

L'induction mésodermique et la dorsalisation de l'embryon d'amphibien

Un problème majeur de l'embryologie est de rendre compte des régionalisations par lesquelles l'embryon s'organise en un ensemble cohérent de tissus hétérogènes. Chez les vertébrés, l'origine de ces régionalisations n'est pas encore comprise de façon définitive, mais des progrès tout à fait significatifs ont été réalisés récemment concernant la mise en place de l'axe dorso-ventral de l'embryon d'amphibien, ou plus précisément de l'embryon de xénope (les embryologistes savent depuis longtemps que, même aux stades précoces, des embryons d'espèces distinctes — grenouilles, urodèles, axolotl — présentent des particularités propres). Les données dans ce domaine sont beaucoup moins abondantes chez les vertébrés supérieurs (poulet, souris) ou chez les poissons (poisson-zèbre), mais l'important degré de conservation de gènes régulateurs mis au jour au cours des dernières années entre ces différentes espèces laisse espérer que, dans une large mesure, les mécanismes élucidés chez le xénope aideront à comprendre ceux à l'œuvre, par exemple, chez le poulet et la souris.

L'œuf de xénope est une grosse cellule sphérique qui présente au départ (avant même la fécondation) des territoires cytoplasmiques hétérogènes, avec un hémisphère animal de couleur sombre et un hémisphère végétatif de couleur claire. Cet axe animal-végétatif (axe A-V) (figure 1) est probablement marqué par la répartition inégale de nombreuses molécules. Un exemple est fourni par les transcrits du gène *vg-1* (isolé à partir du criblage différentiel de banques d'ADNc) : accumulés au cours de l'ovogenèse, ces transcrits, révélés par hybridation *in situ*, sont localisés en une fine couche corticale de l'hémisphère végétatif, exclusivement [1]. En outre, une accumulation

de granules de *vitellus* de grande taille caractérise l'hémisphère végétatif, par opposition aux granules de petite taille de l'hémisphère animal.

A la fécondation, le cortex de l'œuf opère une rotation par rapport aux couches cytoplasmiques plus profondes. Ce mouvement entraîne une redistribution des pigments de l'œuf d'où résulte un croissant de couleur plus claire que l'hémisphère animal (« croissant gris » des embryologistes classiques), situé dans le plan équatorial et opposé au point d'entrée du spermatozoïde. Cela permet de repérer un axe dorso-ventral (axe D-V) présomptif, situé dans le plan équatorial perpendiculairement au croissant gris. Toutefois, l'orientation de cet axe peut être modifiée par des rotations appropriées de l'œuf, ce qui montre que l'entrée du spermatozoïde ne détermine pas l'axe D-V de façon irréversible [2].

La spécification de différenciations distinctes le long de l'axe D-V va intervenir un peu plus tard dans le développement. Cela est montré par une série d'expériences dont le schéma général a permis à Nieuwkoop de mettre en évidence pour la première fois l'induction mésodermique [3] (figure 2). A la fin du clivage, l'embryon est une *blastula*, avec des blastomères de grande taille au pôle végétatif et de petites cellules au pôle animal. (Ces inégalités de taille apparaissent dès les toutes premières divisions de l'œuf dont la segmentation est totale). Nieuwkoop a recherché quel est le devenir de fragments de *blastula* provenant soit de l'hémisphère animal, soit de l'hémisphère végétatif et maintenus en culture. Les deux types de fragments ont des développements très différents. Les fragments d'origine animale s'organisent en vésicules ectodermiques dont la paroi

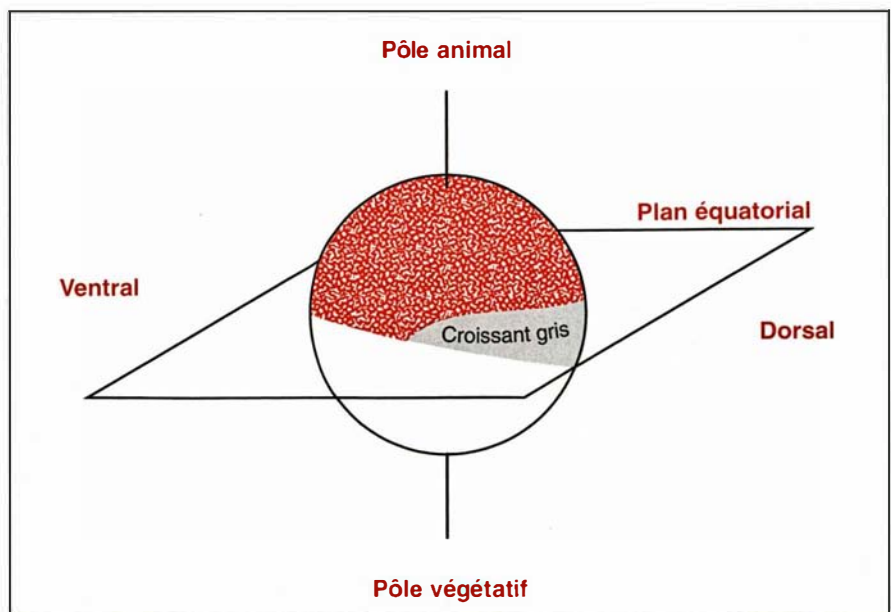


Figure 1. L'organisation de l'œuf d'amphibien après la fécondation. (D'après Slack [10].)

E N O I Q U E X E 7

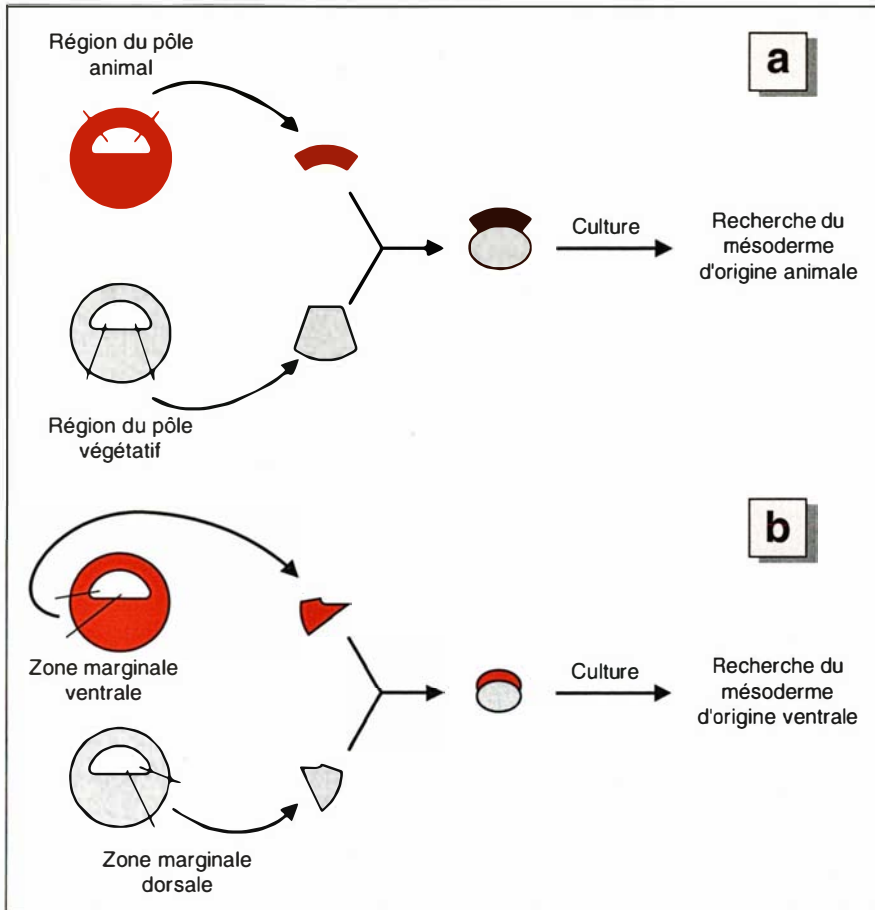


Figure 2. **Mise en évidence de l'induction mésodermique (a) et de la dorsalisation (b) de l'embryon d'amphibien.** Les embryons sont au stade «blastula». (D'après Slack [10].)

est un simple épithélium cilié alors que les fragments du pôle végétatif ne donnent à peu près aucune différenciation. Le point essentiel est qu'aucun dérivé de type mésodermique (muscle, notochorde, etc.) n'apparaît dans les fragments d'origine animale, alors même que les marquages clonaux dans l'embryon montrent que l'essentiel du mésoderme provient des régions animales, en particulier d'un anneau situé au contact des régions végétatives et qui forme la zone marginale. On est donc amené à supposer que le mésoderme formé *in situ* résulte d'une induction exercée par les cellules végétatives sur les cellules animales, et cette interprétation est confirmée par des reconstructions *in vitro* : réassociés avec des fragments végétatifs, les tissus de l'hémisphère animal donnent tout un éventail de dérivés mésodermiques.

On peut montrer, en outre, que le signal inducteur responsable est régionalisé au long de l'axe dorso-ventral. En effet, des fragments végétatifs dorsaux induisent, dans les receveurs d'origine animale, des différenciations mésodermiques caractérisées surtout par la présence de notochorde et de masses musculaires. Au contraire, des fragments végétatifs ventraux induisent des dérivés comportant surtout du mésenchyme, du mésothélium et des cellules sanguines. Un problème est ici posé par le fait que, sur la carte des territoires présomptifs qu'on peut dresser précocement (au stade *morula*), une grande partie des dérivés mésodermiques musculaires se projette sur l'hémisphère ventral. Si l'on suppose que les deux signaux inducteurs, végétatif dorsal et végétatif ventral, sont émis vers les régions animales parallèlement à l'axe A-V,

on ne rend pas compte de ces différenciations musculaires de l'hémisphère ventral. C'est ce qui a amené l'embryologiste anglais J. Slack à postuler, puis à mettre en évidence expérimentalement, un troisième signal inducteur émis à partir de la zone marginale dorsale vers les régions ventrales [4, 5]. Là encore, la confirmation expérimentale a consisté à montrer que des moitiés ventrales d'embryons isolées au stade *blastula* ne forment pas de muscles alors que, réassociées avec un fragment de zone marginale dorsale, c'est une de leurs différenciations principales.

On arrive ainsi au modèle à trois signaux proposé par Slack (figure 3). La régionalisation dorso-ventrale des deux premiers pourrait être une conséquence des mouvements cytoplasmiques qui ont lieu dans l'œuf après la fécondation. En revanche, le troisième signal, dorsalisant, est probablement émis à partir de la zone marginale dorsale en réponse à l'induction exercée sur cette région par les tissus végétatifs dorsaux. A la fin du stade *blastula*, cette région paraît se confondre avec l'organisateur tel qu'il a été défini par les expériences classiques de Spemann [6].

La biochimie des facteurs inducteurs est un domaine en pleine effervescence. Regroupés sous le sigle de MIF (*mesoderm inducing factors*), ce sont essentiellement des facteurs de croissance relevant de l'une ou l'autre de deux familles, celle des TGF- β (*transforming growth factors β*) et celle des FGF (*fibroblast growth factors*) [7]. Le test d'activité consiste à incuber des calottes animales prélevées au stade *blastula* et vouées, si elles sont maintenues isolées en culture, à donner de simples vésicules épidermiques ciliées, en présence de concentrations variables du peptide à tester. Les molécules actives du groupe des TGF- β comportent notamment les TGF- β 2 et 3, le XTC-MIF, un des premiers facteurs inducteurs mis en évidence à partir d'un surnageant de culture de cellules de xénope, et les activines. Ces dernières ont été identifiées chez les mammifères comme des peptides induisant le relargage par l'hypophyse antérieure d'hormones telles que le FSH (*follicle stimulating hormone*). Toutes ces molécules sont des homo- ou

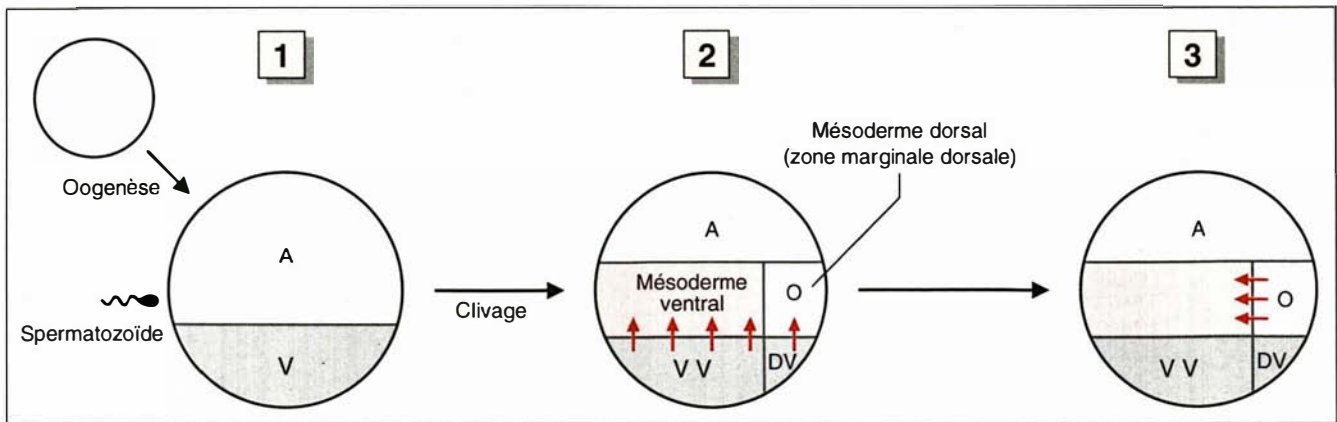


Figure 3. **Le modèle à trois signaux de l'induction mésodermique de Slack.** 1. Régionalisation de l'œuf au moment de la fécondation. A : région du pôle animal. V : région du pôle végétatif. 2. Induction du mésoderme par les cellules végétatives, au stade blastula. A : pôle animal. DV : signal inducteur végétatif dorsal. VV : signal inducteur végétatif ventral. O : organisateur de Spemann. 3. Dorsalisation du mésoderme ventral par un signal émis à partir de la région O. (D'après Gilbert [11].)

hétérodimères et on a pu montrer que des gènes codant pour des peptides très proches des activines A et B mammaliennes sont transcrits dans l'embryon de xénope aux stades *blastula* et *gastrula* [8]. L'activine B est un inducteur très puissant qui donne des différenciations variées notamment de type dorsal (muscles somitiques et notochorde). En outre, l'injection dans l'embryon d'ARNm d'activine B pour entraîner une expression généralisée du peptide provoque l'apparition d'un deuxième axe embryonnaire [8], ce qui signifie très vraisemblablement que le peptide est capable de dorsaliser le mésoderme qu'il a induit. Qu'il s'identifie ou non au signal dorsalisant postulé dans le modèle à trois signaux de Slack reste toutefois à déterminer. On notera que la séquence du gène *vg-1* mentionné plus haut indique qu'il appartient aussi au groupe des TGF- β . Toutefois, le peptide correspondant ne semble pas être impliqué dans l'induction mésodermique.

Les peptides actifs du groupe des FGF, notamment le FGF basique, ont, en revanche, une activité inductrice de type ventral : dans les vésicules animales traitées, on observe du mésenchyme, du mésothélium, mais les muscles n'apparaissent qu'aux plus fortes concentrations et la notochorde est toujours absente. Il n'est pas démontré que l'inducteur ventral endogène soit un homologue proche du FGFb. En fait, il pourrait être

identique à l'inducteur dorsal mais agissant à concentration plus faible. Parmi les nombreuses données actuellement disponibles qui tendent à compliquer le tableau ici esquissé de l'induction mésodermique, mentionnons une expérience récente [9] qui indique que la réponse des cellules animales à l'induction par l'activine dépend de leur origine, dorsale ou ventrale, dans la *blastula*. Antérieur à l'action de l'inducteur, un *prepattern* dorso-ventral pourrait donc exister dans la *blastula*. Dans cette hypothèse, l'organisation dorso-ventrale définitive de l'embryon résulterait de l'interaction entre l'inducteur et la compétence particulière, déterminée par le *prepattern*, du tissu répondeur ■

Hubert Condamine

Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux,
75015 Paris, France.

TIRÉS A PART

H. Condamine.

RÉFÉRENCES

- Weeks DL, Melton DA. A maternal messenger RNA localized to the vegetal hemisphere in *Xenopus* eggs codes for a growth factor related to TGF- β 1987 ; 51 : 861-7.
- Gerhart J, Ubbels G, Black S, Hara K, Kirschner M. A reinvestigation of the role of the grey crescent in axis formation in *Xenopus laevis*. *Nature* 1981 ; 292 : 511-6.
- Niewkoop PD. The formation of the mesoderm in urodelean amphibians. *Wilhelm Roux Arch Dev Biol* 1969 ; 162 : 341-73.
- Dale L, Slack JMW. Fate map for the 32 cell stage of *Xenopus laevis*. *Development* 1987 ; 99 : 527-51.
- Dale L, Slack JMW. Regional specification within the mesoderm of early embryos of *Xenopus laevis*. *Development* 1987 ; 100 : 279-95.
- Hamburger V. *The Heritage of Experimental Embryology. Hans Spemann and the Organizer*. Oxford : Oxford University Press, 1988.
- Smith JC. Mesoderm induction and mesoderm inducing factors in early amphibian development. *Development* 1989 ; 105 : 665-77.
- Thomsen G, Woolf T, Whitman M, et al. Activins are expressed early in *Xenopus* embryogenesis and can induce axial mesoderm and anterior structures. *Cell* 1990 ; 63 : 485-93.
- Sokol S, Melton DA. Pre-existent pattern in *Xenopus* animal pole cells revealed by induction with activin. *Nature* 1991 ; 351 : 409-11.
- Slack JMW. *From Egg to Embryo*, 2^e éd. Cambridge : Cambridge University Press, 1991.
- Gilbert S. *Developmental Biology*, 3^e éd. Sunderland, Massachusetts : Sinauer, 1991.