2007 Chemokine: Receptor Structure, Interactions, and Antagonism. *Annual Review of Immunology* 25: 787–820.

Alvarez, Jorge Ivan, Takahiro Katayama, and Alexandre Prat. 2013 Glial Influence on the Blood Brain Barrier. *Glia* 61(12): 1939–1958.

Amara, A., S. L. Gall, O. Schwartz, et al. 1997 HIV Coreceptor Downregulation as Antiviral Principle: SDF-1alpha- Dependent Internalization of the Chemokine Receptor CXCR4 Contributes to Inhibition of HIV Replication. *The Journal of Experimental Medicine* 186(1): 139–146.

Anderson, C. M., and R. A. Swanson. 2000 Astrocyte Glutamate Transport: Review of Properties, Regulation, and Physiological Functions. *Glia* 32(1): 1–14.

Andrews, Melissa R., and Dennis J. Stelzner. 2007 Evaluation of Olfactory Ensheathing and Schwann Cells after Implantation into a Dorsal Injury of Adult Rat Spinal Cord. *Journal of Neurotrauma* 24(11): 1773–1792.

Andriezen, W. L. 1893 The Neuroglia Elements in the Human Brain. *British Medical Journal* 2(1700):227–230.

Arakane, Futoshi, Teruo Sugawara, Hideaki Nishino, et al. 1996 Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) Retains Activity in the Absence of Its Mitochondrial Import Sequence: Implications for the Mechanism of StAR Action. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93(24). *Proceedings of the National Academy of Sciences*: 13731–13736.

Arevalo, Maria-Angeles, Iñigo Azcoitia, and Luis M Garcia-Segura. 2015 The Neuroprotective Actions of Oestradiol and Oestrogen Receptors. *Nature Reviews. Neuroscience* 16(1). Nature Publishing Group: 17–29.



- Armstrong, Regina C., Tuan Q. Le, Emma E. Frost, Rosemary C. Borke, and Adam C. Vana. 2002 Absence of Fibroblast Growth Factor 2 Promotes Oligodendroglial Repopulation of Demyelinated White Matter. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22(19): 8574–8585.
- Arnett, H. A., J. Mason, M. Marino, et al. 2001 TNF Alpha Promotes Proliferation of Oligodendrocyte Progenitors and Remyelination. *Nature Neuroscience* 4(11): 1116–1122.
- Arnett, Heather A., Ying Wang, Glenn K. Matsushima, Kinuko Suzuki, and Jenny P.-Y. Ting. 2003 Functional Genomic Analysis of Remyelination Reveals Importance of Inflammation in Oligodendrocyte Regeneration. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23(30): 9824–9832.
- Assinck, Peggy, Greg J. Duncan, Jason R. Plemel, et al. 2017 Myelinogenic Plasticity of Oligodendrocyte Precursor Cells Following Spinal Cord Contusion Injury. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 37(36): 8635–8654.
- Assouline, J. G., P. Bosch, R. Lim, et al. 1987 Rat Astrocytes and Schwann Cells in Culture Synthesize Nerve Growth Factor-like Neurite-Promoting Factors. *Brain Research* 428(1): 103–118.
- Aubele, T., and M. F. Kritzer. 2012 Androgen Influence on Prefrontal Dopamine Systems in Adult Male Rats: Localization of Cognate Intracellular Receptors in Medial Prefrontal Projections to the Ventral Tegmental Area and Effects of Gonadectomy and Hormone Replacement on Glutamate-Stimulated Extracellular Dopamine Level. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 22(8): 1799–1812.
- Avila, Mirla, Arpana Bansal, John Culberson, and Alan N. Peiris. 2018 The Role of Sex Hormones in Multiple Sclerosis. *European Neurology* 80(1–2). Karger Publishers: 93–99.
- Azariadis, Kalliopi, Fotini Kiagiadaki, Vasiliki Pelekanou, et al. 2017 Androgen Triggers the Pro-Migratory CXCL12/CXCR4 Axis in AR-Positive Breast Cancer Cell Lines: Underlying Mechanism and Possible Implications for the Use of Aromatase Inhibitors in Breast Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry* 44(1). Karger Publishers: 66–84.
- Azevedo, Frederico A. C., Ludmila R. B. Carvalho, Lea T. Grinberg, et al. 2009 Equal Numbers of Neuronal and Nonneuronal Cells Make the Human Brain an Isometrically Scaled-up Primate Brain. *The Journal of Comparative Neurology* 513(5): 532–541.
- Baaklini, Charbel S., Khalil S. Rawji, Greg J. Duncan, Madelene F. S. Ho, and Jason R. Plemel. 2019 Central Nervous System Remyelination: Roles of Glia and Innate Immune Cells. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 12: 225.
- Baccelli, Irène, and Andreas Trumpp. 2012 The Evolving Concept of Cancer and Metastasis Stem Cells. *The Journal of Cell Biology* 198(3): 281–293.
- Bachelierie, Françoise, Gerard J. Graham, Massimo Locati, et al. 2014 New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Nature Immunology* 15(3): 207–208.

- Bachelin, C., V. Zujovic, D. Buchet, J. Mallet, and A. Baron-Van Evercooren. 2010 Ectopic Expression of Polysialylated Neural Cell Adhesion Molecule in Adult Macaque Schwann Cells Promotes Their Migration and Remyelination Potential in the Central Nervous System. *Brain* 133(2): 406–420.
- Bachelin, Corinne, François Lachapelle, Christelle Girard, et al. 2005 Efficient Myelin Repair in the Macaque Spinal Cord by Autologous Grafts of Schwann Cells. *Brain: A Journal of Neurology* 128(Pt 3): 540–549.
- Bagri, Anil, Theresa Gurney, Xiaoping He, et al. 2002 The Chemokine SDF1 Regulates Migration of Dentate Granule Cells. *Development (Cambridge, England)* 129(18): 4249–4260.
- Balabanian, Karl, Emilie Brotin, Vincent Biajoux, et al. 2012 Proper Desensitization of CXCR4 Is Required for Lymphocyte Development and Peripheral Compartmentalization in Mice. *Blood* 119(24): 5722–5730.
- Balabanian, Karl, Bernard Lagane, Simona Infantino, et al. 2005 The Chemokine SDF-1/CXCL12 Binds to and Signals through the Orphan Receptor RDC1 in T Lymphocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 280(42): 35760–35766.
- Balakrishnan, Anjali, Lauren Belfiore, Tak-Ho Chu, et al. 2020 Insights Into the Role and Potential of Schwann Cells for Peripheral Nerve Repair From Studies of Development and Injury. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 13: 608442.
- Bampton, E. T. W., and J. S. H. Taylor. 2005 Effects of Schwann Cell Secreted Factors on PC12 Cell Neuritogenesis and Survival. *Journal of Neurobiology* 63(1): 29–48.
- Banisadr, Ghazal, Terra J. Frederick, Caroline Freitag, et al. 2011 The Role of CXCR4 Signaling in the Migration of Transplanted Oligodendrocyte Progenitors into the Cerebral White Matter. *Neurobiology of Disease* 44(1): 19–27.
- Banks, William A., and Sandra M. Robinson. 2010 Minimal Penetration of Lipopolysaccharide across the Murine Blood-Brain Barrier. *Brain, Behavior, and Immunity* 24(1): 102–109.
- Barbarese, E., C. Barry, C. H. Chou, et al. 1988 Expression and Localization of Myelin Basic Protein in Oligodendrocytes and Transfected Fibroblasts. *Journal of Neurochemistry* 51(6): 1737–1745.
- Barnett, Michael H., and John W. Prineas. 2004 Relapsing and Remitting Multiple Sclerosis: Pathology of the Newly Forming Lesion. *Annals of Neurology* 55(4): 458–468.
- Barres, B. A., and M. C. Raff. 1993 Proliferation of Oligodendrocyte Precursor Cells Depends on Electrical Activity in Axons. *Nature* 361(6409): 258–260.
- Bastian, P., K. Lang, B. Niggemann, K. S. Zaenker, and F. Entschladen. 2005 Myosin Regulation in the Migration of Tumor Cells and Leukocytes within a Three-Dimensional Collagen Matrix. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 62(1): 65–76
- Baudouin, Lucas, Noémie Adès, Kadia Kanté, et al. 2021 Co-Culture of Exogenous Oligodendrocytes with Unmyelinated Cerebella: Revisiting Ex Vivo Models and New ToOL to Study Myelination. *Glia* 69(8): 1916–1931.

- Baulieu, E. E. 1997 Neurosteroids: Of the Nervous System, by the Nervous System, for the Nervous System. *Recent Progress in Hormone Research* 52: 1–32.
- Baulieu, E. E., P. Robel, and M. Schumacher. 2001 Neurosteroids: Beginning of the Story. *International Review of Neurobiology* 46: 1–32.
- Baumann, N., and D. Pham-Dinh. 2001 Biology of Oligodendrocyte and Myelin in the Mammalian Central Nervous System. *Physiological Reviews* 81(2): 871–927.
- Baxi, Emily G., Joseph DeBruin, Dominique M. Tosi, et al. 2015 Transfer of Myelin-Reactive Th17 Cells Impairs Endogenous Remyelination in the Central Nervous System of Cuprizone-Fed Mice. *The Journal of Neuroscience* 35(22): 8626–8639.
- Baxter, Alan G. 2007 The Origin and Application of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Nature Reviews. Immunology* 7(11): 904–912.
- Becher, Burkhard, Sonia Tugues, and Melanie Greter. 2016 GM-CSF: From Growth Factor to Central Mediator of Tissue Inflammation. *Immunity* 45(5): 963–973.
- Becker, Pamela S., James M. Foran, Jessica K. Altman, et al. 2014 Targeting the CXCR4 Pathway: Safety, Tolerability and Clinical Activity of Ulocuplumab (BMS-936564), an Anti-CXCR4 Antibody, in Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Blood* 124(21): 386.
- Belmadani, Abdelhak, Phuong B. Tran, Dongjun Ren, et al. 2005 The Chemokine Stromal Cell-Derived Factor-1 Regulates the Migration of Sensory Neuron Progenitors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 25(16): 3995–4003.
- Bénardais, Karelle, Alexandra Kotsiari, Jelena Skuljec, et al. 2013 Cuprizone [Bis(Cyclohexylidenehydrazide)] Is Selectively Toxic for Mature Oligodendrocytes. *Neurotoxicity Research* 24(2): 244–250.
- Bengtsson, Sara L., Zoltán Nagy, Stefan Skare, et al. 2005 Extensive Piano Practicing Has Regionally Specific Effects on White Matter Development. *Nature Neuroscience* 8(9): 1148–1150.
- Bennett, Mariko L., F. Chris Bennett, Shane A. Liddelow, et al. 2016 New ToOL for Studying Microglia in the Mouse and Human CNS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(12): E1738-1746.
- Bennett, Nigel C., Robert A. Gardiner, John D. Hooper, David W. Johnson, and Glenda C. Gobe. 2010 Molecular Cell Biology of Androgen Receptor Signalling. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 42(6): 813–827.
- Bernhagen, Jürgen, Regina Krohn, Hongqi Lue, et al. 2007 MIF Is a Noncognate Ligand of CXC Chemokine Receptors in Inflammatory and Atherogenic Cell Recruitment. *Nature Medicine* 13(5): 587–596.

Berson, J. F., D. Long, B. J. Doranz, et al. 1996 A Seven-Transmembrane Domain Receptor Involved in Fusion and Entry of T-Cell-Tropic Human Immunodeficiency Virus Type 1 Strains. *Journal of Virology* 70(9): 6288–6295.

Bezzi, P., M. Domercq, L. Brambilla, et al. 2001 CXCR4-Activated Astrocyte Glutamate Release via TNF $\alpha$ : Amplification by Microglia Triggers Neurotoxicity. *Nature Neuroscience* 4(7): 702–710.

Bianchi, Vittorio E., Elena Bresciani, Ramona Meanti, et al. 2021 The Role of Androgens in Women's Health and Wellbeing. *Pharmacological Research* 171: 105758.

Biancotti, Juan Carlos, Shalini Kumar, and Jean de Vellis. 2008 Activation of Inflammatory Response by a Combination of Growth Factors in Cuprizone-Induced Demyelinated Brain Leads to Myelin Repair. *Neurochemical Research* 33(12): 2615–2628.

Bieber, Allan J., Scott Kerr, and Moses Rodriguez. 2003 Efficient Central Nervous System Remyelination Requires T Cells. *Annals of Neurology* 53(5): 680–684.

Bielecki, Bartosz, Claudia Mattern, Abdel M. Ghomari, et al. 2016 Unexpected Central Role of the Androgen Receptor in the Spontaneous Regeneration of Myelin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(51): 14829–14834.

Bijlard, Marjolein, Bert Klunder, Jenny C. de Jonge, et al. 2015 Transcriptional Expression of Myelin Basic Protein in Oligodendrocytes Depends on Functional Syntaxin 4: A Potential Correlation with Autocrine Signaling. *Molecular and Cellular Biology* 35(4): 675–687.

Birgbauer, Eric, Tadimeti S. Rao, and Michael Webb. 2004 Lysolecithin Induces Demyelination in Vitro in a Cerebellar Slice Culture System. *Journal of Neuroscience Research* 78(2): 157–166.

Bjelobaba, Ivana, Vesna Begovic-Kupresanin, Sanja Pekovic, and Irena Lavrnja. 2018 Animal Models of Multiple Sclerosis: Focus on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of Neuroscience Research* 96(6): 1021–1042.

Bjornevik, Kjetil, Marianna Cortese, Brian C. Healy, et al. 2022 Longitudinal Analysis Reveals High Prevalence of Epstein-Barr Virus Associated with Multiple Sclerosis. *Science (New York, N.Y.)* 375(6578): 296–301.

Blakemore, W. F. 1974 Pattern of Remyelination in the CNS. *Nature* 249(457): 577–578.

Blakemore, W. F., and A. J. Crang. 1985 The Use of Cultured Autologous Schwann Cells to Remyelinate Areas of Persistent Demyelination in the Central Nervous System. *Journal of the Neurological Sciences* 70(2): 207–223.

Blakemore, W. F., and R. J. M. Franklin. 2008 Remyelination in Experimental Models of Toxin-Induced Demyelination. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 318: 193–212.

Bleul, Conrad C., Michael Farzan, Hyeryun Choe, et al. 1996 The Lymphocyte Chemoattractant SDF-1 Is a Ligand for LESTR/Fusin and Blocks HIV-1 Entry. *Nature* 382(6594). Nature Publishing Group: 829–833.

Bobkov, Vladimir, Marta Arimont, Aurélien Zarca, et al. 2019 Antibodies Targeting Chemokine Receptors CXCR4 and ACKR3. *Molecular Pharmacology* 96(6): 753–764.

Boggs, J. M. 2006 Myelin Basic Protein: A Multifunctional Protein. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 63(17): 1945–1961.

Boggs, Joan M., and Huimin Wang. 2004 Co-Clustering of Galactosylceramide and Membrane Proteins in Oligodendrocyte Membranes on Interaction with Polyvalent Carbohydrate and Prevention by an Intact Cytoskeleton. *Journal of Neuroscience Research* 76(3): 342–355.

Boison, D., and W. Stoffel. 1994 Disruption of the Compacted Myelin Sheath of Axons of the Central Nervous System in Proteolipid Protein-Deficient Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(24): 11709–11713.

Bondue, Antoine, Shu-chuan Jao, Cédric Blanpain, Marc Parmentier, and Patricia J. LiWang. 2002 Characterization of the Role of the N-Loop of MIP-1 Beta in CCR5 Binding. *Biochemistry* 41(46): 13548–13555.

Bonecchi, Raffaella, and Gerard J. Graham. 2016 Atypical Chemokine Receptors and Their Roles in the Resolution of the Inflammatory Response. *Frontiers in Immunology* 7: 224.

Bordon, Yvonne. 2020 MAFG Activity in Astrocytes Drives CNS Inflammation. *Nature Reviews Immunology* 20(4). Nature Publishing Group: 205–205.

Borrell, Víctor, and Oscar Marín. 2006 Meninges Control Tangential Migration of Hem-Derived Cajal-Retzius Cells via CXCL12/CXCR4 Signaling. *Nature Neuroscience* 9(10): 1284–1293.

Boyd, Amanda, Hui Zhang, and Anna Williams. 2013 Insufficient OPC Migration into Demyelinated Lesions Is a Cause of Poor Remyelination in MS and Mouse Models. *Acta Neuropathologica* 125(6): 841–859.

Braun, P. E., F. Sandillon, A. Edwards, J. M. Matthieu, and A. Privat. 1988 Immunocytochemical Localization by Electron Microscopy of 2'3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase in Developing Oligodendrocytes of Normal and Mutant Brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 8(8): 3057–3066.

Brelot, A., N. Heveker, M. Montes, and M. Alizon. 2000 Identification of Residues of CXCR4 Critical for Human Immunodeficiency Virus Coreceptor and Chemokine Receptor Activities. *The Journal of Biological Chemistry* 275(31): 23736–23744.

Breza, Marianthi, and Georgios Koutsis. 2019 Kennedy's Disease (Spinal and Bulbar Muscular Atrophy): A Clinically Oriented Review of a Rare Disease. *Journal of Neurology* 266(3): 565–573.

Brinkmann, Bastian G., Amit Agarwal, Michael W. Sereda, et al. 2008 Neuregulin-1/ErbB Signaling Serves Distinct Functions in Myelination of the Peripheral and Central Nervous System. *Neuron* 59(4): 581–595.

Brosnan, Celia F., and Cedric S. Raine. 2013 The Astrocyte in Multiple Sclerosis Revisited. *Glia* 61(4): 453–465. Brunner, C., H. Lassmann, T. V. Waehneltd, J. M. Matthieu, and C. Linington. 1989 Differential Ultrastructural Localization of Myelin Basic Protein, Myelin/Oligodendroglial Glycoprotein, and 2',3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase in the CNS of Adult Rats. *Journal of Neurochemistry* 52(1): 296–304.

Buchet, Delphine, Corina Garcia, Cyrille Deboux, Brahim Nait-Oumesmar, and Anne Baron-Van Evercooren 2011 Human Neural Progenitors from Different Foetal Forebrain Regions Remyelinate the Adult Mouse Spinal Cord. *Brain: A Journal of Neurology* 134(Pt 4): 1168–1183.

Burger, J. A., M. Burger, and T. J. Kipps. 1999 Chronic Lymphocytic Leukemia B Cells Express Functional CXCR4 Chemokine Receptors That Mediate Spontaneous Migration beneath Bone Marrow Stromal Cells. *Blood* 94(11): 3658–3667.

Burger, Jan A., David J. Stewart, Ori Wald, and Amnon Peled. 2011 Potential of CXCR4 Antagonists for the Treatment of Metastatic Lung Cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 11(4): 621–630.

Busillo, John M., Sylvain Armando, Rajarshi Sengupta, et al. 2010 Site-Specific Phosphorylation of CXCR4 Is Dynamically Regulated by Multiple Kinases and Results in Differential Modulation of CXCR4 Signaling\*. *Journal of Biological Chemistry* 285(10): 7805–7817.

Busillo, John M., and Jeffrey L. Benovic. 2007 Regulation of CXCR4 Signaling. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1768(4): 952–963.

Cadavid, Diego, Michelle Mellion, Raymond Hupperts, et al. 2019 Safety and Efficacy of Opicinumab in Patients with Relapsing Multiple Sclerosis (SYNERGY): A Randomised, Placebo-Controlled, Phase 2 Trial. *The Lancet Neurology* 18(9): 845–856.

Cai, Jun, Yingchuan Qi, Xuemei Hu, et al. 2005 Generation of Oligodendrocyte Precursor Cells from Mouse Dorsal Spinal Cord Independent of Nkx6 Regulation and Shh Signaling. *Neuron* 45(1): 41–53.

Calderon, Tina M., Eliseo A. Eugenin, Lillie Lopez, et al. 2006 A Role for CXCL12 (SDF-1 $\alpha$ ) in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis: Regulation of CXCL12 Expression in Astrocytes by Soluble Myelin Basic Protein. *Journal of Neuroimmunology* 177(1): 27–39.

Calì, Corrado, and Paola Bezzi. 2010 CXCR4-Mediated Glutamate Exocytosis from Astrocytes. *Journal of Neuroimmunology* 224(1–2): 13–21.

Callewaert, Leen, Nora Van Tilborgh, and Frank Claessens. 2006 Interplay between Two Hormone-Independent Activation Domains in the Androgen Receptor. *Cancer Research* 66(1): 543–553.

Calver, Andrew R., Anita C. Hall, Wei-Ping Yu, et al. 1998 Oligodendrocyte Population Dynamics and the Role of PDGF In Vivo. *Neuron* 20(5). Elsevier: 869–882.

- Campagnoni, A. T., C. W. Campagnoni, J. M. Bourre, C. Jacque, and N. Baumann. 1984 Cell-Free Synthesis of Myelin Basic Proteins in Normal and Dysmyelinating Mutant Mice. *Journal of Neurochemistry* 42(3): 733–739.
- Cantuti-Castelvetri, Ludovico, Dirk Fitzner, Mar Bosch-Queralt, et al. 2018 Defective Cholesterol Clearance Limits Remyelination in the Aged Central Nervous System. *Science (New York, N.Y.)* 359(6376): 684–688.
- Carbajal, Kevin S., Juan L. Miranda, Michelle R. Tsukamoto, and Thomas E. Lane. 2011 CXCR4 Signaling Regulates Remyelination by Endogenous Oligodendrocyte Progenitor Cells in a Viral Model of Demyelination. *Glia* 59(12): 1813–1821.
- Caruso, Donatella, Giulia D’Intino, Silvia Giatti, et al. 2010 Sex-Dimorphic Changes in Neuroactive Steroid Levels after Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of Neurochemistry* 114(3): 921–932.
- Caruso, Donatella, Marta Melis, Giuseppe Fenu, et al. 2014 Neuroactive Steroid Levels in Plasma and Cerebrospinal Fluid of Male Multiple Sclerosis Patients. *Journal of Neurochemistry* 130(4): 591–597.
- Cashen, Amanda, Sandra Lopez, Feng Gao, et al. 2008 A Phase II Study of Plerixafor (AMD3100) plus G-CSF for Autologous Hematopoietic Progenitor Cell Mobilization in Patients with Hodgkin Lymphoma. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 14(11): 1253–1261.
- Castelfranco, Ann M., and Daniel K. Hartline. 2016 Evolution of Rapid Nerve Conduction. *Brain Research* 1641(Pt A): 11–33.
- Castelo-Branco, Gonçalo, Pernilla Stridh, André Ortlieb Guerreiro-Cacais, et al. 2014 Acute Treatment with Valproic Acid and L-Thyroxine Ameliorates Clinical Signs of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Prevents Brain Pathology in DA Rats. *Neurobiology of Disease* 71: 220–233.
- CehOLki, Delaine K., Irene C. Turnbull, Venu Pothula, et al. 2017 CXCR4 and ACKR3 Play Distinct Roles in Cardiac Lineage Specification and Pharmacologic  $\beta$ -Adrenergic Response. *Stem Cell Research* 23: 77–86.
- Ceradini, Daniel J., Anita R. Kulkarni, Matthew J. Callaghan, et al. 2004 Progenitor Cell Trafficking Is Regulated by Hypoxic Gradients through HIF-1 Induction of SDF-1. *Nature Medicine* 10(8): 858–864.
- Cerghet, Mirela, Robert P. Skoff, Denise Bessert, et al. 2006 Proliferation and Death of Oligodendrocytes and Myelin Proteins Are Differentially Regulated in Male and Female Rodents. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26(5): 1439–1447.
- Chabot, Donald J., Hong Chen, Dimiter S. Dimitrov, and Christopher C. Broder. 2000 N-Linked Glycosylation of CXCR4 Masks Coreceptor Function for CCR5-Dependent Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates. *Journal of Virology* 74(9): 4404–4413.



Chari, D. M., A. J. Crang, and W. F. Blakemore 2003 Decline in Rate of Colonization of Oligodendrocyte Progenitor Cell (OPC)-Depleted Tissue by Adult OPC with Age. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 62(9): 908–916.

Chari, Divya M., Chao Zhao, Mark R. Kotter, William F. Blakemore, and Robin J. M. Franklin 2006 Corticosteroids Delay Remyelination of Experimental Demyelination in the Rodent Central Nervous System. *Journal of Neuroscience Research* 83(4): 594–605.

Charles, Perrine, Steven Tait, Catherine Faivre-Sarrailh, et al. 2002 Neurofascin Is a Glial Receptor for the Paranodin/Caspr-Contactin Axonal Complex at the Axoglial Junction. *Current Biology: CB* 12(3): 217–220.

Chatterjee, Samit, Babak Behnam Azad, and Sridhar Nimmagadda. 2014 The Intricate Role of CXCR4 in Cancer. *Advances in Cancer Research* 124: 31–82.

Chaudhary, Priya, Gail Marracci, Danielle Galipeau, et al. 2015 Lipoic Acid Reduces Inflammation in a Mouse Focal Cortical Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Model. *Journal of Neuroimmunology* 289: 68–74.

Chen, Ivy X., Vikash P. Chauhan, Jessica Posada, et al. 2019 Blocking CXCR4 Alleviates Desmoplasia, Increases T- Lymphocyte Infiltration, and Improves Immunotherapy in Metastatic Breast Cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116(10): 4558–4566.

Chen, Keqiang, Zhiyao Bao, Peng Tang, et al. 2018 Chemokines in Homeostasis and Diseases. *Cellular and Molecular Immunology* 15(4): 324–334.

Chen, Shuzhen, Daniel L Tuttle, Joseph T Oshier, et al. 2005 Transforming Growth Factor-B1 Increases CXCR4 Expression, Stromal-Derived Factor-1 $\alpha$ -Stimulated Signalling and Human Immunodeficiency Virus-1 Entry in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Immunology* 114(4): 565–574.

Chen, Yeping, Lu Fu, Ying Han, et al. 2012 Testosterone Replacement Therapy Promotes Angiogenesis after Acute Myocardial Infarction by Enhancing Expression of Cytokines HIF-1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$  and VEGF. *European Journal of Pharmacology* 684(1–3): 116–124.

Cheng, Z. J., J. Zhao, Y. Sun, et al. 2000 Beta-Arrestin Differentially Regulates the Chemokine Receptor CXCR4- Mediated Signaling and Receptor Internalization, and This Implicates Multiple Interaction Sites between Beta- Arrestin and CXCR4. *The Journal of Biological Chemistry* 275(4): 2479–2485.

Chitnis, Tanuja 2018 The Role of Testosterone in MS Risk and Course. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 24(1): 36–41.

Choi, Ji Woong, Shannon E. Gardell, Deron R. Herr, et al. 2011 FTY720 (Fingolimod) Efficacy in an Animal Model of Multiple Sclerosis Requires Astrocyte Sphingosine 1-Phosphate Receptor 1 (S1P1) Modulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(2): 751–756.

- Christopherson, Kent W., Giao Hangoc, and Hal E. Broxmeyer. 2002 Cell Surface Peptidase CD26/Dipeptidylpeptidase IV Regulates CXCL12/Stromal Cell-Derived Factor-1 Alpha-Mediated Chemotaxis of Human Cord Blood CD34+ Progenitor Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 169(12): 7000–7008.
- Chu, Tianci, Lisa B. E. Shields, Yi Ping Zhang, et al. 2017 CXCL12/CXCR4/ACKR3 Chemokine Axis in the Central Nervous System: Therapeutic Targets for Remyelination in Demyelinating Diseases. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry* 23(6): 627–648.
- Chu, Tianci, Lisa B.E. Shields, Wenxin Zeng, et al. 2020 Dynamic Glial Response and Crosstalk in Demyelination- Remyelination and Neurodegeneration Processes. *Neural Regeneration Research* 16(7): 1359–1368.
- Ciccarelli, Olga, Frederik Barkhof, Benedetta Bodini, et al. 2014 Pathogenesis of Multiple Sclerosis: Insights from Molecular and Metabolic Imaging. *The Lancet Neurology* 13(8): 807–822.
- Claessens, Frank, Sarah Denayer, Nora Van Tilborgh, et al. 2008 Diverse Roles of Androgen Receptor (AR) Domains in AR-Mediated Signaling. *Nuclear Receptor Signaling* 6: e008.
- Clapham, P. R. 1997 HIV and Chemokines: Ligands Sharing Cell-Surface Receptors. *Trends in Cell Biology* 7(7): 264–268.
- Clark, Iain C., Cristina Gutiérrez-Vázquez, Michael A. Wheeler, et al. 2021 Barcoded Viral Tracing of Single-Cell Interactions in Central Nervous System Inflammation. *Science* 372(6540). American Association for the Advancement of Science: eabf1230.
- Clinckemalie, Liesbeth, Dirk Vanderschueren, Steven Boonen, and Frank Claessens 2012 The Hinge Region in Androgen Receptor Control. *Molecular and Cellular Endocrinology* 358(1): 1–8.
- Collins, Paul J., Michelle L. McCully, Laura Martínez-Muñoz, et al. 2017 Epithelial Chemokine CXCL14 Synergizes with CXCL12 via Allosteric Modulation of CXCR4. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 31(7): 3084–3097.
- Compston, Alastair, and Alasdair Coles 2008 Multiple Sclerosis. *Lancet (London, England)* 372(9648): 1502– 1517.
- Confavreux, Christian, Michael Hutchinson, Martine Marie Hours, Patricia Cortinovis-Tourniaire, and Thibault Moreau 1998 Rate of Pregnancy-Related Relapse in Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine* 339(5). Massachusetts Medical Society: 285–291.
- Constantinescu, Cris S, Nasr Farooqi, Kate O'Brien, and Bruno Gran 2011 Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) as a Model for Multiple Sclerosis (MS). *British Journal of Pharmacology* 164(4): 1079– 1106.
- Cook, Jason B., David F. Werner, Antoniette M. Maldonado-Devincci, et al. 2014 Overexpression of the Steroidogenic Enzyme Cytochrome P450 Side Chain Cleavage in the Ventral Tegmental Area Increases 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - THP and Reduces Long-Term Operant Ethanol Self-Administration. *The Journal of Neuroscience* 34(17): 5824– 5834.

- Cooke, B., C. D. Hegstrom, L. S. Villeneuve, and S. M. Breedlove 1998 Sexual Differentiation of the Vertebrate Brain: Principles and Mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology* 19(4): 323–362.
- Corcione, Anna, Simona Casazza, Elisa Ferretti, et al. 2004 Recapitulation of B Cell Differentiation in the Central Nervous System of Patients with Multiple Sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(30): 11064–11069.
- Court, Felipe A., and Michael P. Coleman 2012 Mitochondria as a Central Sensor for Axonal Degenerative Stimuli. *Trends in Neurosciences* 35(6): 364–372.
- Crawford, Abbe H., Richa B. Tripathi, Sarah Foerster, et al. 2016 Pre-Existing Mature Oligodendrocytes Do Not Contribute to Remyelination Following Toxin-Induced Spinal Cord Demyelination. *The American Journal of Pathology* 186(3): 511–516.
- Crawford, Abbe H., Richa B. Tripathi, William D. Richardson, and Robin J. M. Franklin 2016 Developmental Origin of Oligodendrocyte Lineage Cells Determines Response to Demyelination and Susceptibility to Age- Associated Functional Decline. *Cell Reports* 15(4): 761–773.
- Crawford, Daniel K., Mario Mangiardi, Bingbing Song, et al. 2010 Oestrogen Receptor  $\beta$  Ligand: A Novel Treatment to Enhance Endogenous Functional Remyelination. *Brain* 133(10): 2999–3016.
- Crijns, Helena, Vincent Vanheule, and Paul Proost 2020 Targeting Chemokine—Glycosaminoglycan Interactions to Inhibit Inflammation. *Frontiers in Immunology* 11: 483.
- Cristillo, Anthony D., Helene C. Highbarger, Robin L. Dewar, et al. 2002 Up-Regulation of HIV Coreceptor CXCR4 Expression in Human T Lymphocytes Is Mediated in Part by a CAMP-Responsive Element. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 16(3): 354–364.
- Crump, M P, J H Gong, P Loetscher, et al. 1997 Solution Structure and Basis for Functional Activity of Stromal Cell-Derived Factor-1; Dissociation of CXCR4 Activation from Binding and Inhibition of HIV-1. *The EMBO Journal* 16(23): 6996–7007.
- Cuesta-Gomez, Nerea, Gerard J. Graham, and John D. M. Campbell 2021 Chemokines and Their Receptors: Predictors of the Therapeutic Potential of Mesenchymal Stromal Cells. *Journal of Translational Medicine* 19(1): 156.
- Dai, T., Y. Hu, and H. Zheng 2017 Hypoxia Increases Expression of CXC Chemokine Receptor 4 via Activation of PI3K/Akt Leading to Enhanced Migration of Endothelial Progenitor Cells. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 21(8): 1820–1827.
- Dai, Zhong-Min, Shuhui Sun, Chunyang Wang, et al. 2014 Stage-Specific Regulation of Oligodendrocyte Development by Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34(25): 8467–8473.
- Dalal, M., S. Kim, and R. R. Voskuhl 1997 Testosterone Therapy Ameliorates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Induces a T Helper 2 Bias in the Autoantigen-Specific T Lymphocyte Response. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 159(1): 3–6.

D'Alterio, Crescenzo, Maria Buoncervello, Caterina Ieranò, et al. 2019 Targeting CXCR4 Potentiates Anti-PD-1 Efficacy Modifying the Tumor Microenvironment and Inhibiting Neoplastic PD-1. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*: CR 38(1): 432.

Darash-Yahana, Merav, Eli Pikarsky, Rinat Abramovitch, et al. 2004 Role of High Expression Levels of CXCR4 in Tumor Growth, Vascularization, and Metastasis. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18(11): 1240–1242.

Das Sarma, Jayasri, Kathryn Iacono, Lilli Gard, et al. 2008 Demyelinating and Nondemyelinating Strains of Mouse Hepatitis Virus Differ in Their Neural Cell Tropism. *Journal of Virology* 82(11): 5519–5526.

Davalos, Dimitrios, Jaime Grutzendler, Guang Yang, et al. 2005 ATP Mediates Rapid Microglial Response to Local Brain Injury in Vivo. *Nature Neuroscience* 8(6): 752–758.

Dawson, Mary R. L., Annabella Polito, Joel M. Levine, and Richard Reynolds 2003 NG2-Expressing Glial Progenitor Cells: An Abundant and Widespread Population of Cycling Cells in the Adult Rat CNS. *Molecular and Cellular Neurosciences* 24(2): 476–488.

De Clercq, Erik 2015 AMD3100/CXCR4 Inhibitor. *Frontiers in Immunology* 6: 276.

Debnath, Bikash, Shili Xu, Fedora Grande, Antonio Garofalo, and Nouri Neamati 2013 Small Molecule Inhibitors of CXCR4. *Theranostics* 3(1): 47–75.

Decker, Laurence, Virginia Avellana-Adalid, Brahim Nait-Oumesmar, Pascale Durbec, and Anne Baron-Van Evercooren 2000 Oligodendrocyte Precursor Migration and Differentiation: Combined Effects of PSA Residues, Growth Factors, and Substrates. *Molecular and Cellular Neuroscience* 16(4): 422–439.

Delgado, M. B., I. Clark-Lewis, P. Loetscher, et al. 2001 Rapid Inactivation of Stromal Cell-Derived Factor-1 by Cathepsin G Associated with Lymphocytes. *European Journal of Immunology* 31(3): 699–707.

Deng, Ling-Xiao, Chandler Walker, and Xiao-Ming Xu 2015 Schwann Cell Transplantation and Descending Propriospinal Regeneration after Spinal Cord Injury. *Brain Research* 1619: 104–114.

Denic, Aleksandar, Aaron J. Johnson, Allan J. Bieber, et al. 2011 The Relevance of Animal Models in Multiple Sclerosis Research. *Pathophysiology: The Official Journal of the International Society for Pathophysiology* 18(1): 21–29.

Deshmukh, Vishal A., Virginie Tardif, Costas A. Lyssiotis, et al. 2013 A Regenerative Approach to the Treatment of Multiple Sclerosis. *Nature* 502(7471): 327–332.

Di Sabatino, Elena, Lorenzo Gaetani, Silvia Sperandei, et al. 2022 The No Evidence of Disease Activity (NEDA) Concept in MS: Impact of Spinal Cord MRI. *Journal of Neurology* 269(6): 3129–3135.

Di Salvo, Jerry, Greg E Koch, Kristine E Johnson, et al. 2000 The CXCR4 Agonist Ligand Stromal Derived Factor-1 Maintains High Affinity for Receptors in Both G $\alpha$ i-Coupled and Uncoupled States. *European Journal of Pharmacology* 409(2): 143–154.

- Dietschy, John M., and Stephen D. Turley 2004 Thematic Review Series: Brain Lipids. Cholesterol Metabolism in the Central Nervous System during Early Development and in the Mature Animal. *Journal of Lipid Research* 45(8): 1375–1397.
- Dimou, Leda, Christiane Simon, Frank Kirchhoff, Hirohide Takebayashi, and Magdalena Götz 2008 Progeny of Olig2-Expressing Progenitors in the Gray and White Matter of the Adult Mouse Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience* 28(41). Society for Neuroscience: 10434–10442.
- Domanska, Urszula M., Roeliene C. Kruizinga, Wouter B. Nagengast, et al. 2013 A Review on CXCR4/CXCL12 Axis in Oncology: No Place to Hide. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 49(1): 219–230.
- Dombrowski, Yvonne, Thomas O'Hagan, Marie Dittmer, et al. 2017 Regulatory T Cells Promote Myelin Regeneration in the Central Nervous System. *Nature Neuroscience* 20(5). Nature Publishing Group: 674–680.
- DonCarlos, L. L., S. Sarkey, B. Lorenz, et al. 2006 Novel Cellular Phenotypes and Subcellular Sites for Androgen Action in the Forebrain. *Neuroscience* 138(3): 801–807.
- DonCarlos, Lydia L., Daniel Garcia-Ovejero, Sara Sarkey, Luis Miguel Garcia-Segura, and Iñigo Azcoitia 2003 Androgen Receptor Immunoreactivity in Forebrain Axons and Dendrites in the Rat. *Endocrinology* 144(8): 3632–3638.
- Doshi, Anisha, and Jeremy Chataway 2017 Multiple Sclerosis, a Treatable Disease. *Clinical Medicine (London, England)* 17(6): 530–536.
- Drury, Luke J., Joshua J. Ziarek, Stéphanie Gravel, et al. 2011 Monomeric and Dimeric CXCL12 Inhibit Metastasis through Distinct CXCR4 Interactions and Signaling Pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(43): 17655–17660.
- Duan, S., C. M. Anderson, B. A. Stein, and R. A. Swanson 1999 Glutamate Induces Rapid Upregulation of Astrocyte Glutamate Transport and Cell-Surface Expression of GLAST. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19(23): 10193–10200.
- Dubois-Dalcq, M., T. Behar, L. Hudson, and R. A. Lazzarini 1986 Emergence of Three Myelin Proteins in Oligodendrocytes Cultured without Neurons. *The Journal of Cell Biology* 102(2): 384–392.
- Duda, Dan G., Sergey V. Kozin, Nathaniel D. Kirkpatrick, et al. 2011 CXCL12 (SDF1alpha)-CXCR4/ACKR3 Pathway Inhibition: An Emerging Sensitizer for Anticancer Therapies? *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 17(8): 2074–2080.
- Duncan, Greg J., Sohrab B. Manesh, Brett J. Hilton, et al. 2020 The Fate and Function of Oligodendrocyte Progenitor Cells after Traumatic Spinal Cord Injury. *Glia* 68(2): 227–245.
- Duncan, Ian D., Abigail B. Radcliff, Moones Heidari, et al. 2018 The Adult Oligodendrocyte Can Participate in Remyelination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(50): E11807–E11816.

- Dunn, J. F., B. C. Nisula, and D. Rodbard 1981 Transport of Steroid Hormones: Binding of 21 Endogenous Steroids to Both Testosterone-Binding Globulin and Corticosteroid-Binding Globulin in Human Plasma. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 53(1): 58–68.
- Dutta, Debashis, Malabendu Jana, Moumita Majumder, et al. 2021 Selective Targeting of the TLR2/MyD88/NF- $\kappa$ B Pathway Reduces  $\alpha$ -Synuclein Spreading in Vitro and in Vivo. *Nature Communications* 12(1). Nature Publishing Group: 5382.
- Dziembowska, M., T. N. Tham, P. Lau, et al. 2005 A Role for CXCR4 Signaling in Survival and Migration of Neural and Oligodendrocyte Precursors. *Glia* 50(3): 258–269.
- Echelard, Yann, Douglas J. Epstein, Benoit St-Jacques, et al. 1993 Sonic Hedgehog, a Member of a Family of Putative Signaling Molecules, Is Implicated in the Regulation of CNS Polarity. *Cell* 75(7). Elsevier: 1417–1430.
- Edgar, J. M., and J. Garbern 2004 The Myelinated Axon Is Dependent on the Myelinating Cell for Support and Maintenance: Molecules Involved. *Journal of Neuroscience Research* 76(5): 593–598.
- Egawa, T., K. Kawabata, H. Kawamoto, et al. 2001 The Earliest Stages of B Cell Development Require a Chemokine Stromal Cell-Derived Factor/Pre-B Cell Growth-Stimulating Factor. *Immunity* 15(2): 323–334.
- El-Etr, Martine, Abdel Ghomari, Régine Sitruk-Ware, and Michael Schumacher 2011 Hormonal Influences in Multiple Sclerosis: New Therapeutic Benefits for Steroids. *Maturitas* 68(1): 47–51.
- El-Etr, Martine, Marion Rame, Celine Boucher, et al. 2015 Progesterone and Nestorone Promote Myelin Regeneration in Chronic Demyelinating Lesions of Corpus Callosum and Cerebral Cortex. *Glia* 63(1): 104–117.
- Emery, Ben 2010 Regulation of Oligodendrocyte Differentiation and Myelination. *Science (New York, N.Y.)* 330(6005): 779–782.
- Emsley, Jason G., and Jeffrey D. Macklis 2006 Astroglial Heterogeneity Closely Reflects the Neuronal-Defined Anatomy of the Adult Murine CNS. *Neuron Glia Biology* 2(3): 175–186.
- Faizi, Mehrdad, Ahmad Salimi, Enayatolla Seydi, et al. 2016 Toxicity of Cuprizone a Cu(2+) Chelating Agent on Isolated Mouse Brain Mitochondria: A Justification for Demyelination and Subsequent Behavioral Dysfunction. *Toxicology Mechanisms and Methods* 26(4): 276–283.
- Fan, Hongkuan, Alessandra Bitto, Basilia Zingarelli, et al. 2010 Beta-Arrestin 2 Negatively Regulates Sepsis- Induced Inflammation. *Immunology* 130(3): 344–351.
- Fancy, Stephen P. J., Sergio E. Baranzini, Chao Zhao, et al. 2009 Dysregulation of the Wnt Pathway Inhibits Timely Myelination and Remyelination in the Mammalian CNS. *Genes & Development* 23(13): 1571–1585.

Fancy, Stephen P. J., Jonah R. Chan, Sergio E. Baranzini, Robin J. M. Franklin, and David H. Rowitch 2011 Myelin Regeneration: A Recapitulation of Development? *Annual Review of Neuroscience* 34: 21–43.

Fancy, Stephen P. J., Chao Zhao, and Robin J. M. Franklin 2004 Increased Expression of Nkx2.2 and Olig2 Identifies Reactive Oligodendrocyte Progenitor Cells Responding to Demyelination in the Adult CNS. *Molecular and Cellular Neurosciences* 27(3): 247–254.

Farez, Mauricio F., Francisco J. Quintana, Roopali Gandhi, et al. 2009 Toll-like Receptor 2 and Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 Promote Central Nervous System Neuroinflammation in Progressive EAE. *Nature Immunology* 10(9): 958–964.

Farzan, M., T. Mirzabekov, P. Kolchinsky, et al. 1999 Tyrosine Sulfation of the Amino Terminus of CCR5 Facilitates HIV-1 Entry. *Cell* 96(5): 667–676.

Feng, Y., C. C. Broder, P. E. Kennedy, and E. A. Berger 1996 HIV-1 Entry Cofactor: Functional CDNA Cloning of a Seven-Transmembrane, G Protein-Coupled Receptor. *Science (New York, N.Y.)* 272(5263): 872–877.

Ferent, Julien, Céline Zimmer, Pascale Durbec, Martial Ruat, and Elisabeth Traiffort 2013 Sonic Hedgehog Signaling Is a Positive Oligodendrocyte Regulator during Demyelination. *The Journal of Neuroscience* 33(5): 1759–1772.

Ferreirinha, Fatima, Angelo Quattrini, Marinella Pirozzi, et al. 2004 Axonal Degeneration in Paraplegin-Deficient Mice Is Associated with Abnormal Mitochondria and Impairment of Axonal Transport. *The Journal of Clinical Investigation* 113(2): 231–242.

Fester, L., and Gabriele M. Rune 2021 Sex Neurosteroids: Hormones Made by the Brain for the Brain. *Neuroscience Letters* 753: 135849.

Filippi, Massimo, Amit Bar-Or, Fredrik Piehl, et al. 2018 Multiple Sclerosis. *Nature Reviews. Disease Primers* 4(1): 43.

Finley, S. K., and M. F. Kritzer 1999 Immunoreactivity for Intracellular Androgen Receptors in Identified Subpopulations of Neurons, Astrocytes and Oligodendrocytes in Primate Prefrontal Cortex. *Journal of Neurobiology* 40(4): 446–457.

Fitzgerald, Kathryn C., Kicheol Kim, Matthew D. Smith, et al. 2019 Early Complement Genes Are Associated with Visual System Degeneration in Multiple Sclerosis. *Brain: A Journal of Neurology* 142(9): 2722–2736.

Fogarty, Matthew, William D. Richardson, and Nicoletta Kessaris 2005 A Subset of Oligodendrocytes Generated from Radial Glia in the Dorsal Spinal Cord. *Development (Cambridge, England)* 132(8): 1951–1959.

Fok-Seang, J., and R. H. Miller 1994 Distribution and Differentiation of A2B5+ Glial Precursors in the Developing Rat Spinal Cord. *Journal of Neuroscience Research* 37(2): 219–235.

Fontenas, Laura, Taylor G. Welsh, Melanie Piller, et al. 2019 The Neuromodulator Adenosine Regulates Oligodendrocyte Migration at Motor Exit Point Transition Zones. *Cell Reports* 27(1): 115-128.e5.

Foradori, C. D., M. J. Weiser, and R. J. Handa 2008. Non-Genomic Actions of Androgens. *Frontiers in Neuroendocrinology* 29(2): 169–181.

Franklin, R. J., and W. F. Blakemore 1993 Requirements for Schwann Cell Migration within CNS Environments: A Viewpoint. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 11(5): 641–649.

1997 To What Extent Is Oligodendrocyte Progenitor Migration a Limiting Factor in the Remyelination of Multiple Sclerosis Lesions? *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 3(2): 84–87.

Franklin, Robin J. M. 2002 Why Does Remyelination Fail in Multiple Sclerosis? *Nature Reviews. Neuroscience* 3(9): 705–714.

Franklin, Robin J. M., and Charles Ffrench-Constant 2008 Remyelination in the CNS: From Biology to Therapy. *Nature Reviews. Neuroscience* 9(11): 839–855.

2017 Regenerating CNS Myelin - from Mechanisms to Experimental Medicines. *Nature Reviews. Neuroscience* 18(12): 753–769.

Freedman, L. P. 1992 Anatomy of the Steroid Receptor Zinc Finger Region. *Endocrine Reviews* 13(2): 129–145.

Freedman, L. P., B. F. Luisi, Z. R. Korszun, et al. 1988 The Function and Structure of the Metal Coordination Sites within the Glucocorticoid Receptor DNA Binding Domain. *Nature* 334(6182): 543–546.

Frigo, Daniel E., Andrea B. Sherk, Bryan M. Wittmann, et al. 2009 Induction of Kruppel-like Factor 5 Expression by Androgens Results in Increased CXCR4-Dependent Migration of Prostate Cancer Cells in Vitro. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* 23(9): 1385–1396.

Fu, Hui, Jun Cai, Hans Clevers, et al. 2009 A Genome-Wide Screen for Spatially Restricted Expression Patterns Identifies Transcription Factors That Regulate Glial Development. *Journal of Neuroscience* 29(36). Society for Neuroscience: 11399–11408.

Fünfschilling, Ursula, Lotti M. Supplie, Don Mahad, et al. 2012 Glycolytic Oligodendrocytes Maintain Myelin and Long-Term Axonal Integrity. *Nature* 485(7399): 517–521.

van Furth, R., and Z. A. Cohn 1968 The Origin and Kinetics of Mononuclear Phagocytes. *The Journal of Experimental Medicine* 128(3): 415–435.

Furusato, Bungo, Ahmed Mohamed, Mathias Uhlén, and Johng S. Rhim 2010 CXCR4 and Cancer. *Pathology International* 60(7): 497–505.



- Futahashi, Yuko, Jun Komano, Emiko Urano, et al. 2007 Separate Elements Are Required for Ligand-Dependent and -Independent Internalization of Metastatic Potentiator CXCR4. *Cancer Science* 98(3): 373–379.
- Gaidarov, I., J. G. Krupnick, J. R. Falck, J. L. Benovic, and J. H. Keen 1999 Arrestin Function in G Protein-Coupled Receptor Endocytosis Requires Phosphoinositide Binding. *The EMBO Journal* 18(4): 871–881.
- Gallego, Carmen, Mathias Vétillard, Joseph Calmette, et al. 2021 CXCR4 Signaling ContrOL Dendritic Cell Location and Activation at Steady State and in Inflammation. *Blood* 137(20): 2770–2784.
- Ganju, Ramesh K., Parmesh Dutt, Lijun Wu, et al. 1998  $\beta$ -Chemokine Receptor CCR5 Signals Via the Novel Tyrosine Kinase RAFTK. *Blood* 91(3): 791–797.
- Gao, Wenqing, Casey E. Bohl, and James T. Dalton 2005 Chemistry and Structural Biology of Androgen Receptor. *Chemical Reviews* 105(9): 3352–3370.
- Garbern, James Y., Donald A. Yool, Gregory J. Moore, et al. 2002 Patients Lacking the Major CNS Myelin Protein, Proteolipid Protein 1, Develop Length-Dependent Axonal Degeneration in the Absence of Demyelination and Inflammation. *Brain: A Journal of Neurology* 125(Pt 3): 551–561.
- Garcia-Diaz, Beatriz, Corinne Bachelin, Fanny Couplier, et al. 2019 Blood Vessels Guide Schwann Cell Migration in the Adult Demyelinated CNS through Eph/Ephrin Signaling. *Acta Neuropathologica* 138(3): 457–476.
- García-Marín, Virginia, Pablo García-López, and Miguel Freire 2007 Cajal's Contributions to Glia Research. *Trends in Neurosciences* 30(9): 479–487.
- García-Moruja, Carelia, Juan M. Alonso-Lobo, Patricia Rueda, et al. 2005 Functional Characterization of SDF-1 Proximal Promoter. *Journal of Molecular Biology* 348(1): 43–62.
- Garcia-Ovejero, Daniel, Iñigo Azcoitia, Lydia L. DonCarlos, Roberto C. Melcangi, and Luis M. Garcia-Segura 2005 Glia-Neuron Crosstalk in the Neuroprotective Mechanisms of Sex Steroid Hormones. *Brain Research Reviews* 48(2): 273–286.
- Gatti, Monica, Alessandra Pattarozzi, Adriana Bajetto, et al. 2013 Inhibition of CXCL12/CXCR4 Autocrine/Paracrine Loop Reduces Viability of Human Glioblastoma Stem-like Cells Affecting Self-Renewal Activity. *Toxicology* 314(2–3): 209–220.
- Gbaguidi, Brigitte, Francis Guillemin, Marc Soudant, et al. 2022 Age-Period-Cohort Analysis of the Incidence of Multiple Sclerosis over Twenty Years in Lorraine, France. *Scientific Reports* 12(1). Nature Publishing Group: 1001.
- Geindreau, Mannon, Mélanie Bruchard, and Frédérique Vegran 2022 Role of Cytokines and Chemokines in Angiogenesis in a Tumor Context. *Cancers* 14(10): 2446.
- Gendt, Karel De, Johannes V. Swinnen, Philippa T. K. Saunders, et al. 2004 A Sertoli Cell-Selective Knockout of the Androgen Receptor Causes Spermatogenic Arrest in Meiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(5). National Academy of Sciences: 1327–1332.
- Ghoumari, A. M., E. E. Baulieu, and M. Schumacher 2005 Progesterone Increases Oligodendroglial Cell Proliferation in Rat Cerebellar Slice Cultures. *Neuroscience* 135(1): 47–58.
- Ghoumari, A M, C Piochon, C Tomkiewicz, et al. 2006 Neuroprotective Effect of Mifepristone Involves Neuron Depolarization. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 20(9): 1377–86.

- Ghoumari, Abdel Mouman, Charly Abi Ghanem, Narimène Asbelaoui, Michael Schumacher, and Rashad Hussain 2020 Roles of Progesterone, Testosterone and Their Nuclear Receptors in Central Nervous System Myelination and Remyelination. *International Journal of Molecular Sciences* 21(9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 3163.
- Giaume, Christian 2010 Astroglial Wiring Is Adding Complexity to Neuroglial Networking. *Frontiers in Neuroenergetics* 2: 129.
- Giaume, Christian, and Christian C. Naus 2013 Connexins, Gap Junctions, and Glia. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling* 2(4): 133–142.
- Giera, Stefanie, Rong Luo, Yanqin Ying, et al. 2018 Microglial Transglutaminase-2 Drives Myelination and Myelin Repair via GPR56/ADGRG1 in Oligodendrocyte Precursor Cells. *ELife* 7: e33385.
- Gingele, Stefan, Florian Henkel, Sandra Heckers, et al. 2020 Delayed Demyelination and Impaired Remyelination in Aged Mice in the Cuprizone Model. *Cells* 9(4): 945.
- Ginhoux, Florent, and Martin Guilliams 2016 Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity* 44(3): 439–449.
- Gleichmann, M., C. Gillen, M. Czardybon, et al. 2000 Cloning and Characterization of SDF-1 $\gamma$ , a Novel SDF-1 Chemokine Transcript with Developmentally Regulated Expression in the Nervous System. *The European Journal of Neuroscience* 12(6): 1857–1866.
- Glezer, Isaias, Amelie Lapointe, and Serge Rivest 2006 Innate Immunity Triggers Oligodendrocyte Progenitor Reactivity and Confines Damages to Brain Injuries. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 20(6): 750–752.
- Goldschmidt, T., J. Antel, F. B. König, W. Brück, and T. Kuhlmann 2009 Remyelination Capacity of the MS Brain Decreases with Disease Chronicity. *Neurology* 72(22): 1914–1921.
- Gottlieb, Bruce, Lenore K. Beitel, Abbesha Nadarajah, Miltiadis Paliouras, and Mark Trifiro 2012 The Androgen Receptor Gene Mutations Database: 2012 Update. *Human Mutation* 33(5): 887–894.
- Govaerts, C., C. Blanpain, X. Deupi, et al. 2001 The TXP Motif in the Second Transmembrane Helix of CCR5. A Structural Determinant of Chemokine-Induced Activation. *The Journal of Biological Chemistry* 276(16): 13217–13225.
- Green, Ari J, Jeffrey M Gelfand, Bruce A Cree, et al. 2017 Clemastine Fumarate as a Remyelinating Therapy for Multiple Sclerosis (ReBUILD): A Randomised, Controlled, Double-Blind, Crossover Trial. *The Lancet* 390(10111): 2481–2489.
- Greer, Judith M. 2015 The Role of HLA in MS Susceptibility and Phenotype. *Current Topics in Behavioral Neurosciences* 26:1–27.
- Grino, P. B., J. E. Griffin, and J. D. Wilson 1990 Testosterone at High Concentrations Interacts with the Human Androgen Receptor Similarly to Dihydrotestosterone. *Endocrinology* 126(2): 1165–1172.
- Groves, A. K., S. C. Barnett, R. J. Franklin, et al. 1993 Repair of Demyelinated Lesions by Transplantation of Purified O-2A Progenitor Cells. *Nature* 362(6419): 453–455.
- Guenoun, R., R. J. Fiddes, M. Gouézou, M. Lombès, and E-E. Baulieu 1995 A Key Enzyme in the Biosynthesis of Neurosteroids, 3 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase/ $\Delta^5$ - $\Delta^4$ -Isomerase (3 $\beta$ -HSD), Is Expressed in Rat Brain. *Molecular Brain Research* 30(2): 287–300.

- Guennoun, R., F. Labombarda, M. C. Gonzalez Deniselle, et al. 2015 Progesterone and Allopregnanolone in the Central Nervous System: Response to Injury and Implication for Neuroprotection. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 146: 48–61.
- Guillemaud, Océane, Kelly Ceyzériat, Thomas Saint-Georges, et al. 2020 Complex Roles for Reactive Astrocytes in the Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. *Neurobiology of Aging* 90: 135–146.
- Hammang, J. P., D. R. Archer, and I. D. Duncan 1997 Myelination Following Transplantation of EGF-Responsive Neural Stem Cells into a Myelin-Deficient Environment. *Experimental Neurology* 147(1): 84–95.
- Hammond, Elizabeth, Jordan Lang, Yoshiko Maeda, et al. 2015 The Wnt Effector Transcription Factor 7-like 2 Positively Regulates Oligodendrocyte Differentiation in a Manner Independent of Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 35(12): 5007–5022.
- Hammond, Geoffrey L 2016 Plasma Steroid-Binding Proteins: Primary Gatekeepers of Steroid Hormone Action. *The Journal of Endocrinology* 230(1): R13–R25.
- Hammond, Jennifer, Quynh Le, Cynthia Goodyer, et al. 2001 Testosterone-Mediated Neuroprotection through the Androgen Receptor in Human Primary Neurons. *Journal of Neurochemistry* 77(5): 1319–1326.
- Han, Y., J. Wang, T. He, and R. M. Ransohoff 2001 TNF-Alpha down-Regulates CXCR4 Expression in Primary Murine Astrocytes. *Brain Research* 888(1): 1–10.
- Handa, Robert, Dharmendra Sharma, and Rosalie Uht 2011 A Role for the Androgen Metabolite, 5alpha Androstane 3beta, 17beta Diol (3 $\beta$ -Diol) in the Regulation of the Hypothalamo-Pituitary–Adrenal Axis. *Frontiers in Endocrinology* 2. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2011.00065>, accessed August 4, 2022.
- Handelsman, David J. 2011 Androgen Misuse and Abuse. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 25(2). *Male Reproductive Endocrinology*: 377–389.
- Harcha, Paloma A., Polett Garcés, Cristian Arredondo, et al. 2021 Mast Cell and Astrocyte Hemichannels and Their Role in Alzheimer’s Disease, ALS, and Harmful Stress Conditions. *International Journal of Molecular Sciences* 22(4): 1924.
- Haribabu, B., R. M. Richardson, I. Fisher, et al. 1997 Regulation of Human Chemokine Receptors CXCR4. Role of Phosphorylation in Desensitization and Internalization. *The Journal of Biological Chemistry* 272(45): 28726–28731.
- Harlow, Danielle E., Katherine E. Saul, Cecilia M. Culp, Elisa M. Vesely, and Wendy B. Macklin 2014 Expression of Proteolipid Protein Gene in Spinal Cord Stem Cells and Early Oligodendrocyte Progenitor Cells Is Dispensable for Normal Cell Migration and Myelination. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34(4): 1333–1343.
- Hartline, D. K., and D. R. Colman 2007 Rapid Conduction and the Evolution of Giant Axons and Myelinated Fibers. *Current Biology*: CB 17(1): R29-35.
- Harty, Breanne L., Fernanda Coelho, Sarah E. Pease-Raissi, et al. 2019 Myelinating Schwann Cells Ensheath Multiple Axons in the Absence of E3 Ligase Component Fbxw7. *Nature Communications* 10(1): 2976.
- Hashimoto, Hirokazu, Wen Jiang, Takeshi Yoshimura, et al. 2018 Strong Sonic Hedgehog Signaling in the Mouse Ventral Spinal Cord Is Not Required for Oligodendrocyte Precursor Cell (OPC) Generation but Is Necessary for Correct Timing of Its Generation. *Neurochemistry International* 119: 178–183.
- Hauser, Stephen L., and Bruce A.C. Cree 2020 Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *The American Journal of Medicine* 133(12): 1380-1390.e2.

- Haynes, Sharon E., Gunther Hollopeter, Guang Yang, et al. 2006 The P2Y<sub>12</sub> Receptor Regulates Microglial Activation by Extracellular Nucleotides. *Nature Neuroscience* 9(12): 1512–1519.
- Heemers, Hannelore V., and Donald J. Tindall 2007 Androgen Receptor (AR) Coregulators: A Diversity of Functions Converging on and Regulating the AR Transcriptional Complex. *Endocrine Reviews* 28(7): 778–808.
- Helbig, Gregory, Kent W. Christopherson, Poornima Bhat-Nakshatri, et al. 2003 NF- $\kappa$ B Promotes Breast Cancer Cell Migration and Metastasis by Inducing the Expression of the Chemokine Receptor CXCR4. *The Journal of Biological Chemistry* 278(24): 21631–21638.
- Herculano-Houzel, Suzana 2014 The Glia/Neuron Ratio: How It Varies Uniformly across Brain Structures and Species and What That Means for Brain Physiology and Evolution. *Glia* 62(9): 1377–1391.
- Herhaus, Peter, Jana Lipkova, Felicitas Lammer, et al. 2020 CXCR4-Targeted PET Imaging of Central Nervous System B-Cell Lymphoma. *Journal of Nuclear Medicine* 61(12). Society of Nuclear Medicine: 1765–1771.
- Hermann, Patrick C., Stephan L. Huber, Tanja Herrler, et al. 2007 Distinct Populations of Cancer Stem Cells Determine Tumor Growth and Metastatic Activity in Human Pancreatic Cancer. *Cell Stem Cell* 1(3): 313–323.
- Hernandez, Paolo A., Robert J. Gorlin, John N. Lukens, et al. 2003 Mutations in the Chemokine Receptor Gene CXCR4 Are Associated with WHIM Syndrome, a Combined Immunodeficiency Disease. *Nature Genetics* 34(1): 70–74.
- Hertz, Leif 2014 Book Review: “Glial Physiology and Pathophysiology” by Alexei Verkhratsky and Arthur Butt, Wiley-Blackwell, 2013. *Frontiers in Systems Neuroscience* 8: 17.
- Heskamp, Annemarie, Marco Leibinger, Anastasia Andreadaki, et al. 2013 CXCL12/SDF-1 Facilitates Optic Nerve Regeneration. *Neurobiology of Disease* 55: 76–86.
- Hesselgesser, J., D. Taub, P. Baskar, et al. 1998 Neuronal Apoptosis Induced by HIV-1 Gp120 and the Chemokine SDF-1 Alpha Is Mediated by the Chemokine Receptor CXCR4. *Current Biology: CB* 8(10): 595–598.
- Hildebrand, C. 1971 Ultrastructural and Light-Microscopic Studies of the Developing Feline Spinal Cord White Matter. I. The Nodes of Ranvier. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum* 364: 81–109.
- Hildebrand, C., S. Remahl, H. Persson, and C. Bjartmar. 1993 Myelinated Nerve Fibres in the CNS. *Progress in Neurobiology* 40(3): 319–384.
- Hill, Robert A., Kiran D. Patel, Jelena Medved, Alex M. Reiss, and Akiko Nishiyama 2013 NG2 Cells in White Matter but Not Gray Matter Proliferate in Response to PDGF. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33(36): 14558–14566.
- Ho, Teik K., X. Shiwen, D. Abraham, J. Tsui, and D. Baker 2012 Stromal-Cell-Derived Factor-1 (SDF-1)/CXCL12 as Potential Target of Therapeutic Angiogenesis in Critical Leg Ischaemia. *Cardiology Research and Practice* 2012: 143209.
- Hoeffel, Guillaume, Jinmiao Chen, Yonit Lavin, et al. 2015 C-Myb(+) Erythro-Myeloid Progenitor-Derived Fetal Monocytes Give Rise to Adult Tissue-Resident Macrophages. *Immunity* 42(4): 665–678.
- Hojo, Yasushi, Taka-Aki Hattori, Taihei Enami, et al. 2004 Adult Male Rat Hippocampus Synthesizes Estradiol from Pregnenolone by Cytochromes P45017 $\alpha$  and P450 Aromatase Localized in Neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(3): 865–870.
- Hojo, Yasushi, and Suguru Kawato 2018 Neurosteroids in Adult Hippocampus of Male and Female Rodents: Biosynthesis and Actions of Sex Steroids. *Frontiers in Endocrinology* 9.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00183>, accessed August 4, 2022.

- Holter, Elin, Noora Kotaja, Sari Mäkela, et al. 2002 Inhibition of Androgen Receptor (AR) Function by the Reproductive Orphan Nuclear Receptor DAX-1. *Molecular Endocrinology* (Baltimore, Md.) 16(3): 515–528.
- Hong, Xin, Feng Jiang, Steven N. Kalkanis, et al. 2006 SDF-1 and CXCR4 Are up-Regulated by VEGF and Contribute to Glioma Cell Invasion. *Cancer Letters* 236(1): 39–45.
- Honmou, O., P. A. Felts, S. G. Waxman, and J. D. Kocsis 1996 Restoration of Normal Conduction Properties in Demyelinated Spinal Cord Axons in the Adult Rat by Transplantation of Exogenous Schwann Cells. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 16(10): 3199–3208.
- Houben, Evelien, Kris Janssens, Doryssa Hermans, et al. 2020 Oncostatin M-Induced Astrocytic Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 Drives Remyelination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117(9): 5028–5038.
- Hu, Qi-Dong, Beng-Ti Ang, Meliha Karsak, et al. 2003 F3/Contactin Acts as a Functional Ligand for Notch during Oligodendrocyte Maturation. *Cell* 115(2): 163–175.
- Huang, Jeffrey K., and Robin J. M. Franklin 2012 Current Status of Myelin Replacement Therapies in Multiple Sclerosis. *Progress in Brain Research* 201: 219–231.
- Huang, Xiaoqin, Jianhua Shen, Meng Cui, et al. 2003 Molecular Dynamics Simulations on SDF-1 $\alpha$ : Binding with CXCR4 Receptor. *Biophysical Journal* 84(1): 171–184.
- Hughes, Catherine E., and Robert J. B. Nibbs 2018 A Guide to Chemokines and Their Receptors. *The Febs Journal* 285(16): 2944–2971.
- Hughes, Ethan G., and Bruce Appel 2016 The Cell Biology of CNS Myelination. *Current Opinion in Neurobiology* 39: 93–100.
- Hughes, Ethan G., Shin H. Kang, Masahiro Fukaya, and Dwight E. Bergles 2013 Oligodendrocyte Progenitors Balance Growth with Self-Repulsion to Achieve Homeostasis in the Adult Brain. *Nature Neuroscience* 16(6): 668–676.
- Hughes, S. M., L. E. Lillien, M. C. Raff, H. Rohrer, and M. Sendtner 1988 Ciliary Neurotrophic Factor Induces Type-2 Astrocyte Differentiation in Culture. *Nature* 335(6185): 70–73.
- Hussain, Rashad, Martine El-Etr, Ouardia Gaci, et al. 2011 Progesterone and Nestorone Facilitate Axon Remyelination: A Role for Progesterone Receptors. *Endocrinology* 152(10): 3820–3831.
- Hussain, Rashad, Abdel M. Ghomari, Bartosz Bielecki, et al. 2013 The Neural Androgen Receptor: A Therapeutic Target for Myelin Repair in Chronic Demyelination. *Brain* 136(1): 132–146.
- Huynh, Jimmy L., and Patrizia Casaccia 2013 Epigenetic Mechanisms in Multiple Sclerosis: Implications for Pathogenesis and Treatment. *The Lancet. Neurology* 12(2): 195–206.
- Huynh, Jimmy L., Paras Garg, Tin Htwe Thin, et al. 2014 Epigenome-Wide Differences in Pathology-Free Regions of Multiple Sclerosis-Affected Brains. *Nature Neuroscience* 17(1): 121–130.
- Ibanez, C., S. A. Shields, M. El-Etr, et al. 2003 Steroids and the Reversal of Age-Associated Changes in Myelination and Remyelination. *Progress in Neurobiology* 71(1). The Role of Neuroactive Steroids in Healthy Ageing Therapeutical Perspectives: 49–56.

- Ishii, Akihiro, Kazuhiro Ikenaka, and Steven E. Pfeiffer 2007 The N-Glycan Profile of Mouse Myelin, a Specialized Central Nervous System Membrane. *Journal of Neurochemistry* 103 Suppl 1: 25–31.
- Ishikawa, Tohru, Koh-ichi Nakashiro, Sebastian K. Klosek, et al. 2009 Hypoxia Enhances CXCR4 Expression by Activating HIF-1 in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oncology Reports* 21(3): 707–712.
- Itoyama, Y., A. Ohnishi, J. Tateishi, Y. Kuroiwa, and H. D. Webster 1985 Spinal Cord Multiple Sclerosis Lesions in Japanese Patients: Schwann Cell Remyelination Occurs in Areas That Lack Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP). *Acta Neuropathologica* 65(3–4): 217–223.
- Jablonska, Beata, Joseph Scafidi, Adan Aguirre, et al. 2012 Oligodendrocyte Regeneration after Neonatal Hypoxia Requires FoxO1-Mediated P27Kip1 Expression. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 32(42): 14775–14793.
- Jackman, Nicole, Akihiro Ishii, and Rashmi Bansal 2009 Oligodendrocyte Development and Myelin Biogenesis: Parsing out the Roles of Glycosphingolipids. *Physiology (Bethesda, Md.)* 24: 290–297.
- Jähnichen, Sven, Christophe Blanchetot, David Maussang, et al. 2010 CXCR4 Nanobodies (VHH-Based Single Variable Domains) Potently Inhibit Chemotaxis and HIV-1 Replication and Mobilize Stem Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(47): 20565–20570.
- Jäkel, Sarah, Eneritz Agirre, Ana Mendanha Falcão, et al. 2019 Altered Human Oligodendrocyte Heterogeneity in Multiple Sclerosis. *Nature* 566(7745): 543–547.
- Jakovcevski, Igor, Radmila Filipovic, Zhicheng Mo, Sonja Rakic, and Nada Zecevic 2009 Oligodendrocyte Development and the Onset of Myelination in the Human Fetal Brain. *Frontiers in Neuroanatomy* 3: 5.
- James Bates, Rachel E, Eleanor Browne, Renee Schalks, et al. 2021 Lymphotoxin-Alpha Expression in the Meninges Causes Lymphoid Tissue Formation and Neurodegeneration. Preprint. *Neuroscience*.  
<http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.04.27.441396>, accessed July 13, 2022.
- Jaracz-Ros, Agnieszka, Guillaume Bernadat, Pasquale Cutolo, et al. 2020 Differential Activity and Selectivity of N-Terminal Modified CXCL12 Chemokines at the CXCR4 and ACKR3 Receptors. *Journal of Leukocyte Biology* 107(6): 1123–1135.
- Jessen, Kristjan R., and Rhona Mirsky 2005 The Origin and Development of Glial Cells in Peripheral Nerves. *Nature Reviews. Neuroscience* 6(9): 671–682.
- Ji, Jun Feng, Bei Ping He, S. Thameem Dheen, and Samuel Sam Wah Tay 2004 Expression of Chemokine Receptors CXCR4, CCR2, CCR5 and CX3CR1 in Neural Progenitor Cells Isolated from the Subventricular Zone of the Adult Rat Brain. *Neuroscience Letters* 355(3): 236–240.
- Jiang, Kuo, Jia Li, Jitao Zhang, et al. 2019 SDF-1/CXCR4 Axis Facilitates Myeloid-Derived Suppressor Cells Accumulation in Osteosarcoma Microenvironment and Blunts the Response to Anti-PD-1 Therapy. *International Immunopharmacology* 75: 105818.
- Jourdan, P., J. P. Vendrell, M. F. Hugué, et al. 2000 Cytokines and Cell Surface Molecules Independently Induce CXCR4 Expression on CD4+ CCR7+ Human Memory T Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 165(2): 716–724.
- Kadakia, Tejas, Xuguang Tai, Michael Kruhlak, et al. 2019 E-Protein-Regulated Expression of CXCR4 Adheres Preselection Thymocytes to the Thymic Cortex. *The Journal of Experimental Medicine* 216(8): 1749–1761.
- Kaiser, Lisa Marie, Zachary R. Hunter, Steven P. Treon, and Christian Buske 2021 CXCR4 in Waldenström's Macroglobulinemia: Chances and Challenges. *Leukemia* 35(2). Nature Publishing Group: 333–345.

- Kampman, M. T., T. Wilsgaard, and S. I. Mellgren 2007 Outdoor Activities and Diet in Childhood and Adolescence Relate to MS Risk above the Arctic Circle. *Journal of Neurology* 254(4): 471–477.
- Kanceva, R., L. Stárka, L. Kancheva, et al. 2015 Increased Serum Levels of C21 Steroids in Female Patients with Multiple Sclerosis. *Physiological Research* 64(Suppl 2): S247-254.
- Kang, J., L. Jiang, S. A. Goldman, and M. Nedergaard 1998 Astrocyte-Mediated Potentiation of Inhibitory Synaptic Transmission. *Nature Neuroscience* 1(8): 683–692.
- Kang, Shin H., Masahiro Fukaya, Jason K. Yang, Jeffrey D. Rothstein, and Dwight E. Bergles 2010 NG2+ CNS Glial Progenitors Remain Committed to the Oligodendrocyte Lineage in Postnatal Life and Following Neurodegeneration. *Neuron* 68(4): 668–681.
- Kang, Zizhen, Chenhui Wang, Jarod Zepp, et al. 2013 Act1 Mediates IL-17-Induced EAE Pathogenesis Selectively in NG2+ Glial Cells. *Nature Neuroscience* 16(10): 1401–1408.
- Kashyap, Manoj K., Deepak Kumar, Harrison Jones, et al. 2016 Ulocuplumab (BMS-936564 / MDX1338): A Fully Human Anti-CXCR4 Antibody Induces Cell Death in Chronic Lymphocytic Leukemia Mediated through a Reactive Oxygen Species-Dependent Pathway. *Oncotarget* 7(3): 2809–2822.
- Katayama, Akihiro, Takeshi Ogino, Nobuyuki Bandoh, Satoshi Nonaka, and Yasuaki Harabuchi 2005 Expression of CXCR4 and Its Down-Regulation by IFN- $\gamma$  in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 11(8): 2937–2946.
- Katsuoka, Fumiki, and Masayuki Yamamoto 2016 Small Maf Proteins (MafF, MafG, MafK): History, Structure and Function. *Gene* 586(2): 197–205.
- Kawai, Toshinao, and Harry L. Malech 2009 WHIM Syndrome: Congenital Immune Deficiency Disease. *Current Opinion in Hematology* 16(1): 20–26.
- Keirstead, H. S., and W. F. Blakemore 1997 Identification of Post-Mitotic Oligodendrocytes Incapable of Remyelination within the Demyelinated Adult Spinal Cord. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 56(11): 1191–1201.
- Kerr, J. E., R. J. Allore, S. G. Beck, and R. J. Handa 1995 Distribution and Hormonal Regulation of Androgen Receptor (AR) and AR Messenger Ribonucleic Acid in the Rat Hippocampus. *Endocrinology* 136(8): 3213–3221.
- Kessaris, Nicoletta, Matthew Fogarty, Palma Iannarelli, et al. 2006 Competing Waves of Oligodendrocytes in the Forebrain and Postnatal Elimination of an Embryonic Lineage. *Nature Neuroscience* 9(2): 173–179.
- Kettenmann, Helmut, Uwe-Karsten Hanisch, Mami Noda, and Alexei Verkhratsky 2011 Physiology of Microglia. *Physiological Reviews* 91(2): 461–553.
- Kettenmann, Helmut, and Bruce R. Ransom 2013 *Neuroglia*. OUP USA.
- Khakh, Baljit S., Vahri Beaumont, Roger Cachope, et al. 2017 Unravelling and Exploiting Astrocyte Dysfunction in Huntington's Disease. *Trends in Neurosciences* 40(7): 422–437.
- Khalaj, Anna J., Jaehee Yoon, Jaspreet Nakai, et al. 2013 Estrogen Receptor (ER)  $\beta$  Expression in Oligodendrocytes Is Required for Attenuation of Clinical Disease by an ER $\beta$  Ligand. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(47): 19125–19130.
- Khan, Muhammad Z., Saori Shimizu, Jeegar P. Patel, et al. 2005 Regulation of Neuronal P53 Activity by CXCR 4. *Molecular and Cellular Neurosciences* 30(1): 58–66.

- Kim, Roy Y., Alexandria S. Hoffman, Noriko Itoh, et al. 2014 Astrocyte CCL2 Sustains Immune Cell Infiltration in Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology* 274(1–2): 53–61.
- Kim, Woojun, and Ho Jin Kim 2009 Multiple Sclerosis. *Journal of the Korean Medical Association* 52: 665.
- Kimoto, Tetsuya, Hirotaka Ishii, Shimpei Higo, Yasushi Hojo, and Suguru Kawato 2010 Semicomprehensive Analysis of the Postnatal Age-Related Changes in the mRNA Expression of Sex Steroidogenic Enzymes and Sex Steroid Receptors in the Male Rat Hippocampus. *Endocrinology* 151(12): 5795–5806.
- King, Steven R., Pulak R. Manna, Tomohiro Ishii, et al. 2002 An Essential Component in Steroid Synthesis, the Steroidogenic Acute Regulatory Protein, Is Expressed in Discrete Regions of the Brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22(24): 10613–10620.
- Kinter, Kevin J., and Aabha A. Anekar 2022 Biochemistry, Dihydrotestosterone. In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557634/>, accessed June 27, 2022.
- Kirby, Brandon B., Norio Takada, Andrew J. Latimer, et al. 2006 In Vivo Time-Lapse Imaging Shows Dynamic Oligodendrocyte Progenitor Behavior during Zebrafish Development. *Nature Neuroscience* 9(12): 1506–1511.
- Köhidaï, L. 1999 Chemotaxis: The Proper Physiological Response to Evaluate Phylogeny of Signal Molecules. *Acta Biologica Hungarica* 50(4): 375–394.
- Kollet, Orit, Shoham Shivtiel, Yuan-Qing Chen, et al. 2003 HGF, SDF-1, and MMP-9 Are Involved in Stress- Induced Human CD34+ Stem Cell Recruitment to the Liver. *The Journal of Clinical Investigation* 112(2): 160– 169.
- Koochekpour, Shahriar 2010 Androgen Receptor Signaling and Mutations in Prostate Cancer. *Asian Journal of Andrology* 12(5): 639–657.
- Kotter, M. R., A. Setzu, F. J. Sim, N. Van Rooijen, and R. J. Franklin 2001 Macrophage Depletion Impairs Oligodendrocyte Remyelination Following Lysolecithin-Induced Demyelination. *Glia* 35(3): 204–212.
- Kremer, David, Qiao-Ling Cui, Peter Göttle, et al. 2016 ACKR3 Is Involved in Human Oligodendroglial Precursor Cell Maturation. *PloS One* 11(1): e0146503.
- Kritzer, Mary 2004 The Distribution of Immunoreactivity for Intracellular Androgen Receptors in the Cerebral Cortex of Hormonally Intact Adult Male and Female Rats: Localization in Pyramidal Neurons Making Corticocortical Connections. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 14(3): 268–280.
- Krumbholz, Markus, Diethilde Theil, Sabine Cepok, et al. 2006 Chemokines in Multiple Sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-Regulation Is Differentially Linked to CNS Immune Cell Recruitment. *Brain: A Journal of Neurology* 129(Pt 1): 200–211.
- Krupnick, J. G., and J. L. Benovic 1998 The Role of Receptor Kinases and Arrestins in G Protein-Coupled Receptor Regulation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 38: 289–319.
- Kucenas, Sarah, Wen-Der Wang, Ela W. Knapik, and Bruce Appel 2009A Selective Glial Barrier at Motor Axon Exit Points Prevents Oligodendrocyte Migration from the Spinal Cord. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29(48): 15187–15194.
- Kucia, Magda, Kacper Jankowski, Ryan Reza, et al. 2004 CXCR4-SDF-1 Signalling, Locomotion, Chemotaxis and Adhesion. *Journal of Molecular Histology* 35(3): 233–245.



- Kufareva, Irina, Bryan S. Stephens, Lauren G. Holden, et al. 2014 Stoichiometry and Geometry of the CXC Chemokine Receptor 4 Complex with CXC Ligand 12: Molecular Modeling and Experimental Validation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(50): E5363-5372.
- Kuhlmann, T., V. Miron, Q. Cui, et al. 2008 Differentiation Block of Oligodendroglial Progenitor Cells as a Cause for Remyelination Failure in Chronic Multiple Sclerosis. *Brain: A Journal of Neurology* 131(Pt 7): 1749–1758.
- Kuhlmann, Tanja, Hans Lassmann, and Wolfgang Brück 2008 Diagnosis of Inflammatory Demyelination in Biopsy Specimens: A Practical Approach. *Acta Neuropathologica* 115(3): 275–287.
- Kuhn, Sarah, Laura Gritti, Daniel Crooks, and Yvonne Dombrowski 2019 Oligodendrocytes in Development, Myelin Generation and Beyond. *Cells* 8(11): 1424.
- Kuhne, Michelle R., Tanya Mulvey, Blake Belanger, et al. 2013 BMS-936564/MDX-1338: A Fully Human Anti- CXCR4 Antibody Induces Apoptosis in Vitro and Shows Antitumor Activity in Vivo in Hematologic Malignancies. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19(2): 357–366.
- Kuliszewski, Michael A., Jeremy Kobulnik, Jonathan R. Lindner, Duncan J. Stewart, and Howard Leong-Poi 2011 Vascular Gene Transfer of SDF-1 Promotes Endothelial Progenitor Cell Engraftment and Enhances Angiogenesis in Ischemic Muscle. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy* 19(5): 895–902.
- Kurth, Florian, Eileen Luders, Nancy L. Sicotte, et al. 2014 Neuroprotective Effects of Testosterone Treatment in Men with Multiple Sclerosis. *NeuroImage. Clinical* 4: 454–460.
- Kwong, Joseph, Hagen Kulbe, Donald Wong, Probir Chakravarty, and Fran Balkwill 2009 An Antagonist of the Chemokine Receptor CXCR4 Induces Mitotic Catastrophe in Ovarian Cancer Cells. *Molecular Cancer Therapeutics* 8(7): 1893–1905.
- Kwong, P. D., R. Wyatt, J. Robinson, et al. 1998 Structure of an HIV Gp120 Envelope Glycoprotein in Complex with the CD4 Receptor and a Neutralizing Human Antibody. *Nature* 393(6686): 648–659.
- Labombarda, Florencia, Abdel Moumen Ghoumari, Philippe Liere, et al. 2013 Neuroprotection by Steroids after Neurotrauma in Organotypic Spinal Cord Cultures: A Key Role for Progesterone Receptors and Steroidal Modulators of GABAA Receptors. *Neuropharmacology* 71: 46–55.
- Lagane, Bernard, Ken Y. C. Chow, Karl Balabanian, et al. 2008 CXCR4 Dimerization and  $\beta$ -Arrestin–Mediated Signaling Account for the Enhanced Chemotaxis to CXCL12 in WHIM Syndrome. *Blood* 112(1): 34–44.
- Lai, Wenjia, Jing Wu, Xiao Zou, et al. 2013 Secretome Analyses of A $\beta$ (1-42) Stimulated Hippocampal Astrocytes Reveal That CXCL10 Is Involved in Astrocyte Migration. *Journal of Proteome Research* 12(2): 832–843.
- Lamb, Alastair D., Charlie E. Massie, and David E. Neal 2014 The Transcriptional Programme of the Androgen Receptor (AR) in Prostate Cancer. *BJU International* 113(3): 358–366.
- Lampron, Antoine, Antoine Laroche, Nathalie Laflamme, et al. 2015 Inefficient Clearance of Myelin Debris by Microglia Impairs Remyelinating Processes. *Journal of Experimental Medicine* 212(4): 481–495.
- Laouarem, Yousra, Abdelmoumen Kassoussi, Amina Zahaf, et al. 2021 Functional Cooperation of the Hedgehog and Androgen Signaling Pathways during Developmental and Repairing Myelination. *Glia* 69(6): 1369–1392.
- Laparidou, Maria, Antonina Schlickerrieder, Theresa Thoma, Kamila Lengyel, and Benjamin Schusser 2020 Blocking of the CXCR4-CXCL12 Interaction Inhibits the Migration of Chicken B Cells Into the Bursa of Fabricius. *Frontiers in Immunology* 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.03057>, accessed August 9, 2022.
- Lapidot, Tsvee, Ayelet Dar, and Orit Kollet 2005 How Do Stem Cells Find Their Way Home? *Blood* 106(6): 1901– 1910.

- Laporte, Stéphane A., Robert H. Oakley, Jie Zhang, et al. 1999 The B2-Adrenergic Receptor/Barrestin Complex Recruits the Clathrin Adaptor AP-2 during Endocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(7): 3712–3717.
- Lassmann, Hans, Jack van Horssen, and Don Mahad 2012 Progressive Multiple Sclerosis: Pathology and Pathogenesis. *Nature Reviews. Neurology* 8(11): 647–656.
- Laule, Cornelia, Irene M. Vavasour, Shannon H. Kolind, et al. 2007 Magnetic Resonance Imaging of Myelin. *Neurotherapeutics* 4(3): 460–484.
- Laurson, Lisbeth S., Colin W. Chan, and Charles Ffrench-Constant 2011 Translation of Myelin Basic Protein mRNA in Oligodendrocytes Is Regulated by Integrin Activation and HnRNP-K. *The Journal of Cell Biology* 192(5): 797–811.
- Lavdas, Alexandros A., Isabelle Franceschini, Monique Dubois-Dalcq, and Rebecca Matsas 2006 Schwann Cells Genetically Engineered to Express PSA Show Enhanced Migratory Potential without Impairment of Their Myelinating Ability in Vitro. *Glia* 53(8): 868–878.
- Lawson, L. J., V. H. Perry, and S. Gordon 1992 Turnover of Resident Microglia in the Normal Adult Mouse Brain. *Neuroscience* 48(2): 405–415.
- Le, Trang N., John E. Nestler, Jerome F. Strauss, and Edmond P. Wickham 2012 Sex Hormone-Binding Globulin and Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 23(1): 32–40.
- Lee, Hong-Gyun, Michael A. Wheeler, and Francisco J. Quintana 2022 Function and Therapeutic Value of Astrocytes in Neurological Diseases. *Nature Reviews Drug Discovery* 21(5). Nature Publishing Group: 339–358.
- Lee, Hye Hyeon, Jin-Woo Jeong, Su Hyun Hong, et al. 2018 Diallyl Trisulfide Suppresses the Production of Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Mediators in BV2 Microglia by Decreasing the NF-KB Pathway Activity Associated With Toll-like Receptor 4 and CXCL12/CXCR4 Pathway Blockade. *Journal of Cancer Prevention* 23(3): 134–140.
- Leicaj, María L., Laura A. Pasquini, Analia Lima, et al. 2018 Changes in Neurosteroidogenesis during Demyelination and Remyelination in Cuprizone-Treated Mice. *Journal of Neuroendocrinology* 30(11): e12649.
- Lentferink, Dennis H., Jacomien M. Jongsma, Inge Werkman, and Wia Baron 2018 Grey Matter OPC Are Less Mature and Less Sensitive to IFN $\gamma$  than White Matter OPC: Consequences for Remyelination. *Scientific Reports* 8(1): 2113.
- Leschner, Jasmin, Goeran Wennerberg, Jens Feierler, et al. 2013 Interruption of the Ionic Lock in the Bradykinin B2 Receptor Results in Constitutive Internalization and Turns Several Antagonists into Strong Agonists. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 344(1): 85–95.
- Leung, Thomas H., Emily R. Snyder, Yinghua Liu, Jing Wang, and Seung K. Kim 2015 A Cellular, Molecular, and Pharmacological Basis for Appendage Regeneration in Mice. *Genes & Development* 29(20): 2097–2107.
- Levine, J. M., and R. Reynolds 1999 Activation and Proliferation of Endogenous Oligodendrocyte Precursor Cells during Ethidium Bromide-Induced Demyelination. *Experimental Neurology* 160(2): 333–347.
- Levine, J. M., R. Reynolds, and J. W. Fawcett 2001 The Oligodendrocyte Precursor Cell in Health and Disease. *Trends in Neurosciences* 24(1): 39–47.
- Levoye, Angélique, Karl Balabanian, Françoise Baleux, Françoise Bachelerie, and Bernard Lagane 2009 ACKR3 Heterodimerizes with CXCR4 and Regulates CXCL12-Mediated G Protein Signaling. *Blood* 113(24): 6085–6093.

- Li, Guangnan, Hillel Adesnik, Jennifer Li, et al. 2008 Regional Distribution of Cortical Interneurons and Development of Inhibitory Tone Are Regulated by Cxcl12/Cxcr4 Signaling. *Journal of Neuroscience* 28(5). Society for Neuroscience: 1085–1098.
- Li, Jiasi, Lei Zhang, Yongxin Chu, et al. 2016 Astrocytes in Oligodendrocyte Lineage Development and White Matter Pathology. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 10: 119.
- Li, Jin, and Farook Al-Azzawi 2009 Mechanism of Androgen Receptor Action. *Maturitas* 63(2): 142–148.
- Li, Shao, Xi Wang, Quan-Hong Ma, et al. 2016 Amyloid Precursor Protein Modulates Nav1.6 Sodium Channel Currents through a Go-Coupled JNK Pathway. *Scientific Reports* 6: 39320.
- Li, Shasha, Leo Holguin, and John C. Burnett 2022 CRISPR-Cas9-Mediated Gene Disruption of HIV-1 Co- Receptors Confers Broad Resistance to Infection in Human T Cells and Humanized Mice. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development* 24. Elsevier: 321–331.
- Li, Yaning, Guanghui Tang, Yanqun Liu, et al. 2015 CXCL12 Gene Therapy Ameliorates Ischemia-Induced White Matter Injury in Mouse Brain. *Stem Cells Translational Medicine* 4(10): 1122–1130.
- Li, Zhifang, Yangtao He, Shuangyi Fan, and Binbin Sun 2015 Clemastine Rescues Behavioral Changes and Enhances Remyelination in the Cuprizone Mouse Model of Demyelination. *Neuroscience Bulletin* 31(5): 617– 625.
- Liang, Zhongxing, Tao Wu, Hong Lou, et al. 2004 Inhibition of Breast Cancer Metastasis by Selective Synthetic Polypeptide against CXCR4. *Cancer Research* 64(12): 4302–4308.
- Liang, Zhongxing, Weiqiang Zhan, Aizhi Zhu, et al. 2012 Development of a Unique Small Molecule Modulator of CXCR4. *PLoS ONE* 7(4): e34038.
- Liao, Guoqing, Lih-Yow Chen, Aihua Zhang, et al. 2003 Regulation of Androgen Receptor Activity by the Nuclear Receptor Corepressor SMRT. *The Journal of Biological Chemistry* 278(7): 5052–5061.
- Liao, Zhi-Kai, Shuang-Hai Hu, Bin-Yu Han, et al. 2021 Pro-Pigmentary Action of 5-Fluorouracil through the Stimulated Secretion of CXCL12 by Dermal Fibroblasts. *Chinese Medical Journal* 134(20): 2475–2482.
- Licht-Mayer, Simon, Graham R. Campbell, Marco Canizares, et al. 2020 Enhanced Axonal Response of Mitochondria to Demyelination Offers Neuroprotection: Implications for Multiple Sclerosis. *Acta Neuropathologica* 140(2): 143–167.
- Liddelow, Shane A., Kevin A. Guttenplan, Laura E. Clarke, et al. 2017 Neurotoxic Reactive Astrocytes Are Induced by Activated Microglia. *Nature* 541(7638). Nature Publishing Group: 481–487.
- Limatola, C., A. Giovannelli, L. Maggi, et al. 2000 SDF-1alpha-Mediated Modulation of Synaptic Transmission in Rat Cerebellum. *The European Journal of Neuroscience* 12(7): 2497–2504.
- Lin, Wensheng, April Kemper, Jeffrey L. Dupree, et al. 2006 Interferon-Gamma Inhibits Central Nervous System Remyelination through a Process Modulated by Endoplasmic Reticulum Stress. *Brain: A Journal of Neurology* 129(Pt 5): 1306–1318.
- Lindner, Maren, Katja Thümmler, Ariel Arthur, et al. 2015 Fibroblast Growth Factor Signalling in Multiple Sclerosis: Inhibition of Myelination and Induction of pro-Inflammatory Environment by FGF9. *Brain: A Journal of Neurology* 138(Pt 7): 1875–1893.
- Link, Hans, and Yu-Min Huang 2006 Oligoclonal Bands in Multiple Sclerosis Cerebrospinal Fluid: An Update on Methodology and Clinical Usefulness. *Journal of Neuroimmunology* 180(1–2): 17–28.

- Linnerbauer, Mathias, Michael A. Wheeler, and Francisco J. Quintana 2020 Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. *Neuron* 108(4): 608–622.
- Linnington, Christopher, Michael Webb, and Peter L. Woodhams 1984 A Novel Myelin-Associated Glycoprotein Defined by a Mouse Monoclonal Antibody. *Journal of Neuroimmunology* 6(6). Elsevier: 387–396.
- Lipton, H. L., G. Twaddle, and M. L. Jelachich 1995 The Predominant Virus Antigen Burden Is Present in Macrophages in Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus-Induced Demyelinating Disease. *Journal of Virology* 69(4): 2525–2533.
- Liu, Qian, Catherina Pan, Lizbeeth Lopez, et al. 2016 WHIM Syndrome Caused by Waldenström's Macroglobulinemia-Associated Mutation CXCR4 (L329fs). *Journal of Clinical Immunology* 36(4): 397–405.
- Liu, Xihui, Ryan Bates, Dong-Min Yin, et al. 2011 Specific Regulation of NRG1 Isoform Expression by Neuronal Activity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 31(23): 8491–8501.
- Livak, K. J., and T. D. Schmittgen 2001 Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)* 25(4): 402–408.
- Lloyd, Amy F., Claire L. Davies, Rebecca K. Holloway, et al. 2019 Central Nervous System Regeneration Is Driven by Microglia Necroptosis and Repopulation. *Nature Neuroscience* 22(7): 1046–1052.
- Lloyd, Amy F., and Veronique E. Miron 2019 The Pro-Remyelination Properties of Microglia in the Central Nervous System. *Nature Reviews. Neurology* 15(8): 447–458.
- Locatelli, Giuseppe, Delphine Theodorou, Arek Kendirli, et al. 2018 Mononuclear Phagocytes Locally Specify and Adapt Their Phenotype in a Multiple Sclerosis Model. *Nature Neuroscience* 21(9): 1196–1208.
- Loetscher, M., T. Geiser, T. O'Reilly, et al. 1994 Cloning of a Human Seven-Transmembrane Domain Receptor, LESTR, That Is Highly Expressed in Leukocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 269(1): 232–237.
- Lopez-Lee, Chloe, Lay Kodama, and Li Gan 2022 Sex Differences in Neurodegeneration: The Role of the Immune System in Humans. *Biological Psychiatry* 91(1). *Insight Into Sex Differences in Psychiatric Syndromes From Transcriptomic Analyses*: 72–80.
- Lorente, David, Joaquin Mateo, Zafeiris Zafeiriou, et al. 2015 Switching and Withdrawing Hormonal Agents for Castration-Resistant Prostate Cancer. *Nature Reviews. Urology* 12(1): 37–47.
- Lucas-Herald, Angela K., Rheure Alves-Lopes, Augusto C. Montezano, S. Faisal Ahmed, and Rhian M. Touyz 2017 Genomic and Non-Genomic Effects of Androgens in the Cardiovascular System: Clinical Implications. *Clinical Science (London, England : 1979)* 131(13): 1405–1418.
- Luchetti, Sabina, Koen Bossers, Saskia Van de Bilt, et al. 2011 Neurosteroid Biosynthetic Pathways Changes in prefrontal Cortex in Alzheimer's Disease. *Neurobiology of Aging* 32(11): 1964–1976.
- Luchetti, Sabina, Corbert G. van Eden, Karianne Schuurman, et al. 2014 Gender Differences in Multiple Sclerosis: Induction of Estrogen Signaling in Male and Progesterone Signaling in Female Lesions. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 73(2): 123–135.
- Luchetti, Sabina, Nina L. Fransen, Corbert G. van Eden, et al. 2018 Progressive Multiple Sclerosis Patients Show Substantial Lesion Activity That Correlates with Clinical Disease Severity and Sex: A Retrospective Autopsy Cohort Analysis. *Acta Neuropathologica* 135(4): 511–528.

- Ludwin, S. K. 1980 Chronic Demyelination Inhibits Remyelination in the Central Nervous System. An Analysis of Contributing Factors. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 43(4): 382–387.
- Luo, Xin, Wai L Tai, Liting Sun, et al. 2016 Crosstalk between Astrocytic CXCL12 and Microglial CXCR4 Contributes to the Development of Neuropathic Pain. *Molecular Pain* 12: 1744806916636385.
- Lutz, Sarah E., Yongmei Zhao, Maria Gulinello, et al. 2009 Deletion of Astrocyte Connexins 43 and 30 Leads to a Demyelinating Phenotype and Hippocampal CA1 Vacuolation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29(24): 7743–7752.
- Ma, Dan, Bower Wang, Malgorzata Zawadzka, et al. 2018 A Subpopulation of Foxj1-Expressing, Nonmyelinating Schwann Cells of the Peripheral Nervous System Contribute to Schwann Cell Remyelination in the Central Nervous System. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 38(43): 9228–9239.
- Ma, Q., D. Jones, P. R. Borghesani, et al. 1998 Impaired B-Lymphopoiesis, Myelopoiesis, and Derailed Cerebellar Neuron Migration in CXCR4- and SDF-1-Deficient Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(16): 9448–9453.
- Ma, Q., D. Jones, and T. A. Springer 1999 The Chemokine Receptor CXCR4 Is Required for the Retention of B Lineage and Granulocytic Precursors within the Bone Marrow Microenvironment. *Immunity* 10(4): 463–471.
- Madry, Christian, Vasiliki Kyrargyri, I. Lorena Arancibia-Cárcamo, et al. 2018 Microglial Ramification, Surveillance, and Interleukin-1 $\beta$  Release Are Regulated by the Two-Pore Domain K<sup>+</sup> Channel THIK-1. *Neuron* 97(2): 299-312.e6.
- Madsen, Pernille M., Dario Motti, Shaffiat Karmally, et al. 2016 Oligodendroglial TNFR2 Mediates Membrane TNF-Dependent Repair in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Promoting Oligodendrocyte Differentiation and Remyelination. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 36(18): 5128–5143.
- Makinodan, Manabu, Kenneth M. Rosen, Susumu Ito, and Gabriel Corfas 2012 A Critical Period for Social Experience-Dependent Oligodendrocyte Maturation and Myelination. *Science (New York, N.Y.)* 337(6100): 1357–1360.
- Mallon, Barbara S., H. Elizabeth Shick, Grahame J. Kidd, and Wendy B. Macklin 2002 Proteolipid Promoter Activity Distinguishes Two Populations of NG2-Positive Cells throughout Neonatal Cortical Development. *Journal of Neuroscience* 22(3). *Society for Neuroscience*: 876–885.
- Mantovani, Alberto, Raffaella Bonecchi, and Massimo Locati 2006 Tuning Inflammation and Immunity by Chemokine Sequestration: Decoys and More. *Nature Reviews. Immunology* 6(12): 907–918.
- Mantovani, Alberto, Benedetta Savino, Massimo Locati, et al. 2010 The Chemokine System in Cancer Biology and Therapy. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 21(1). *Inflammation and Cancer*: 27–39.
- Marchese, A., and J. L. Benovic 2001 Agonist-Promoted Ubiquitination of the G Protein-Coupled Receptor CXCR4 Mediates Lysosomal Sorting. *The Journal of Biological Chemistry* 276(49): 45509–45512.
- Marchese, Adriano, Catherine Chen, You-Me Kim, and Jeffrey L. Benovic 2003 The Ins and Outs of G Protein-Coupled Receptor Trafficking. *Trends in Biochemical Sciences* 28(7): 369–376.
- Marin-Husstege, Mireya, Michela Muggironi, Aixiao Liu, and Patricia Casaccia-Bonofil 2002 Histone acetylase Activity Is Necessary for Oligodendrocyte Lineage Progression. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22(23): 10333–10345.
- Masaki, Katsuhisa 2015 Early Disruption of Glial Communication via Connexin Gap Junction in Multiple Sclerosis, Baló's Disease and Neuromyelitis Optica. *Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology* 35(5): 469–480.

- Mason, J. L., K. Suzuki, D. D. Chaplin, and G. K. Matsushima 2001 Interleukin-1 $\beta$  Promotes Repair of the CNS. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 21(18): 7046–7052.
- Mason, Jeffrey L., Shouhong Xuan, Ioannis Dragatsis, Argiris Efstratiadis, and James E. Goldman 2003 Insulin-like Growth Factor (IGF) Signaling through Type 1 IGF Receptor Plays an Important Role in Remyelination. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23(20): 7710–7718.
- Massena, Sara, Gustaf Christoffersson, Elina Hjertström, et al. 2010 A Chemotactic Gradient Sequestered on Endothelial Heparan Sulfate Induces Directional Intraluminal Crawling of Neutrophils. *Blood* 116(11): 1924–1931.
- Masuda, M., H. Nakashima, T. Ueda, et al. 1992 A Novel Anti-HIV Synthetic Peptide, T-22 ([Tyr<sup>5,12</sup>,Lys<sup>7</sup>]- Polyphemusin II). *Biochemical and Biophysical Research Communications* 189(2): 845–850.
- Masuda, Takahiro, Roman Sankowski, Ori Staszewski, and Marco Prinz 2020 Microglia Heterogeneity in the Single-Cell Era. *Cell Reports* 30(5): 1271–1281.
- Matsumoto, Takahiro, Hiroko Shiina, Hirotaka Kawano, Takashi Sato, and Shigeaki Kato 2008 Androgen receptor Functions in Male and Female Physiology. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 109(3). 12th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer - Part 2 (Athens, Greece, 13-16 September 2006): 236–241.
- Matsushima, G. K., and P. Morell 2001 The Neurotoxicant, Cuprizone, as a Model to Study Demyelination and Remyelination in the Central Nervous System. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)* 11(1): 107–116.
- Mayo, Lior, Andre Pires Da Cunha, Asaf Madi, et al. 2016 IL-10-Dependent Tr1 Cells Attenuate Astrocyte Activation and Ameliorate Chronic Central Nervous System Inflammation. *Brain: A Journal of Neurology* 139(Pt 7): 1939–1957.
- Maysami, Samaneh, Dan Nguyen, Franziska Zobel, et al. 2006 Modulation of Rat Oligodendrocyte Precursor Cells by the Chemokine CXCL12. *Neuroreport* 17(11): 1187–1190.
- McCormick, Peter J., Marta Segarra, Paola Gasperini, A. Virginia Gulino, and Giovanna Tosato 2009 Impaired Recruitment of Grk6 and Beta-Arrestin 2 Causes Delayed Internalization and Desensitization of a WHIM Syndrome-Associated CXCR4 Mutant Receptor. *PloS One* 4(12): e8102.
- McDermott, Kieran W, Denis S Barry, and Siobhan S McMahon 2005 Role of Radial Glia in Cytogenesis, Patterning and Boundary Formation in the Developing Spinal Cord. *Journal of Anatomy* 207(3): 241–50.
- McGrath, K. E., A. D. Koniski, K. M. Maltby, J. K. McGann, and J. Palis 1999 Embryonic Expression and Function of the Chemokine SDF-1 and Its Receptor, CXCR4. *Developmental Biology* 213(2): 442–456.
- Meffre, Delphine, Ghjuvan’Ghjacomu Shackelford, Mehdi Hichor, et al. 2015 Liver X Receptors Alpha and Beta Promote Myelination and Remyelination in the Cerebellum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112(24): 7587–7592.
- Mei, Feng, S. Y. Christin Chong, and Jonah R. Chan 2013 Myelin-Based Inhibitors of Oligodendrocyte Myelination: Clues from Axonal Growth and Regeneration. *Neuroscience Bulletin* 29(2): 177–188.
- Mellon, Synthia H., and Christian F. Deschepper 1993 Neurosteroid Biosynthesis: Genes for Adrenal Steroidogenic Enzymes Are Expressed in the Brain. *Brain Research* 629(2): 283–292.
- Mensah-Nyagan, Ayikoe G., Jean-Luc Do-Rego, Delphine Beaujean, et al. 1999 Neurosteroids: Expression of Steroidogenic Enzymes and Regulation of Steroid Biosynthesis in the Central Nervous System. *Pharmacological Reviews* 51(1). American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics: 63–82.

- Mi, Sha, Bing Hu, Kyungmin Hahm, et al. 2007 LINGO-1 Antagonist Promotes Spinal Cord Remyelination and Axonal Integrity in MOG-Induced Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Nature Medicine* 13(10): 1228–1233.
- Mi, Sha, Robert H Miller, Xinhua Lee, et al. 2005 LINGO-1 Negatively Regulates Myelination by oligodendrocytes. *Nature Neuroscience* 8(6): 745–51.
- Michalski, John-Paul, Carrie Anderson, Ariane Beauvais, Yves De Repentigny, and Rashmi Kothary 2011 The Proteolipid Protein Promoter Drives Expression Outside of the Oligodendrocyte Lineage during Embryonic and Early Postnatal Development. *PLoS One* 6(5): e19772.
- di Michele, Flavia, Sabina Luchetti, Giorgio Bernardi, Elena Romeo, and Patrizia Longone 2013 Neurosteroid and Neurotransmitter Alterations in Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroendocrinology* 34(2): 132–142.
- Michels, Guido, and Uta C. Hoppe 2008 Rapid Actions of Androgens. *Frontiers in Neuroendocrinology* 29(2): 182–198.
- Miller, Michelle C., and Kevin H. Mayo 2017 Chemokines from a Structural Perspective. *International Journal of Molecular Sciences* 18(10): 2088.
- Miller, Richard J, Ghazal Banisadr, and Bula J. Bhattacharyya 2008 CXCR4 Signaling in the Regulation of Stem Cell Migration and Development. *Journal of Neuroimmunology* 198(0): 31–38.
- Miller, W. L. 1988 Molecular Biology of Steroid Hormone Synthesis. *Endocrine Reviews* 9(3): 295–318.
- Miller, Walter L., and Richard J. Auchus 2011 The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocrine Reviews* 32(1): 81–151.
- Mitew, Stanislaw, Ilan Gobijs, Laura R. Fenlon, et al. 2018 Pharmacogenetic Stimulation of Neuronal Activity Increases Myelination in an Axon-Specific Manner. *Nature Communications* 9(1): 306.
- Mogi, Kazutaka, Haruka Takanashi, Miho Nagasawa, and Takefumi Kikusui 2015 Sex Differences in spatiotemporal Expression of AR, ER $\alpha$ , and ER $\beta$  mRNA in the Perinatal Mouse Brain. *Neuroscience Letters* 584: 88–92.
- Mokry, Lauren E., Stephanie Ross, Omar S. Ahmad, et al. 2015 Vitamin D and Risk of Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *PLoS Medicine* 12(8): e1001866.
- Moll, Natalia M., Michael B. Cossoy, Elizabeth Fisher, et al. 2009 Imaging Correlates of Leukocyte Accumulation and CXCR4/CXCL12 in Multiple Sclerosis. *Archives of Neurology* 66(1): 44–53.
- Monteclaro, Felipe S., Hidenori Arai, and Israel F. Chard 1997[6] Molecular Approaches to Identifying Ligand Binding and Signaling Domains of C-C Chemokine Receptors. In *Methods in Enzymology* Pp. 70–84. Chemokine Receptors. Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687997880081>, accessed May 25, 2022.
- Montgomery, Scott, Ayako Hiyoshi, Sarah Burkill, et al. 2017 Concussion in Adolescence and Risk of Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology* 82(4): 554–561.
- Moore, Catherine A. C., Shawn K. Milano, and Jeffrey L. Benovic 2007 Regulation of Receptor Trafficking by GRKs and Arrestins. *Annual Review of Physiology* 69: 451–482.
- Morath, Daniel J., and Margot Mayer-Pröschel 2002 Iron Deficiency during Embryogenesis and Consequences for Oligodendrocyte Generation in Vivo. *Developmental Neuroscience* 24(2–3): 197–207.

- Morell, P., C. V. Barrett, J. L. Mason, et al. 1998 Gene Expression in Brain during Cuprizone-Induced demyelination and Remyelination. *Molecular and Cellular Neurosciences* 12(4–5): 220–227.
- Morell, P., and W. T. Norton 1980 Myelin. *Scientific American* 242(5): 88–90, 92, 96 passim.
- Moreno, Monica, Peter Bannerman, Joyce Ma, et al. 2014 Conditional Ablation of Astroglial CCL2 Suppresses CNS Accumulation of M1 Macrophages and Preserves Axons in Mice with MOG Peptide EAE. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34(24): 8175–8185.
- Moriuchi, M., H. Moriuchi, D. M. Margolis, and A. S. Fauci 1999 USF/c-Myc Enhances, While Yin-Yang 1 Suppresses, the Promoter Activity of CXCR4, a Coreceptor for HIV-1 Entry. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 162(10): 5986–5992.
- Moriuchi, M., H. Moriuchi, W. Turner, and A. S. Fauci 1997 Cloning and Analysis of the Promoter Region of CXCR4, a Coreceptor for HIV-1 Entry. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 159(9): 4322–4329.
- Moser, B., and P. Loetscher 2001 Lymphocyte Traffic Control by Chemokines. *Nature Immunology* 2(2): 123–128.
- Mukai, Hideo, Tomokazu Tsurugizawa, Mari Ogiue-Ikeda, et al. 2006 Local Neurosteroid Production in the Hippocampus: Influence on Synaptic Plasticity of Memory. *Neuroendocrinology* 84(4): 255–63.
- Müller, A., B. Homey, H. Soto, et al. 2001 Involvement of Chemokine Receptors in Breast Cancer Metastasis. *Nature* 410(6824): 50–56.
- Munetsuna, Eiji, Yasushi Hojo, Minoru Hattori, et al. 2009 Retinoic Acid Stimulates 17beta-Estradiol and Testosterone Synthesis in Rat Hippocampal Slice Cultures. *Endocrinology* 150(9): 4260–4269.
- Murdoch, C., and A. Finn 2000 Chemokine Receptors and Their Role in Inflammation and Infectious Diseases. *Blood* 95(10): 3032–3043.
- Murphy, Philip M, Marco Baggiolini, Israel F Charo, et al. N.d. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for Chemokine Receptors: 32.
- Nagasawa, T. 2000 A Chemokine, SDF-1/PBSF, and Its Receptor, CXC Chemokine Receptor 4, as Mediators of Hematopoiesis. *International Journal of Hematology* 72(4): 408–411.
- Nagasawa, T., H. Kikutani, and T. Kishimoto 1994 Molecular Cloning and Structure of a Pre-B-Cell Growth-Stimulating Factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(6): 2305–2309.
- Nagasawa, T., K. Tachibana, and K. Kawabata 1999 A CXC Chemokine SDF-1/PBSF: A Ligand for a HIV Coreceptor, CXCR4. *Advances in Immunology* 71: 211–228.
- Nagasawa, Takashi, Seiichi Hirota, Kazunobu Tachibana, et al. 1996 Defects of B-Cell Lymphopoiesis and Bone-Marrow Myelopoiesis in Mice Lacking the CXC Chemokine PBSF/SDF-1. *Nature* 382(6592). Nature Publishing Group: 635–638.
- Nan, X., H. H. Ng, C. A. Johnson, et al. 1998 Transcriptional Repression by the Methyl-CpG-Binding Protein MeCP2 Involves a Histone Deacetylase Complex. *Nature* 393(6683): 386–389.
- Naruse, Masae, Yugo Ishino, Akhilesh Kumar, et al. 2016 The Dorsoventral Boundary of the Germinal Zone Is a Specialized Niche for the Generation of Cortical Oligodendrocytes during a Restricted Temporal Window. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 26(6): 2800–2810.
- Nashmi, R., and M. G. Fehlings 2001 Mechanisms of Axonal Dysfunction after Spinal Cord Injury: With an Emphasis on the Role of Voltage-Gated Potassium Channels. *Brain Research. Brain Research Reviews* 38(1–2): 165–191.



- Nave, Klaus-Armin, and Hauke B. Werner 2014 Myelination of the Nervous System: Mechanisms and Functions. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 30: 503–533.
- Nawaz, Schanila, Paula Sánchez, Sebastian Schmitt, et al. 2015 Actin Filament Turnover Drives Leading Edge Growth during Myelin Sheath Formation in the Central Nervous System. *Developmental Cell*: 1–13.
- Negro, Samuele, Francesca Lessi, Elisa Duregotti, et al. 2017 CXCL12 $\alpha$ /SDF-1 from Perisynaptic Schwann Cells Promotes Regeneration of Injured Motor Axon Terminals. *EMBO Molecular Medicine* 9(8): 1000–1010.
- Neumann, Björn, Roey Baror, Chao Zhao, et al. 2019 Metformin Restores CNS Remyelination Capacity by Rejuvenating Aged Stem Cells. *Cell Stem Cell* 25(4): 473-485.e8.
- Nguyen, Leonard T., and Hans J. Vogel 2012 Structural Perspectives on Antimicrobial Chemokines. *Frontiers in Immunology* 3: 384.
- Nie, Yuchun, Janelle Waite, Faraha Brewer, et al. 2004 The Role of CXCR4 in Maintaining Peripheral B Cell Compartments and Humoral Immunity. *The Journal of Experimental Medicine* 200(9): 1145–1156.
- Nimmerjahn, Axel, Frank Kirchhoff, and Fritjof Helmchen 2005 Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. *Science (New York, N.Y.)* 308(5726): 1314–1318.
- Njenga, M. K., M. J. Coenen, N. DeCuir, H. Y. Yeh, and M. Rodriguez 2000 Short-Term Treatment with Interferon-Alpha/Beta Promotes Remyelination, Whereas Long-Term Treatment Aggravates Demyelination in a Murine Model of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroscience Research* 59(5): 661–670.
- Noble, M., K. Murray, P. Stroobant, M. D. Waterfield, and P. Riddle 1988 Platelet-Derived Growth Factor Promotes Division and Motility and Inhibits Premature Differentiation of the Oligodendrocyte/Type-2 Astrocyte Progenitor Cell. *Nature* 333(6173): 560–562.
- Nomiyama, Hisayuki, and Osamu Yoshie 2015 Functional Roles of Evolutionary Conserved Motifs and Residues in Vertebrate Chemokine Receptors. *Journal of Leukocyte Biology* 97(1): 39–47.
- Noorbakhsh, Farshid, Kristofor K. Ellestad, Ferdinand Maingat, et al. 2011 Impaired Neurosteroid Synthesis in Multiple Sclerosis. *Brain* 134(9): 2703–2721.
- Norton, W. T. 1984 Recent Advances in Myelin Biochemistry. *Annals of the New York Academy of Sciences* 436: 5–10.
- Nourshargh, Sussan, and Ronen Alon 2014 Leukocyte Migration into Inflamed Tissues. *Immunity* 41(5): 694– 707.
- Oberheim, Nancy Ann, Steven A. Goldman, and Maiken Nedergaard 2012 Heterogeneity of Astrocytic Form and Function. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 814: 23–45.
- Oberheim, Nancy Ann, Takahiro Takano, Xiaoning Han, et al. 2009 Uniquely Hominid Features of Adult Human Astrocytes. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29(10): 3276– 3287.
- Oberlin, Estelle, Ali Amara, Françoise Bachelier, et al. 1996 The CXC Chemokine SDF-1 Is the Ligand for LESTR/Fusin and Prevents Infection by T-Cell-Line-Adapted HIV-1. *Nature* 382(6594). Nature Publishing Group: 833–835.
- Obernier, Kirsten, and Arturo Alvarez-Buylla 2019 Neural Stem Cells: Origin, Heterogeneity and Regulation in the Adult Mammalian Brain. *Development (Cambridge, England)* 146(4): dev156059.
- Ogawa, M., T. Miyata, K. Nakajima, et al. 1995 The Reeler Gene-Associated Antigen on Cajal-Retzius Neurons Is a Crucial Molecule for Laminar Organization of Cortical Neurons. *Neuron* 14(5): 899–912.

- Oh, Yoon S., Gong D. Bae, Dong J. Baek, Eun-Young Park, and Hee-Sook Jun 2018 Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology* 9: 384.
- Ohtani, Y., M. Minami, N. Kawaguchi, et al. 1998 Expression of Stromal Cell-Derived Factor-1 and CXCR4 Chemokine Receptor MRNAs in Cultured Rat Glial and Neuronal Cells. *Neuroscience Letters* 249(2–3): 163–166.
- Oksenberg, Jorge R., Lisa F. Barcellos, Bruce A. C. Cree, et al. 2004 Mapping Multiple Sclerosis Susceptibility to the HLA-DR Locus in African Americans. *American Journal of Human Genetics* 74(1): 160–167.
- O’Neill, Paul, Susan L. Lindsay, Andreea Pantiru, et al 2017 Sulfatase-Mediated Manipulation of the Astrocyte- Schwann Cell Interface. *Glia* 65(1): 19–33.
- Opatz, Jessica, Patrick Küry, Nora Schiwy, et al. 2009 SDF-1 Stimulates Neurite Growth on Inhibitory CNS Myelin. *Molecular and Cellular Neurosciences* 40(2): 293–300.
- Oppenheim, J. J., C. O. Zachariae, N. Mukaida, and K. Matsushima 1991 Properties of the Novel Proinflammatory Supergene “Interchrine” Cytokine Family. *Annual Review of Immunology* 9: 617–648.
- Orentas, D. M., J. E. Hayes, K. L. Dyer, and R. H. Miller 1999 Sonic Hedgehog Signaling Is Required during the Appearance of Spinal Cord Oligodendrocyte Precursors. *Development (Cambridge, England)* 126(11): 2419– 2429.
- Orsini, M. J., J. L. Parent, S. J. Mundell, A. Marchese, and J. L. Benovic 1999 Trafficking of the HIV Coreceptor CXCR4. Role of Arrestins and Identification of Residues in the c-Terminal Tail That Mediate Receptor Internalization. *The Journal of Biological Chemistry* 274(43): 31076–31086.
- Orthmann-Murphy, Jennifer L., Charles K. Abrams, and Steven S. Scherer 2008 Gap Junctions Couple Astrocytes and Oligodendrocytes. *Journal of Molecular Neuroscience: MN* 35(1): 101–116.
- Osorio, M. Joana, David H. Rowitch, Paul Tesar, et al. 2017 Concise Review: Stem Cell-Based Treatment of Pelizaeus-Merzbacher Disease. *Stem Cells* 35(2): 311–315.
- Ottum, Payton A., Gabriel Arellano, Lilian I. Reyes, Mirentxu Iruretagoyena, and Rodrigo Naves 2015 Opposing Roles of Interferon-Gamma on Cells of the Central Nervous System in Autoimmune Neuroinflammation. *Frontiers in Immunology* 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00539>, accessed August 8, 2022.
- Ozgen, Hande, Wia Baron, Dick Hoekstra, and Nicoletta Kahya 2016 Oligodendroglial Membrane Dynamics in Relation to Myelin Biogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 73(17): 3291–3310.
- Pachner, Andrew R., Libin Li, and David Lagunoff 2011 Plasma Cells in the Central Nervous System in the Theiler’s Virus Model of Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 232(1–2): 35–40.
- Palaszynski, Karen M., Kyi Kyi Loo, Judith F. Ashouri, Hong-biao Liu, and Rhonda R. Voskuhl 2004 Androgens Are Protective in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Implications for Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* 146(1–2): 144–152.
- Palm, Daniel, Kerstin Lang, Burkhard Brandt, Kurt S. Zaenker, and Frank Entschladen 2005. In Vitro and in Vivo Imaging of Cell Migration: Two Interdepending Methods to Unravel Metastasis Formation. *Seminars in Cancer Biology* 15(5): 396–404.
- Papaneophytou, Christos P., Elena Georgiou, Christos Karaiskos, et al. 2018 Regulatory Role of Oligodendrocyte Gap Junctions in Inflammatory Demyelination. *Glia* 66(12): 2589–2603.

Parkhurst, Christopher N., Guang Yang, Ipe Ninan, et al. 2013 Microglia Promote Learning-Dependent Synapse Formation through Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Cell* 155(7): 1596–1609.

Pashenkov, Mikhail, Mats Söderström, and Hans Link 2003 Secondary Lymphoid Organ Chemokines Are Elevated in the Cerebrospinal Fluid during Central Nervous System Inflammation. *Journal of Neuroimmunology* 135(1–2): 154–160.

Patel, Jigisha R., Erin E. McCandless, Denise Dorsey, and Robyn S. Klein 2010a CXCR4 Promotes Differentiation of Oligodendrocyte Progenitors and Remyelination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(24): 11062–11067.

2010b CXCR4 Promotes Differentiation of Oligodendrocyte Progenitors and Remyelination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(24): 11062–11067.

Pavic, Goran, Patrick Petzsch, Robin Jansen, et al. 2021 Microglia Contributes to Remyelination in Cerebral but Not Spinal Cord Ischemia. *Glia* 69(11): 2739–2751.

Payne, Anita H., and Dale B. Hales 2004 Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocrine Reviews* 25(6): 947–970.

Peitzsch, Claudia, Ina Kurth, Leoni Kunz-Schughart, Michael Baumann, and Anna Dubrovskaya 2013 Discovery of the Cancer Stem Cell Related Determinants of Radioresistance. *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 108(3): 378–387.

Pellerin, L., and P. J. Magistretti 1994 Glutamate Uptake into Astrocytes Stimulates Aerobic Glycolysis: A Mechanism Coupling Neuronal Activity to Glucose Utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(22): 10625–10629.

Pelletier, Georges 2010 Steroidogenic Enzymes in the Brain: Morphological Aspects. *Progress in Brain Research* 181: 193–207.

Perissi, Valentina, and Michael G. Rosenfeld 2005 Controlling Nuclear Receptors: The Circular Logic of Cofactor Cycles. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 6(7): 542–554.

Perrin, J. S., G. Leonard, M. Perron, et al. 2009 Sex Differences in the Growth of White Matter during Adolescence. *NeuroImage* 45(4): 1055–1066.

Perrin, Jennifer S., Pierre-Yves Hervé, Gabriel Leonard, et al. 2008 Growth of White Matter in the Adolescent Brain: Role of Testosterone and Androgen Receptor. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 28(38): 9519–9524.

Petit, Isabelle, Polina Goichberg, Asaf Spiegel, et al. 2005 Atypical PKC- $\zeta$  Regulates SDF-1–Mediated Migration and Development of Human CD34+ Progenitor Cells. *The Journal of Clinical Investigation* 115(1). American Society for Clinical Investigation: 168–176.

Phillips, Roderick J., Javier Mestas, Mehrnaz Gharaee-Kermani, et al. 2005 Epidermal Growth Factor and Hypoxia-Induced Expression of CXC Chemokine Receptor 4 on Non-Small Cell Lung Cancer Cells Is Regulated by the Phosphatidylinositol 3-Kinase/PTEN/AKT/Mammalian Target of Rapamycin Signaling Pathway and Activation of Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ . *The Journal of Biological Chemistry* 280(23): 22473–22481.

Pietri, Elisabetta, Vincenza Conteduca, Daniele Andreis, et al. 2016 Androgen Receptor Signaling Pathways as a Target for Breast Cancer Treatment. *Endocrine-Related Cancer* 23(10): R485-498.

Pike, Christian J 2001 Testosterone Attenuates  $\beta$ -Amyloid Toxicity in Cultured Hippocampal Neurons. *Brain Research* 919(1): 160–165.

- Plant, Sheila R., Heather A. Iocca, Ying Wang, et al. 2007 Lymphotoxin  $\beta$  Receptor (Lt $\beta$ R): Dual Roles in Demyelination and Remyelination and Successful Therapeutic Intervention Using Lt $\beta$ R-Ig Protein. *The Journal of Neuroscience* 27(28): 7429–7437.
- Ponath, Gerald, Sriram Ramanan, Mayyan Mubarak, et al. 2017 Myelin Phagocytosis by Astrocytes after Myelin Damage Promotes Lesion Pathology. *Brain: A Journal of Neurology* 140(2): 399–413.
- Ponomaryov, T., A. Peled, I. Petit, et al. 2000 Induction of the Chemokine Stromal-Derived Factor-1 Following DNA Damage Improves Human Stem Cell Function. *The Journal of Clinical Investigation* 106(11): 1331–1339.
- Prineas, J. W., R. O. Barnard, E. E. Kwon, L. R. Sharer, and E. S. Cho 1993 Multiple Sclerosis: Remyelination of Nascent Lesions. *Annals of Neurology* 33(2): 137–151.
- Prineas, John W., and Sandra Lee 2019 Multiple Sclerosis: Destruction and Regeneration of Astrocytes in Acute Lesions. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 78(2): 140–156.
- Pringle, N. P., and W. D. Richardson 1993 A Singularity of PDGF Alpha-Receptor Expression in the Dorsoventral Axis of the Neural Tube May Define the Origin of the Oligodendrocyte Lineage. *Development (Cambridge, England)* 117(2): 525–533.
- Pringle, N. P., W. P. Yu, S. Guthrie, et al. 1996 Determination of Neuroepithelial Cell Fate: Induction of the Oligodendrocyte Lineage by Ventral Midline Cells and Sonic Hedgehog. *Developmental Biology* 177(1): 30–42.
- Pu, Annie, Erin L. Stephenson, and V. Wee Yong 2018 The Extracellular Matrix: Focus on Oligodendrocyte Biology and Targeting CSPGs for Remyelination Therapies. *Glia* 66(9): 1809–1825.
- Puy, L., N. J. MacLusky, L. Becker, et al. 1995 Immunocytochemical Detection of Androgen Receptor in Human Temporal Cortex Characterization and Application of Polyclonal Androgen Receptor Antibodies in Frozen and Paraffin-Embedded Tissues. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 55(2): 197–209.
- Qin, Ling, Irina Kufareva, Lauren G. Holden, et al. 2015 Crystal Structure of the Chemokine Receptor CXCR4 in Complex with a Viral Chemokine. *Science* 347(6226). American Association for the Advancement of Science: 1117–1122.
- Quarles, Richard H. 2007 Myelin-Associated Glycoprotein (MAG): Past, Present and Beyond. *Journal of Neurochemistry* 100(6): 1431–1448.
- Rabbany, Sina Y., Joseph Pastore, Masaya Yamamoto, et al. 2010 Continuous Delivery of Stromal Cell-Derived Factor-1 from Alginate Scaffolds Accelerates Wound Healing. *Cell Transplantation* 19(4): 399–408.
- Raff, Martin C., Erika R. Abney, and Robert H. Miller 1984 Two Glial Cell Lineages Diverge Prenatally in Rat Optic Nerve. *Developmental Biology* 106(1): 53–60.
- Raine, C. S., and E. Wu 1993 Multiple Sclerosis: Remyelination in Acute Lesions. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 52(3): 199–204.
- Rajagopalan, Lavanya, and Krishna Rajarathnam 2006 Structural Basis of Chemokine Receptor Function—A Model for Binding Affinity and Ligand Selectivity. *Bioscience Reports* 26(5): 325–339.
- Rangaraju, Srikant, Eric B. Dammer, Syed Ali Raza, et al. 2018 Identification and Therapeutic Modulation of a Pro-Inflammatory Subset of Disease-Associated-Microglia in Alzheimer’s Disease. *Molecular Neurodegeneration* 13(1): 24.
- Ranger, Ann, Soma Ray, Suzanne Szak, et al. 2017 Anti-LINGO-1 Has No Detectable Immunomodulatory Effects in Preclinical and Phase 1 Studies. *Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation* 5(1): e417.

- Ransohoff, Richard M. 2012 Animal Models of Multiple Sclerosis: The Good, the Bad and the Bottom Line. *Nature Neuroscience* 15(8): 1074–1077.
- Rasband, Matthew N. 2010 CLUSTERED K<sup>+</sup> CHANNEL COMPLEXES IN AXONS. *Neuroscience Letters* 486(2): 101–106. 2016 Glial Contributions to Neural Function and Disease. *Molecular & Cellular Proteomics* : MCP 15(2): 355–361.
- Rasband, Matthew N., and Elior Peles 2015 The Nodes of Ranvier: Molecular Assembly and Maintenance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 8(3): a020495.
- Raskin, Kalina, Karel de Gendt, Anne Duittoz, et al. 2009 Conditional Inactivation of Androgen Receptor Gene in the Nervous System: Effects on Male Behavioral and Neuroendocrine Responses. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29(14): 4461–4470.
- Raskin, Kalina, Clarisse Marie-Luce, Marie Picot, et al. 2012 Characterization of the Spinal Nucleus of the Bulbocavernosus Neuromuscular System in Male Mice Lacking Androgen Receptor in the Nervous System. *Endocrinology* 153(7): 3376–3385.
- Rechsteiner, M., and S. W. Rogers 1996 PEST Sequences and Regulation by Proteolysis. *Trends in Biochemical Sciences* 21(7): 267–271.
- Redmond, Stephanie A., Feng Mei, Yael Eshed-Eisenbach, et al. 2016 Somatodendritic Expression of JAM2 Inhibits Oligodendrocyte Myelination. *Neuron* 91(4): 824–836.
- Reid, J., R. Betney, K. Watt, and I. J. McEwan 2003 The Androgen Receptor Transactivation Domain: The Interplay between Protein Conformation and Protein-Protein Interactions. *Biochemical Society Transactions* 31(Pt 5): 1042–1046.
- Reiss, K., R. Mentlein, J. Sievers, and D. Hartmann 2002 Stromal Cell-Derived Factor 1 Is Secreted by Meningeal Cells and Acts as Chemotactic Factor on Neuronal Stem Cells of the Cerebellar External Granular Layer. *Neuroscience* 115(1): 295–305.
- Rhodes, K. E., G. Raivich, and J. W. Fawcett 2006 The Injury Response of Oligodendrocyte Precursor Cells Is Induced by Platelets, Macrophages and Inflammation-Associated Cytokines. *Neuroscience* 140(1): 87–100.
- Rivers, Leanne E., Kaylene M. Young, Matteo Rizzi, et al. 2008 PDGFRA/NG2 Glia Generate Myelinating Oligodendrocytes and Piriform Projection Neurons in Adult Mice. *Nature Neuroscience* 11(12): 1392–1401.
- Roccaro, Aldo M., Yuji Mishima, Antonio Sacco, et al. 2015 CXCR4 Regulates Extra-Medullary Myeloma through Epithelial-Mesenchymal-Transition-like Transcriptional Activation. *Cell Reports* 12(4): 622–635.
- Rodriguez, M., J. L. Leibowitz, and P. W. Lampert 1983 Persistent Infection of Oligodendrocytes in Theiler's Virus-Induced Encephalomyelitis. *Annals of Neurology* 13(4): 426–433.
- Roelink, H., A. Augsburger, J. Heemskerk, et al. 1994 Floor Plate and Motor Neuron Induction by Vhh-1, a Vertebrate Homolog of Hedgehog Expressed by the Notochord. *Cell* 76(4). Elsevier: 761–775.
- Rommerts, F.F.G. 2004 Testosterone: An Overview of Biosynthesis, Transport, Metabolism and Non- Genomic Actions. In *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. 3rd edition. E. Nieschlag and H. M. Behre, eds. Pp. 1–38. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ronzano, R., T. Roux, M. Thetiot, et al. 2021 Microglia-Neuron Interaction at Nodes of Ranvier Depends on Neuronal Activity through Potassium Release and Contributes to Remyelination. *Nature Communications* 12: 5219.

Rothhammer, Veit, and Francisco J. Quintana 2015 Control of Autoimmune CNS Inflammation by Astrocytes. *Seminars in Immunopathology* 37(6): 625–638.

Rowitch, David H., and Arnold R. Kriegstein 2010a Developmental Genetics of Vertebrate Glial–Cell specification. *Nature* 468(7321): 214–222.  
2010b Developmental Genetics of Vertebrate Glial–Cell Specification. *Nature* 468(7321). Nature Publishing Group: 214–222.

van Royen, Martin E., Sónia M. Cunha, Maartje C. Brink, et al. 2007 Compartmentalization of Androgen Receptor Protein–Protein Interactions in Living Cells. *The Journal of Cell Biology* 177(1): 63–72.

Rubin, Joshua B. 2009 Chemokine Signaling in Cancer: One Hump or Two? *Seminars in Cancer Biology* 19(2): 116–122.

Rush, Anthony M., Theodore R. Cummins, and Stephen G. Waxman 2007 Multiple Sodium Channels and Their Roles in Electrogenesis within Dorsal Root Ganglion Neurons. *The Journal of Physiology* 579(Pt 1): 1–14.

Saher, Gesine, Britta Brügger, Corinna Lappe-Siefke, et al. 2005 High Cholesterol Level Is Essential for Myelin Membrane Growth. *Nature Neuroscience* 8(4): 468–475.

Saher, Gesine, and Mikael Simons 2010 Cholesterol and Myelin Biogenesis. *Sub-Cellular Biochemistry* 51: 489–508.

Salcedo, Rosalba, Ken Wasserman, Howard A. Young, et al. 1999 Vascular Endothelial Growth Factor and Basic Fibroblast Growth Factor Induce Expression of CXCR4 on Human Endothelial Cells. *The American Journal of Pathology* 154(4): 1125–1135.

Salzer, J. L., and B. Zalc 2016 Myelination. *Current Biology: CB* 26(20): R971–R975.

Salzer, James L. 2015 Schwann Cell Myelination. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7(8): a020529. Sanfilippo, Cristina, Paola Castrogiovanni, Rosa Imbesi, Giuseppe Nunnari, and Michelino Di Rosa

2020 Postsynaptic Damage and Microglial Activation in AD Patients Could Be Linked CXCR4/CXCL12 Expression Levels. *Brain Research* 1749: 147127.

Sanmarco, Liliana M., Michael A. Wheeler, Cristina Gutiérrez-Vázquez, et al. 2021 Gut-Licensed IFN $\gamma$ + NK Cells Drive LAMP1+TRAIL+ Anti-Inflammatory Astrocytes. *Nature* 590(7846). Nature Publishing Group: 473–479.

Saporita, Anthony J., Qiheng Zhang, Neema Navai, et al. 2003 Identification and Characterization of a Ligand- Regulated Nuclear Export Signal in Androgen Receptor \*. *Journal of Biological Chemistry* 278(43). Elsevier: 41998–42005.

Sariol, Alan, Samantha Mackin, Merri-Grace Allred, et al. 2020 Microglia Depletion Exacerbates Demyelination and Impairs Remyelination in a Neurotropic Coronavirus Infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117(39): 24464–24474.

Sarris, Milka, Jean-Baptiste Masson, Damien Maurin, et al. 2012 Inflammatory Chemokines Direct and Restrict Leukocyte Migration within Live Tissues as Glycan-Bound Gradients. *Current Biology: CB* 22(24): 2375–2382.

Schauwaers, Kris, Karel De Gendt, Philippa T. K. Saunders, et al. 2007 Loss of Androgen Receptor Binding to Selective Androgen Response Elements Causes a Reproductive Phenotype in a Knockin Mouse Model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(12): 4961–4966.

Scherer, Steven S., Peter E. Braun, Judith Grinspan, et al. 1994 Differential Regulation of the 2',3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase Gene during Oligodendrocyte Development. *Neuron* 12(6): 1363–1375.

- Schiffer, Lina, Wiebke Arlt, and Karl-Heinz Storbeck 2018 Intracrine Androgen Biosynthesis, Metabolism and Action Revisited. *Molecular and Cellular Endocrinology* 465. Androgens – Revisiting Their Role as Pleiotropic Regulators of Tissue Function beyond the Male Reproductive System: 4–26.
- Schioppa, Tiziana, Badarch Uranchimeg, Alessandra Sacconi, et al. 2003 Regulation of the Chemokine Receptor CXCR4 by Hypoxia. *The Journal of Experimental Medicine* 198(9): 1391–1402.
- Schiraldi, Milena, Angela Raucci, Laura Martínez Muñoz, et al. 2012 HMGB1 Promotes Recruitment of Inflammatory Cells to Damaged Tissues by Forming a Complex with CXCL12 and Signaling via CXCR4. *Journal of Experimental Medicine* 209(3): 551–563.
- Schirmer, Lucas, Rajneesh Srivastava, Sudhakar Reddy Kalluri, et al. 2014 Differential Loss of KIR4.1 Immunoreactivity in Multiple Sclerosis Lesions. *Annals of Neurology* 75(6): 810–828.
- Schousboe, Arne, and Helle S. Waagepetersen 2005 Role of Astrocytes in Glutamate Homeostasis: Implications for Excitotoxicity. *Neurotoxicity Research* 8(3–4): 221–225.
- Schumacher, Michael, Abdelmoumen Ghomari, Claudia Mattern, Pierre Bougnères, and Elisabeth Traiffort 2021 Testosterone and Myelin Regeneration in the Central Nervous System. *Androgens: Clinical Research and Therapeutics* 2(1). Mary Ann Liebert, Inc., publishers: 231–251.
- Schumacher, Michael, Rashad Hussain, Nathalie Gago, et al. 2012 Progesterone Synthesis in the Nervous System: Implications for Myelination and Myelin Repair. *Frontiers in Neuroscience* 6: 10.
- Selby, C. 1990 Sex Hormone Binding Globulin: Origin, Function and Clinical Significance. *Annals of Clinical Biochemistry* 27 ( Pt 6): 532–541.
- Shang, Yongfeng, Molly Myers, and Myles Brown 2002 Formation of the Androgen Receptor Transcription Complex. *Molecular Cell* 9(3): 601–610.
- Shemer, Anat, Isabelle Scheyltjens, Gal Ronit Frumer, et al. 2020 Interleukin-10 Prevents Pathological Microglia Hyperactivation Following Peripheral Endotoxin Challenge. *Immunity* 53(5): 1033-1049.e7.
- Shen, Siming, Jiadong Li, and Patrizia Casaccia-Bonnel 2005 Histone Modifications Affect Timing of Oligodendrocyte Progenitor Differentiation in the Developing Rat Brain. *The Journal of Cell Biology* 169(4): 577– 589.
- Shen, Siming, Juan Sandoval, Victoria A. Swiss, et al. 2008 Age-Dependent Epigenetic Control of Differentiation Inhibitors Is Critical for Remyelination Efficiency. *Nature Neuroscience* 11(9): 1024–1034.
- Shields, S. A., W. F. Blakemore, and R. J. Franklin 2000 Schwann Cell Remyelination Is Restricted to Astrocyte- Deficient Areas after Transplantation into Demyelinated Adult Rat Brain. *Journal of Neuroscience Research* 60(5): 571–578.
- Shirozu, M., T. Nakano, J. Inazawa, et al. 1995 Structure and Chromosomal Localization of the Human Stromal Cell-Derived Factor 1 (SDF1) Gene. *Genomics* 28(3): 495–500.
- Shukla, Arun K., Gerwin H. Westfield, Kunhong Xiao, et al. 2014 Visualization of Arrestin Recruitment by a G- Protein-Coupled Receptor. *Nature* 512(7513): 218–222.
- Shukla, G. C., A. R. Plaga, E. Shankar, and S. Gupta 2016 Androgen Receptor-Related Diseases: What Do We Know? *Andrology* 4(3): 366–381.
- Sicotte, Nancy L., Barbara S. Giesser, Vinita Tandon, et al. 2007 Testosterone Treatment in Multiple Sclerosis: A Pilot Study. *Archives of Neurology* 64(5): 683–688.

- Sicotte, Nancy L., Stephanie M. Liva, Rochelle Klutch, et al. 2002 Treatment of Multiple Sclerosis with the Pregnancy Hormone Estriol. *Annals of Neurology* 52(4): 421–428.
- Signoret, N., J. Oldridge, A. Pelchen-Matthews, et al. 1997 Phorbol Esters and SDF-1 Induce Rapid Endocytosis and down Modulation of the Chemokine Receptor CXCR4. *The Journal of Cell Biology* 139(3): 651–664.
- Signoret, N., M. M. Rosenkilde, P. J. Klasse, et al. 1998 Differential Regulation of CXCR4 and CCR5 Endocytosis. *Journal of Cell Science* 111 ( Pt 18): 2819–2830.
- Silver, I. A., J. Deas, and M. Erecińska 1997 Ion Homeostasis in Brain Cells: Differences in Intracellular Ion Responses to Energy Limitation between Cultured Neurons and Glial Cells. *Neuroscience* 78(2): 589–601.
- Simerly, R. B., C. Chang, M. Muramatsu, and L. W. Swanson 1990 Distribution of Androgen and Estrogen Receptor MRNA-Containing Cells in the Rat Brain: An in Situ Hybridization Study. *The Journal of Comparative Neurology* 294(1): 76–95.
- Simons, Mikael, and Klaus-Armin Nave 2016 Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 8(1): a020479.
- Singh, Anup Kumar, Rakesh Kumar Arya, Arun Kumar Trivedi, et al. 2013 Chemokine Receptor Trio: CXCR3, CXCR4 and ACKR3 Crosstalk via CXCL11 and CXCL12. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 24(1): 41–49.
- Singh, Pratibha, Khalid S. Mohammad, and Louis M. Pelus 2020 CXCR4 Expression in the Bone Marrow Microenvironment Is Required for Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Maintenance and Early Hematopoietic Regeneration after Myeloablation. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 38(7): 849–859.
- Smith, Cody J., Angela D. Morris, Taylor G. Welsh, and Sarah Kucenas 2014 Contact-Mediated Inhibition between Oligodendrocyte Progenitor Cells and Motor Exit Point Glia Establishes the Spinal Cord Transition Zone. *PLoS Biology* 12(9): e1001961.
- Snaidero, Nicolas, Wiebke Möbius, Tim Czopka, et al. 2014 Myelin Membrane Wrapping of CNS Axons by PI(3,4,5)P3-Dependent Polarized Growth at the Inner Tongue. *Cell* 156(1–2): 277–290.
- Sofroniew, Michael V 2015 Astrocyte Barriers to Neurotoxic Inflammation. *Nature Reviews. Neuroscience* 16(5): 249–263.
- Sofroniew, Michael V., and Harry V. Vinters 2010 Astrocytes: Biology and Pathology. *Acta Neuropathologica* 119(1): 7–35.
- Somjen, George G. 2002 Ion Regulation in the Brain: Implications for Pathophysiology. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry* 8(3): 254–267.
- Sommer, I., and M. Schachner 1981 Monoclonal Antibodies (O1 to O4) to Oligodendrocyte Cell Surfaces: An Immunocytological Study in the Central Nervous System. *Developmental Biology* 83(2): 311–327.
- Sosa, Maria Soledad, Cynthia Lopez-Haber, Chengfeng Yang, et al. 2010 Identification of the Rac-GEF P-Rex1 as an Essential Mediator of ErbB Signaling in Breast Cancer. *Molecular Cell* 40(6): 877–892.
- Soto-Rodriguez, Guadalupe, Juan-Antonio Gonzalez-Barrios, Daniel Martinez-Fong, et al. 2015 Analysis of Chemokines and Receptors Expression Profile in the Myelin Mutant Taiep Rat. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015: 397310.
- Springael, Jean-Yves, Eneko Urizar, and Marc Parmentier 2005 Dimerization of Chemokine Receptors and Its Functional Consequences. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 16(6): 611–623.
- Stadelmann, Christine, Sebastian Timmler, Alonso Barrantes-Freer, and Mikael Simons 2019 Myelin in the Central Nervous System: Structure, Function, and Pathology. *Physiological Reviews* 99(3): 1381–1431.



- Stangel, Martin, Tanja Kuhlmann, Paul M. Matthews, and Trevor J. Kilpatrick 2017 Achievements and Obstacles of Remyelinating Therapies in Multiple Sclerosis. *Nature Reviews. Neurology* 13(12): 742–754.
- Stence, N., M. Waite, and M. E. Dailey 2001 Dynamics of Microglial Activation: A Confocal Time-Lapse Analysis in Hippocampal Slices. *Glia* 33(3): 256–266.
- Stephenson, Erin, Nabeela Nathoo, Yasamin Mahjoub, Jeff F. Dunn, and V. Wee Yong 2014 Iron in Multiple Sclerosis: Roles in Neurodegeneration and Repair. *Nature Reviews. Neurology* 10(8): 459–468.
- Stobart, Jillian, and Christopher Anderson 2013 Multifunctional Role of Astrocytes as Gatekeepers of Neuronal Energy Supply. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2013.00038>, accessed July 8, 2022.
- van Straaten, H. W. M., and J. Drukker 1989 Effects of an Additional Notochord on the Proliferation and Differentiation of the Neural Tube in the Chick Embryo. *Cell Differentiation and Development* 27: 202.
- Strickland, Jenna, Domonique Garrison, and Bryan L. Copple 2020 Hypoxia Upregulates Cxcl12 in Hepatocytes by a Complex Mechanism Involving Hypoxia-Inducible Factors and Transforming Growth Factor- $\beta$ . *Cytokine* 127: 154986.
- Strömstedt, M., and M. R. Waterman 1995 Messenger RNAs Encoding Steroidogenic Enzymes Are Expressed in Rodent Brain. *Brain Research. Molecular Brain Research* 34(1): 75–88.
- Stumm, Ralf K., Chun Zhou, Toshiaki Ara, et al. 2003 CXCR4 Regulates Interneuron Migration in the Developing Neocortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23(12): 5123–5130.
- Süß, Patrick, Alana Hoffmann, Tobias Rothe, et al. 2020 Chronic Peripheral Inflammation Causes a Region-Specific Myeloid Response in the Central Nervous System. *Cell Reports* 30(12): 4082-4095.e6.
- Tachibana, K., S. Hirota, H. Iizasa, et al. 1998 The Chemokine Receptor CXCR4 Is Essential for Vascularization of the Gastrointestinal Tract. *Nature* 393(6685): 591–594.
- Tafti, Dawood, Moavia Ehsan, and Kathryn L. Xixis 2022 Multiple Sclerosis. *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499849/>, accessed July 8, 2022.
- Talanki Manjunatha, Ramya, Salma Habib, Sai Lahari Sangaraju, Daniela Yepez, and Xavier A Grandes N.d. Multiple Sclerosis: Therapeutic Strategies on the Horizon. *Cureus* 14(5): e24895.
- Tamamura, H., A. Omagari, K. Hiramatsu, et al. 2001 Development of Specific CXCR4 Inhibitors Possessing High Selectivity Indexes as Well as Complete Stability in Serum Based on an Anti-HIV Peptide T140. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 11(14): 1897–1902.
- Tan, MH Eileen, Jun Li, H. Eric Xu, Karsten Melcher, and Eu-leong Yong 2015 Androgen Receptor: Structure, Role in Prostate Cancer and Drug Discovery. *Acta Pharmacologica Sinica* 36(1). Nature Publishing Group: 3–23.
- Tanabe, S., M. Heesen, I. Yoshizawa, et al. 1997 Functional Expression of the CXC-Chemokine Receptor-4/Fusin on Mouse Microglial Cells and Astrocytes. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 159(2): 905–911.
- Tarasova, N. I., R. H. Stauber, and C. J. Michejda 1998 Spontaneous and Ligand-Induced Trafficking of CXC-Chemokine Receptor 4. *The Journal of Biological Chemistry* 273(26): 15883–15886.
- Targett, M. P., J. Sussman, N. Scolding, et al. 1996 Failure to Achieve Remyelination of Demyelinated Rat Axons Following Transplantation of Glial Cells Obtained from the Adult Human Brain. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 22(3): 199–206.

- Tashiro, K., H. Tada, R. Heilker, et al. 1993 Signal Sequence Trap: A Cloning Strategy for Secreted Proteins and Type I Membrane Proteins. *Science (New York, N.Y.)* 261(5121): 600–603.
- Taveggia, Carla, Pratik Thaker, Ashley Petrylak, et al. 2008 Type III Neuregulin-1 Promotes Oligodendrocyte Myelination. *Glia* 56(3): 284–293.
- Tawk, Marcel, Joelle Makoukji, Martin Belle, et al. 2011 Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Is an Essential and Direct Driver of Myelin Gene Expression and Myelinogenesis. *The Journal of Neuroscience* 31(10): 3729–3742.
- Téllez, Nieves, Manuel Comabella, Eva Julià, et al. 2006 Fatigue in Progressive Multiple Sclerosis Is Associated with Low Levels of Dehydroepiandrosterone. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 12(4): 487–494.
- Tiane, Assia, Melissa Schepers, Ben Rombaut, et al. 2019 From OPC to Oligodendrocyte: An Epigenetic Journey. *Cells* 8(10): E1236.
- van Tilborg, Erik, Caroline G. M. de Theije, Maurik van Hal, et al. 2018 Origin and Dynamics of Oligodendrocytes in the Developing Brain: Implications for Perinatal White Matter Injury. *Glia* 66(2): 221–238.
- Timsit, S., S. Martinez, B. Allinquant, et al. 1995 Oligodendrocytes Originate in a Restricted Zone of the Embryonic Ventral Neural Tube Defined by DM-20 mRNA Expression. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 15(2): 1012–1024.
- Tirone, Mario, Ngoc Lan Tran, Chiara Ceriotti, et al. 2018 High Mobility Group Box 1 Orchestrates Tissue Regeneration via CXCR4. *The Journal of Experimental Medicine* 215(1): 303–318.
- Tobiansky, Daniel J., Anastasia M. Korol, Chunqi Ma, et al. 2018 Testosterone and Corticosterone in the Mesocorticolimbic System of Male Rats: Effects of Gonadectomy and Caloric Restriction. *Endocrinology* 159(1): 450–464.
- Tobiansky, Daniel J., Kathryn G. Wallin-Miller, Stan B. Floresco, Ruth I. Wood, and Kiran K. Soma 2018 Androgen Regulation of the Mesocorticolimbic System and Executive Function. *Frontiers in Endocrinology* 9: 279.
- Tomassini, V., E. Onesti, C. Mainero, et al. 2005 Sex Hormones Modulate Brain Damage in Multiple Sclerosis: MRI Evidence. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 76(2): 272–275.
- Tournamille, C., C. Le Van Kim, P. Gane, et al. 1997 Close Association of the First and Fourth Extracellular Domains of the Duffy Antigen/Receptor for Chemokines by a Disulfide Bond Is Required for Ligand Binding. *The Journal of Biological Chemistry* 272(26): 16274–16280.
- Traiffort, Elisabeth, Abdelmoumen Kassoussi, Amina Zahaf, and Yousra Laouarem 2020 Astrocytes and Microglia as Major Players of Myelin Production in Normal and Pathological Conditions. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2020.00079>, accessed August 8, 2022.
- Trapp, B. D. 1990 Myelin-Associated Glycoprotein. Location and Potential Functions. *Annals of the New York Academy of Sciences* 605: 29–43.
- Tronche, François, Christoph Kellendonk, Oliver Kretz, et al. 1999 Disruption of the Glucocorticoid Receptor Gene in the Nervous System Results in Reduced Anxiety. *Nature Genetics* 23(1): 99–103.
- Tsai, Houg-Wei, Saori Taniguchi, Jason Samoza, and Aaron Ridder 2015 Age- and Sex-Dependent Changes in Androgen Receptor Expression in the Developing Mouse Cortex and Hippocampus. *Neuroscience Journal* 2015: 525369.

Tsunoda, Ikuo, and Robert S. Fujinami 2010 Neuropathogenesis of Theiler's Murine Encephalomyelitis Virus Infection, an Animal Model for Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology: The Official Journal of the Society on Neuroimmune Pharmacology* 5(3): 355–369.

Ukena, Kazuyoshi, Chie Kohchi, and Kazuyoshi Tsutsui 1999 Expression and Activity of 3 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase/ $\Delta$ 5- $\Delta$ 4-Isomerase in the Rat Purkinje Neuron during Neonatal Life\*. *Endocrinology* 140(2): 805–813.

Ulanska-Poutanen, Justyna, Jakub Mieczkowski, Chao Zhao, et al. 2018 Injury-Induced Perivascular Niche Supports Alternative Differentiation of Adult Rodent CNS Progenitor Cells. *ELife* 7: e30325.

Uriarte Huarte, Oihane, Lorraine Richart, Michel Mittelbronn, and Alessandro Michelucci 2021 Microglia in Health and Disease: The Strength to Be Diverse and Reactive. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2021.660523>, accessed July 3, 2022.

Urtreger, Alejandro J., Valeria C. Grossoni, Karina B. Falbo, Marcelo G. Kazanietz, and Elisa D. Bal de Kier Joffé 2005 Atypical Protein Kinase C-Zeta Modulates Clonogenicity, Motility, and Secretion of Proteolytic Enzymes in Murine Mammary Cells. *Molecular Carcinogenesis* 42(1): 29–39.

van der Valk, P., and C. J. De Groot 2000 Staging of Multiple Sclerosis (MS) Lesions: Pathology of the Time Frame of MS. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 26(1): 2–10.

Vallstedt, Anna, Joanna M. Klos, and Johan Ericson 2005 Multiple Dorsoventral Origins of Oligodendrocyte Generation in the Spinal Cord and Hindbrain. *Neuron* 45(1): 55–67.

Van Hout, Anneleen, Alex Klarenbeek, Vladimir Bobkov, et al. 2018 CXCR4-Targeting Nanobodies Differentially Inhibit CXCR4 Function and HIV Entry. *Biochemical Pharmacology* 158: 402–412.

Van Strien, Miriam E., Wia Baron, Erik N. T. P. Bakker, et al. 2011 Tissue Transglutaminase Activity Is Involved in the Differentiation of Oligodendrocyte Precursor Cells into Myelin-Forming Oligodendrocytes during CNS Remyelination. *Glia* 59(11): 1622–1634.

Vandercappellen, Jo, Jo Van Damme, and Sofie Struyf 2008 The Role of CXC Chemokines and Their Receptors in Cancer. *Cancer Letters* 267(2): 226–244.

Vasile, Flora, Elena Dossi, and Nathalie Rouach 2017 Human Astrocytes: Structure and Functions in the Healthy Brain. *Brain Structure & Function* 222(5): 2017–2029.

Veldkamp, Christopher T., Christoph Seibert, Francis C. Peterson, et al. 2008 Structural Basis of CXCR4 Sulfotyrosine Recognition by the Chemokine SDF-1/CXCL12. *Science Signaling* 1(37): ra4.

Venkatakrishnan, A. J., Xavier Deupi, Guillaume Lebon, et al. 2013 Molecular Signatures of G-Protein-Coupled Receptors. *Nature* 494(7436): 185–194.

Verrijdt, Guy, Annemie Haelens, and Frank Claessens 2003 Selective DNA Recognition by the Androgen Receptor as a Mechanism for Hormone-Specific Regulation of Gene Expression. *Molecular Genetics and Metabolism* 78(3): 175–185.

Vila-Coro, A. J., J. M. Rodríguez-Frade, A. Martín De Ana, et al. 1999 The Chemokine SDF-1 $\alpha$  Triggers CXCR4 Receptor Dimerization and Activates the JAK/STAT Pathway. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13(13): 1699–1710.

Vlahakis, Stacey R., Angelina Villasis-Keever, Timothy Gomez, et al. 2002 G Protein-Coupled Chemokine Receptors Induce Both Survival and Apoptotic Signaling Pathways. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 169(10): 5546–5554.

- Voskuhl, Rhonda R., and Stefan M. Gold 2012 Sex-Related Factors in Multiple Sclerosis Susceptibility and Progression. *Nature Reviews. Neurology* 8(5): 255–263.
- Voutilainen, R., J. Tapanainen, B. C. Chung, K. J. Matteson, and W. L. Miller 1986 Hormonal Regulation of P450<sub>sc</sub>c (20,22-Desmolase) and P450<sub>c</sub>17 (17 Alpha-Hydroxylase/17,20-Lyase) in Cultured Human Granulosa Cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 63(1): 202–207.
- Wade, P. A., A. Geggion, P. L. Jones, et al. 1999 Mi-2 Complex Couples DNA Methylation to Chromatin Remodelling and Histone Deacetylation. *Nature Genetics* 23(1): 62–66.
- Wagner, Patrick L., Elizabeth Hyjek, Madeline F. Vazquez, et al. 2009 CXCL12 and CXCR4 in Adenocarcinoma of the Lung: Association with Metastasis and Survival. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 137(3): 615–621.
- Walsh, Claire A., Li Qin, Jean Ching-Yi Tien, Leonie S. Young, and Jianming Xu 2012 The Function of Steroid Receptor Coactivator-1 in Normal Tissues and Cancer. *International Journal of Biological Sciences* 8(4): 470–485.
- Wang, Chenhui, Cun-Jin Zhang, Bradley N. Martin, et al. 2017 IL-17 Induced NOTCH1 Activation in Oligodendrocyte Progenitor Cells Enhances Proliferation and Inflammatory Gene Expression. *Nature Communications* 8: 15508.
- Wang, H. y, S. Doronin, and C. C. Malbon 2000 Insulin Activation of Mitogen-Activated Protein Kinases Erk1,2 Is Amplified via Beta-Adrenergic Receptor Expression and Requires the Integrity of the Tyr350 of the Receptor. *The Journal of Biological Chemistry* 275(46): 36086–36093.
- Wang, J., E. Guan, G. Roderiquez, et al. 2001 Role of Tyrosine Phosphorylation in Ligand-Independent Sequestration of CXCR4 in Human Primary Monocytes-Macrophages. *The Journal of Biological Chemistry* 276(52): 49236–49243.
- Wang, Jianbin, Gregory J. Babcock, Hyeryun Choe, et al. 2004 N-Linked Glycosylation in the CXCR4 N-Terminus Inhibits Binding to HIV-1 Envelope Glycoproteins. *Virology* 324(1): 140–150.
- Wang, Liang, Cheng-Lung Hsu, and Chawnsang Chang 2005 Androgen Receptor Corepressors: An Overview. *The Prostate* 63(2): 117–130.
- Wang, Renxi 2022 Mendelian Randomization Study Updates the Effect of 25-Hydroxyvitamin D Levels on the Risk of Multiple Sclerosis. *Journal of Translational Medicine* 20(1): 3.
- Wang, Xu, Fahad Haroon, Saoussen Karray, null Martina Deckert, and Dirk Schlüter 2013 Astrocytic Fas Ligand Expression Is Required to Induce T-Cell Apoptosis and Recovery from Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *European Journal of Immunology* 43(1): 115–124.
- Watanabe, Masahiko, Tarik Hadzic, and Akiko Nishiyama 2004 Transient Upregulation of Nkx2.2 Expression in Oligodendrocyte Lineage Cells during Remyelination. *Glia* 46(3): 311–322.
- Wegner, S. A., P. K. Ehrenberg, G. Chang, et al. 1998 Genomic Organization and Functional Characterization of the Chemokine Receptor CXCR4, a Major Entry Co-Receptor for Human Immunodeficiency Virus Type 1. *The Journal of Biological Chemistry* 273(8): 4754–4760.
- Wei, T., and S. L. Lightman 1997 The Neuroendocrine Axis in Patients with Multiple Sclerosis. *Brain: A Journal of Neurology* 120 ( Pt 6): 1067–1076.
- Wei, Zhijian, Baoyou Fan, Han Ding, et al. 2019 Proteomics Analysis of Schwann Cell-Derived Exosomes: A Novel Therapeutic Strategy for Central Nervous System Injury. *Molecular and Cellular Biochemistry* 457(1–2): 51–59.

Wheeler, Michael A., Iain C. Clark, Emily C. Tjon, et al. 2020 MAFG-Driven Astrocytes Promote CNS Inflammation. *Nature* 578(7796). Nature Publishing Group: 593–599.

Wheeler, Michael A., Merja Jaronen, Ruxandra Covacu, et al. 2019 Environmental Control of Astrocyte Pathogenic Activities in CNS Inflammation. *Cell* 176(3): 581-596.e18.

Wicks, Ian P., and Andrew W. Roberts 2016 Targeting GM-CSF in Inflammatory Diseases. *Nature Reviews. Rheumatology* 12(1): 37–48.

Williams, Jessica L., Jigisha R. Patel, Brian P. Daniels, and Robyn S. Klein 2014 Targeting ACKR3/ACKR3 as a Therapeutic Strategy to Promote Remyelination in the Adult Central Nervous System. *The Journal of Experimental Medicine* 211(5): 791–799.

Willis, Cory M., Alexandra M. Nicaise, Ernesto R. Bongarzone, et al. 2020 Astrocyte Support for Oligodendrocyte Differentiation Can Be Conveyed via Extracellular Vesicles but Diminishes with Age. *Scientific Reports* 10(1): 828.

Wilson, Jean D., Michael W. Leihy, Geoffrey Shaw, and Marilyn B. Renfree 2002 Androgen Physiology: Unsolved Problems at the Millennium. *Molecular and Cellular Endocrinology* 198(1–2): 1–5.

Windrem, Martha S., Marta C. Nunes, William K. Rashbaum, et al. 2004 Fetal and Adult Human Oligodendrocyte Progenitor Cell Isolates Myelinate the Congenitally Dysmyelinated Brain. *Nature Medicine* 10(1): 93–97.

Windrem, Martha S., Steven J. Schanz, Min Guo, et al. 2008 Neonatal Chimerization with Human Glial Progenitor Cells Can Both Remyelinate and Rescue the Otherwise Lethally Hypomyelinated Shiverer Mouse. *Cell Stem Cell* 2(6): 553–565.

Winger, Ryan C., and Scott S. Zamvil 2016 Antibodies in Multiple Sclerosis Oligoclonal Bands Target Debris. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(28): 7696–7698.

Woerner, B. Mark, Nicole M. Warrington, Andrew L. Kung, Arie Perry, and Joshua B. Rubin 2005 Widespread CXCR4 Activation in Astrocytomas Revealed by Phospho-CXCR4-Specific Antibodies. *Cancer Research* 65(24): 11392–11399.

WOLwijk, Guus 2002 Oligodendrocyte Precursor Cells in the Demyelinated Multiple Sclerosis Spinal Cord. *Brain: A Journal of Neurology* 125(Pt 2): 338–349.

Woodhoo, Ashwin, and Lukas Sommer 2008 Development of the Schwann Cell Lineage: From the Neural Crest to the Myelinated Nerve. *Glia* 56(14): 1481–1490.

Woodruff, R. H., and R. J. Franklin 1999 Demyelination and Remyelination of the Caudal Cerebellar Peduncle of Adult Rats Following Stereotaxic Injections of Lysolecithin, Ethidium Bromide, and Complement/Anti-Galactocerebroside: A Comparative Study. *Glia* 25(3): 216–228.

Wu, Beili, Ellen Y.T. Chien, Clifford D. Mol, et al. 2010 Structures of the CXCR4 Chemokine Receptor in Complex with Small Molecule and Cyclic Peptide Antagonists. *Science (New York, N.Y.)* 330(6007): 1066–1071.

Wu, Quiling, Hongwei Shao, Eton D. Darwin, et al. 2009 Extracellular Calcium Increases CXCR4 Expression on Bone Marrow-Derived Cells and Enhances pro-Angiogenesis Therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 13(9B): 3764–3773.

Wu, Xianxian, Hongdian Zhang, Zhilin Sui, et al. 2022 CXCR4 Promotes the Growth and Metastasis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma as a Critical Downstream Mediator of HIF-1 $\alpha$ . *Cancer Science* 113(3): 926–939.

Würth, Roberto, Adriana Bajetto, Jeffrey K. Harrison, Federica Barbieri, and Tullio Florio 2014 CXCL12 Modulation of CXCR4 and ACKR3 Activity in Human Glioblastoma Stem-like Cells and Regulation of the Tumor Microenvironment. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8: 144.

- Wyss-Coray, Tony, John D. Loike, Thomas C. Brionne, et al. 2003 Adult Mouse Astrocytes Degrade Amyloid-Beta in Vitro and in Situ. *Nature Medicine* 9(4): 453–457.
- Xiao, Xiao, Raj Putatunda, Yonggang Zhang, et al. 2018 Lymphotoxin  $\beta$  Receptor-Mediated NF $\kappa$ B Signaling Promotes Glial Lineage Differentiation and Inhibits Neuronal Lineage Differentiation in Mouse Brain Neural Stem/Progenitor Cells. *Journal of Neuroinflammation* 15(1): 49.
- Xin, Mei, Tao Yue, Zhenyi Ma, et al. 2005 Myelinogenesis and Axonal Recognition by Oligodendrocytes in Brain Are Uncoupled in Olig1-Null Mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 25(6): 1354–1365.
- Yamada, Mitsuhiro, Hiroshi Kubo, Seiichi Kobayashi, et al. 2011 The Increase in Surface CXCR4 Expression on Lung Extravascular Neutrophils and Its Effects on Neutrophils during Endotoxin-Induced Lung Injury. *Cellular & Molecular Immunology* 8(4): 305–314.
- Yamamoto, T., J. Kawamura, S. Hashimoto, and M. Nakamura 1991 Extensive Proliferation of Peripheral Type Myelin in Necrotic Spinal Cord Lesions of Multiple Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 102(2): 163–169.
- Yeung, Maggie S. Y., Mehdi Djelloul, Embla Steiner, et al. 2019 Dynamics of Oligodendrocyte Generation in Multiple Sclerosis. *Nature* 566(7745): 538–542.
- Yoon, Younghyun, Zhongxing Liang, Xin Zhang, et al. 2007 CXC Chemokine Receptor-4 Antagonist Blocks Both Growth of Primary Tumor and Metastasis of Head and Neck Cancer in Xenograft Mouse Models. *Cancer Research* 67(15): 7518–7524.
- Young, Kaylene M., Matthew Fogarty, Nicoletta Kassaris, and William D. Richardson 2007 Subventricular Zone Stem Cells Are Heterogeneous with Respect to Their Embryonic Origins and Neurogenic Fates in the Adult Olfactory Bulb. *The Journal of Neuroscience* 27(31): 8286–8296.
- Yu, Lan, Jeffrey Cecil, Sheng-Bin Peng, et al. 2006 Identification and Expression of Novel Isoforms of Human Stromal Cell-Derived Factor 1. *Gene* 374: 174–179.
- Yu, Sangho, Dianna Crawford, Takatoshi Tsuchihashi, Timothy W. Behrens, and Deepak Srivastava 2011 The Chemokine Receptor ACKR3 Functions to Regulate Cardiac Valve Remodeling. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists* 240(2): 384–393.
- Yu, Xiaolan, Dongping Chen, Yang Zhang, et al. 2012 Overexpression of CXCR4 in Mesenchymal Stem Cells Promotes Migration, Neuroprotection and Angiogenesis in a Rat Model of Stroke. *Journal of the Neurological Sciences* 316(1–2): 141–149.
- Zagzag, David, Yevgeniy Lukyanov, Li Lan, et al. 2006 Hypoxia-Inducible Factor 1 and VEGF Upregulate CXCR4 in Glioblastoma: Implications for Angiogenesis and Glioma Cell Invasion. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 86(12): 1221–1232.
- Zanetti, Giulia, Samuele Negro, Aram Meghian, et al. 2019 A CXCR4 Receptor Agonist Strongly Stimulates Axonal Regeneration after Damage. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 6(12): 2395–2402.
- Zawadzka, Malgorzata, Leanne E. Rivers, Stephen P. J. Fancy, et al. 2010a CNS-Resident Glial Progenitor/Stem Cells Produce Schwann Cells as Well as Oligodendrocytes during Repair of CNS Demyelination. *Cell Stem Cell* 6(6): 578–590.  
2010b CNS-Resident Glial Progenitor/Stem Cells Produce Schwann Cells as Well as Oligodendrocytes during Repair of CNS Demyelination. *Cell Stem Cell* 6(6): 578–590.

- Zhang, Min, Lisha Qiu, Yanyan Zhang, et al. 2017 CXCL12 Enhances Angiogenesis through ACKR3 Activation in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Scientific Reports* 7(1): 8289.
- Zhang, S. C., B. Ge, and I. D. Duncan 1999 Adult Brain Retains the Potential to Generate Oligodendroglial Progenitors with Extensive Myelination Capacity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(7): 4089–4094.
- Zhang, Sheng, Yan Wang, Xiaoqing Zhu, et al. 2021 The Wnt Effector TCF7L2 Promotes Oligodendroglial Differentiation by Repressing Autocrine BMP4-Mediated Signaling. *Journal of Neuroscience* 41(8). Society for Neuroscience: 1650–1664.
- Zhang, Si, Jiehao Zhao, Yuhu Zhang, et al. 2019 Upregulation of MIF as a Defense Mechanism and a Biomarker of Alzheimer’s Disease. *Alzheimer’s Research & Therapy* 11(1): 54.
- Zhang, Ye, Kenian Chen, Steven A. Sloan, et al. 2014 An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34(36): 11929–11947.
- Zhao, Chao, Wen-Wu Li, and Robin J. M. Franklin 2006 Differences in the Early Inflammatory Responses to Toxin-Induced Demyelination Are Associated with the Age-Related Decline in CNS Remyelination. *Neurobiology of Aging* 27(9): 1298–1307.
- Zhao, Chuntao, Yaqi Deng, Lei Liu, et al. 2016 Dual Regulatory Switch through Interactions of Tcf7l2/Tcf4 with Stage-Specific Partners Propels Oligodendroglial Maturation. *Nature Communications* 7: 10883.
- Zhao, Ming, Richard G. Discipio, Antonia G. Wimmer, and Ingrid U. Schraufstatter 2006 Regulation of CXCR4-Mediated Nuclear Translocation of Extracellular Signal-Related Kinases 1 and 2. *Molecular Pharmacology* 69(1): 66–75.
- Zhou, H., and H. H. Tai 1999 Characterization of Recombinant Human CXCR4 in Insect Cells: Role of Extracellular Domains and N-Glycosylation in Ligand Binding. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 369(2): 267–276.
- Zhou, N., Z. Luo, J. Luo, et al. 2001 Structural and Functional Characterization of Human CXCR4 as a Chemokine Receptor and HIV-1 Co-Receptor by Mutagenesis and Molecular Modeling Studies. *The Journal of Biological Chemistry* 276(46): 42826–42833.
- Zhou, Q., S. Wang, and D. J. Anderson 2000 Identification of a Novel Family of Oligodendrocyte Lineage-Specific Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factors. *Neuron* 25(2): 331–343.
- Zhou, Qiao, and David J. Anderson 2002 The BHLH Transcription Factors OLIG2 and OLIG1 Couple Neuronal and Glial Subtype Specification. *Cell* 109(1): 61–73.
- Zhou, Yong-Xing, Nicole C. Flint, Joshua C. Murtie, Tuan Q. Le, and Regina C. Armstrong 2006 Retroviral Lineage Analysis of Fibroblast Growth Factor Receptor Signaling in FGF2 Inhibition of Oligodendrocyte Progenitor Differentiation. *Glia* 54(6): 578–590.
- Zhu, Qiang, Scott R. Whittemore, William H. Devries, et al. 2011 Dorsally-Derived Oligodendrocytes in the Spinal Cord Contribute to Axonal Myelination during Development and Remyelination Following Focal Demyelination. *Glia* 59(11): 1612–1621.
- Zhu, Xiaoqin, Dwight E. Bergles, and Akiko Nishiyama 2008 NG2 Cells Generate Both Oligodendrocytes and Gray Matter Astrocytes. *Development (Cambridge, England)* 135(1): 145–157.
- Ziarek, Joshua J., Andrew B. Kleist, Nir London, et al. 2017 Structural Basis for Chemokine Recognition by a G Protein-Coupled Receptor and Implications for Receptor Activation. *Science Signaling* 10(471): eaah5756.

Zilkha-Falb, Rina, Nathali Kaushansky, Naoto Kawakami, and Avraham Ben-Nun 2016 Post-CNS-Inflammation Expression of CXCL12 Promotes the Endogenous Myelin/Neuronal Repair Capacity Following Spontaneous Recovery from Multiple Sclerosis-like Disease. *Journal of Neuroinflammation* 13(1): 7.

Ziskin, Jennifer L, Akiko Nishiyama, Maria Rubio, Masahiro Fukaya, and Dwight E Bergles 2007 Vesicular Release of Glutamate from Unmyelinated Axons in White Matter. *Nature Neuroscience* 10(3): 321–330.

Zlotnik, A. 2008 New Insights on the Role of CXCR4 in Cancer Metastasis. *The Journal of Pathology* 215(3): 211–213.

Zlotnik, Albert, and Osamu Yoshie 2012 The Chemokine Superfamily Revisited. *Immunity* 36(5): 705–716.

Zou, Y. R., A. H. Kottmann, M. Kuroda, I. Taniuchi, and D. R. Littman 1998 Function of the Chemokine Receptor CXCR4 in Haematopoiesis and in Cerebellar Development. *Nature* 393(6685): 595–599.