

Titre du projet

Imagerie en temps réel des contributions microgliales au raffinement des circuits neurodéveloppementaux dans la santé et la maladie

Chercheur

Edward Ruthazer : Institut et hôpital neurologiques de Montréal

Énoncé de l'objectif

Microscopie *in vivo* de la structure et de la fonction neuronales pour évaluer les contributions de la microglie au raffinement normal des circuits pendant le développement et après l'activation du système immunitaire, un facteur de risque de TSA.

Résumé du projet

L'infection maternelle pendant la grossesse est apparue comme l'un des facteurs de risque non génétique les plus importants pour les troubles du spectre autistique. L'activation du système immunitaire pendant l'infection entraîne la production de cytokines qui pénètrent dans le cerveau en développement de l'enfant et altèrent la neurogenèse, la connectivité et la fonction. Nos récents travaux utilisant le modèle du poisson zèbre pour l'imagerie *in vivo* (Solek, Farooqi et coll., J Neurosci, 2021) ont montré que même une brève exposition des larves de poisson au lipopolysaccharide bactérien (LPS) entraîne une réponse cytokine transitoire qui active la microglie et modifie le programme de croissance des axones des cellules ganglionnaires de la rétine (CGR). En outre, nous avons constaté qu'il dégrade l'acuité visuelle dans le système nerveux central (SNC), comme le montrent l'imagerie calcique et les tests du comportement.

La microglie a fait l'objet de nombreuses études récentes sur les interactions neurone-glie au cours du développement, y compris des données étonnantes de notre part et d'autres, selon lesquelles elle est capable de trogocytoser ("grignoter") des éléments synaptiques dans le SNC en développement et que cela peut contribuer à l'élagage des contacts synaptiques inappropriés formés au cours du développement précoce des circuits. Nous avons mis au point un nouveau test pour quantifier la trogocytose par la microglie dans le cerveau en développement (Lim et Ruthazer, eLife, 2021). Ce test consiste à mesurer optiquement les changements dans les niveaux de microglie d'une protéine fluorescente exprimée par les axones, ainsi que les reconstructions morphologiques des axones marqués. Cependant, ce test n'a pas encore été mis en application dans le modèle d'activation immunitaire.

Dans ce projet, nous exploiterons la microscopie 2-photons *in vivo* pour réaliser l'imagerie en temps réel des neurones et de la microglie lors de leur interaction dans le circuit rétino-tectal en développement, le système visuel du poisson zèbre. Nous quantifierons le remodelage dynamique des tiges axonales des CGR lors de leur

interaction avec la microglie dans le cerveau. Nous examinerons comment l'activation immunitaire induite par les LPS modifie cette interaction et la dynamique cellulaire, puis nous utiliserons une lignée transgénique dépourvue de microglie pour mieux comprendre l'importance de la microglie dans le processus de remodelage dans des conditions saines et inflammatoires.

En utilisant des animaux transgéniques GCaMP à la fine pointe de la technologie qui expriment des indicateurs de calcium dans les neurones, nous mesurerons simultanément les réponses de milliers de neurones tectaux à des stimuli visuels conçus pour mesurer l'acuité et la sélectivité visuelles. Nous déterminerons également comment la déplétion de la microglie peut modifier ces propriétés dans des conditions normales par rapport à une brève activation immunitaire, dont nous avons déjà montré qu'elle pouvait modifier la réactivité visuelle.

Enfin, nous évaluerons les contributions spécifiques de la trogocytose microgliale des synapses, dont nous avons précédemment démontré qu'elle a lieu dans le système rétino-tectal en développement, à l'élagage des tiges axonales chez les larves de poisson zèbre saines et traitées au LPS. À l'aide des tests que nous avons récemment publiés, nous mesurerons la quantité de trogocytose par poisson dans diverses conditions et chez les animaux où la voie de signalisation du complément a été perturbée. En parallèle, nous examinerons le remodelage axonal et le signal calcique évoqué par des stimuli visuels pour comprendre les conséquences de la trogocytose par la microglie sur la structure et la fonction des circuits.

L'activation immunitaire maternelle étant un facteur de risque clé des TSA, il est essentiel de mieux comprendre comment elle altère précisément les circuits en développement et le rôle du système immunitaire inné dans ce processus.