

Le muscle, d'où vient-il ?

Le muscle est un dérivé mésodermique. Les muscles du tronc et les myotubes de tous les muscles squelettiques dérivent du mésoderme somitique, et plus précisément du dermomyotome, qui est un des constituants du somite différencié. L'essentiel des connaissances acquises sur la filiation des cellules musculaires vient des études embryologiques d'amphibiens et d'oiseaux. L'hybridation *in situ* sur coupes d'embryons de souris permet néanmoins de préciser la chronologie de l'expression des différents marqueurs de la différenciation myogénique, particulièrement des messagers codant pour la famille des protéines MyoD, facteurs de détermination et de différenciation des cellules musculaires.

Marie-Odile Ott
Benoît Robert
Margaret Buckingham

Notre intérêt est principalement centré sur la formation du muscle strié squelettique chez les mammifères, mais faute d'une embryologie expérimentale développée pour ces espèces, beaucoup d'informations ont été obtenues chez d'autres vertébrés. C'est pourquoi nous entraînerons le lecteur de l'aquarium à l'animalerie, des amphibiens aux chimères d'oiseaux et aux mammifères. Le muscle est un dérivé du mésoderme, et nous traitons d'abord de l'induction du mésoderme ; puis de la formation et de la maturation des somites ; et enfin de la mise en place du phénotype musculaire.

L'induction du mésoderme

Au cours du développement, une succession d'interactions et d'inductions conduisent à la mise en place des premiers feuilletts cellulaires, puis à l'organogenèse. Ces étapes précoces ont été caractérisées essentiellement chez l'embryon d'amphibien pour des raisons évidentes de facilité d'obtention, mais surtout de taille et d'accessibilité de l'embryon à tous les stades de développement. De plus, chez l'amphibien, ces premières étapes se déroulent selon une série de divisions sans accroissement de taille

de l'embryon. Cela a permis de définir des territoires présomptifs des différents tissus et organes en fonction de leur devenir ultérieur.

Probablement, la première de ces inductions précoces est celle du mésoderme, suivie rapidement de la gastrulation. L'induction du mésoderme résulte de l'interaction entre les deux premiers feuilletts existants, l'ectoderme recevant un signal de l'endoderme, tous deux formés respectivement à partir du pôle animal et du pôle végétatif dans l'œuf d'amphibien (*figure 1, p. 654*). Il s'ensuit une série de mouvements morphogénétiques intenses constituant la gastrulation, laquelle se traduit par un processus d'invagination qui prend place au niveau du mésoderme, en position équatoriale.

Les expériences de déplacement du pôle animal par rapport au pôle végétatif et inversement ont confirmé ce phénomène d'induction et ont démontré que différentes régions de l'hémisphère végétatif peuvent induire différents types de mésoderme. Cela suggère l'intervention de facteurs d'induction diffusibles et introduit la notion d'information positionnelle.

De la multitude d'observations accumulées depuis des années émerge un

ADRESSE

M.-O. Ott : chargée de recherches à l'Inserm.
B. Robert : chargé de recherches à l'Institut Pasteur.
M. Buckingham : directeur de recherches au Cnrs. Unité de génétique moléculaire du développement, URA Cnrs 1148, Institut Pasteur, 28 rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

RÉFÉRENCES

1. Smith JC. Mesoderm induction and mesoderm-inducing factors in early amphibian development. *Development* 1989 ; 105 : 665-77.
2. Whitman M, Melton DA. Growth factors in early embryogenesis. *Ann Rev Cell Biol* 1989 ; 5 : 93-117.
3. Kimelman D, Abraham JA, Haaparanta T, Palisi TM, Kirschner MW. The presence of fibroblast growth factor in the frog egg : its role as a natural mesoderm inducer. *Science* 1988 ; 242 : 1053-6.
4. Smith JC, Cooke J, Green JBA, Howes G, Symes K. Inducing factors and the control of mesodermal pattern in *Xenopus laevis*. *Development* 1989 ; Supplement : 149-59.
5. Cooke J. Mesoderm inducing factors and Spemann's organizer phenomenon in amphibian development. *Development* 1989 ; 107 : 229-41.
6. Woodland HR. Mesoderm formation in *Xenopus*. *Cell* 1989 ; 59 : 767-70.
7. Lyons K, Pelton RW, Hogan BLM. Patterns of expression of murine Vgr-1 and BMP-2a RNA suggest that transforming growth factor β -like genes coordinately regulate aspects of embryonic development. *Genes and Development* 1989 ; 3 : 1657-68.
8. Wilkinson DG, Peters G, Dickson C, McMahon AP. Expression of the FGF-related proto-oncogene *int-2* during gastrulation and neurulation in the mouse. *EMBO J* 1988 ; 7 : 691-5.
9. Paterno GD, Gillespie LL, Dixon MS, Slack JMW, Heath JK. Mesoderm inducing properties of *INT-2* and *κFGF* : two oncogene-encoded growth factors related to FGF. *Development* 1989 ; 166 : 79-83.
10. Mohun TJ, Brennan S, Dathan N, Fairman S, Gurdon JB. Cell type-specific activation of actin genes in the early amphibian embryo. *Nature* 1984 ; 311 : 716-21.
11. Alonso S. Des facteurs de régulation spécifiques de la myogénèse. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 645-52.
12. Hopwood ND, Pluck A, Gurdon JB. *MyoD* expression in the forming somites is an early response to mesoderm induction in *Xenopus* embryos. *EMBO J* 1989 ; 8 (11) : 3409-417.
13. Rosa FM. Mix-1 homeobox mRNA inducible by mesoderm inducers is expressed mostly in the presumptive endodermal cells of *Xenopus* embryos. *Cell* 1989 ; 57 : 965-74.

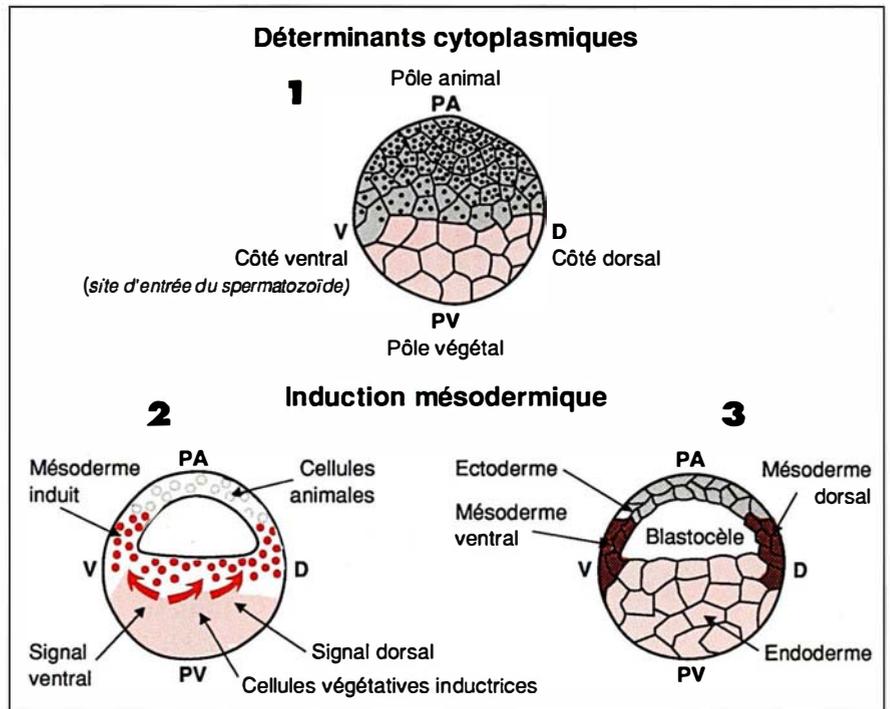


Figure 1. **Induction mésodermique chez les amphibiens.** 1) Vue externe d'un embryon à mi-gastrulation ; 2) Section transversale du même embryon, montrant schématiquement l'induction du mésoderme : les cellules inductrices du pôle végétatif émettent un signal vers les cellules compétentes (en gris). En rouge, les cellules effectivement induites à former du mésoderme ; 3) Schéma de la blastula après induction.

consensus qui permet de proposer le modèle suivant, appelé *the three signal model* (pour revue voir Smith [1]). Ce modèle implique un premier signal, d'origine dorsale, qui induit notamment la notocorde et le muscle, puis un deuxième signal, issu du côté ventral, qui induit le mésenchyme, le mésothélium et le lignage hématopoïétique. Enfin, le troisième signal va agir à l'intérieur de la « couche » du mésoderme dorsal prospectif pour « dorsaliser » le mésoderme ventral adjacent. Ce modèle ne préjuge rien de la nature biochimique de ces signaux, sur laquelle nous reviendrons plus tard. Il s'établit probablement un gradient dorso-ventral de devenir au long duquel les cellules peuvent déjà présenter des différences morphogénétiques. Le mésoderme ventral donnera le tissu hématopoïétique et le mésenchyme, le mésoderme dorsal donnera la notocorde et les muscles. Chez les vertébrés supérieurs, le mésoderme est mis en place

au niveau de la ligne primitive, à partir de l'ectoderme embryonnaire. Nous verrons plus loin comment les différentes régions du mésoderme vont contribuer à la formation des muscles de la tête et du corps.

Facteurs inducteurs du mésoderme

Le support le plus vraisemblable de l'induction est la production par les cellules de l'hémisphère végétatif de facteurs inducteurs solubles. La première étape dans la recherche de ces facteurs consiste à tester la capacité d'induction (définie par les dérivés cellulaires produits) d'un milieu conditionné par des cellules de xénope en culture, sur des pôles animaux isolés. La recherche des molécules impliquées dans l'induction du mésoderme a connu un regain de vitalité depuis que l'on sait que plusieurs d'entre elles sont des membres de la famille des facteurs de croissance. Le

facteur XTC-MIF, sécrété par des cellules de xénope, semble en fait assez proche du facteur de croissance TGF- β 2 [1]. Le facteur codé par l'ARNm Vg1 à localisation végétative est lui aussi de type TGF (pour revue voir Whitman et Melton [2]). Enfin le FGF (*fibroblast growth factor*), et des membres de la famille des HBGF (*heparin binding growth factors*), pour ne citer qu'eux, peuvent induire la formation du mésoderme [3]. Il n'y aurait donc que deux groupes de facteurs inducteurs du mésoderme : les MIF, ou *mesoderm inducing factors*, du type XTC-MIF, apparentés aux TGF- β , et le groupe des HBGF, *heparin binding growth factors*, incluant les FGF. Les deux types de facteurs différencieraient dans leur capacité d'induction, comme en témoignent les dérivés préférentiels qu'ils produisent respectivement quand on les fait agir sur des pôles animaux isolés [1]. Les FGF seraient plutôt associés au signal ventral, au site d'entrée du spermatozoïde, et les TGF- β au signal dorsal, puisqu'ils induisent la formation du tissu le plus dorsal, c'est-à-dire la notocorde [4]. Enfin, du tissu du pôle animal traité avec du XTC-MIF reproduit l'activité de l'« organizer » de Speman [5]. Ce classique de l'embryologie démontre le rôle dorsalisant du mésoderme dorsal : la greffe d'un fragment de celui-ci en position ventrale d'une gastrula conduit à la formation d'un embryon avec deux lots complets de tissus dorsaux (cerveau, yeux, somites). Néanmoins, rien n'est en fait connu de la localisation précise de ces facteurs dans l'embryon précoce. La réponse est d'autant plus difficile à apporter qu'ils doivent agir ensemble pour assurer la formation du mésoderme, et à des concentrations variables suivant la localisation considérée pour spécifier les différents territoires, selon la notion d'information positionnelle [1, 6]. Enfin, il faut garder en mémoire que l'induction du mésoderme sous l'influence de ces facteurs reste un processus à étapes multiples, intégrant de plus des interactions entre cellules en constante mouvance. On peut aussi poser la question des événements moléculaires induits par ces facteurs, par exemple leur rôle possible dans l'activation de gènes du développement, comme les homéogènes ; nous reviendrons plus loin sur ce point.

* GLOSSAIRE *

Crête neurale : structure dérivée de l'ébauche neurale, formée aux bords latéraux de la plaque neurale, d'où migrent des cellules qui formeront des éléments du système nerveux ou des dérivés mésodermiques.

Branchiomérique : qui dérive des arcs viscéraux de l'embryon.

Détermination : processus par lequel une cellule est engagée dans une voie de différenciation particulière.

Différenciation : acquisition d'un phénotype spécialisé.

Dysgénésic : anomalie de développement d'un organe ou d'un tissu, aboutissant à une atrophie ou à une absence de différenciation.

Gastrulation : l'ensemble des mouvements morphogénétiques qui mettent en place les trois feuillettes de l'embryon, ectoderme, mésoderme et endoderme.

Homéogène : gène portant une séquence de type boîte homéo.

Homozygote : qui porte deux allèles identiques à un locus génétique donné.

Kopf : tête (mot allemand).

Ligne primitive : sillon qui se forme dans l'ectoderme embryonnaire, au début de la gastrulation, à travers lequel migrent les cellules destinées à former le mésoderme et l'endoderme.

Nœud de Hensen : structure formée à l'extrémité antérieure de la ligne primitive, chez le poulet, formant une sorte d'entonnoir par lequel sont internalisées des cellules ectodermiques.

Mésotoderme : mésoderme dérivé de la crête neurale.

Mésenchyme : tissu mésodermique embryonnaire, aux connections lâches.

Mésothélium : couche de cellules aplaties, en continuité avec un mésenchyme, qui tapisse certaines cavités de l'embryon.

Myoblaste : cellule mononucléée déterminée pour la différenciation myogénique.

Myotube : cellule myogénique, différenciée, multinucléée, formée par la fusion des myoblastes.

Notocorde : structure mésodermique déposée sous le tube neural, qui participe, avec le sclérotome, à la formation de la colonne vertébrale.

Plaque précordale : fraction du mésoderme déposée en avant de la notocorde.

Sarcomère : unité de contraction des fibres musculaires striées.

Somite : unité de segmentation du mésoderme paraxial, comportant dermatome, sclérotome et myotome.

nes ; nous reviendrons plus loin sur ce point.

L'accessibilité à l'embryon de souris en prégastrulation relevant du défi permanent, l'alternative consiste à étudier des facteurs murins apparentés aux facteurs inducteurs des amphibiens, membres de la famille des facteurs de croissance TGF- β ou d'oncogènes apparentés aux FGF. Les gènes *Vgr-1* (apparentés à *Vg1*), *TGF- β 1* et *TGF- β 2* — chez l'embryon de souris — sont effectivement exprimés dans différentes populations du mésenchyme, mais aussi par des précurseurs du squelette. S'il est encore trop tôt pour leur attribuer un rôle dans la formation du mésoderme chez l'embryon murin, il est clair qu'ils sont requis dans le contrôle de la progression de types cellulaires spécifiques dans le développement [7]. D'autres gènes murins semblent plus clairement jouer un rôle causal dans la formation du mésoderme. L'analyse de l'expression *in vivo* du protooncogène *int-2* montre qu'elle est restreinte dans le temps et l'espace, du stade de la gastrulation aux premiers signes de l'organogenèse, et plus spécialement observée dans le mésoderme nouvellement formé et en migration. L'accumulation des transcrits observée dans ce compartiment décroît dès le début de la segmentation présomitique [8]. Les produits de deux oncogènes transformants, *int-2* et *kfgf* [9], sont, eux, capables d'induire la formation du mésoderme à partir des cellules du pôle animal d'embryon de *Xenopus laevis*. On a peut-être là affaire aux premiers inducteurs mésodermiques des mammifères.

Premières réponses moléculaires à l'induction du mésoderme

L'induction du mésoderme se traduit par la mise en place de territoires présomptifs à devenir différents. L'identification de marqueurs précoces du mésoderme est donc de première importance dans l'étude de ces territoires, puisqu'elle permettra ainsi de suivre leur évolution lors de la gastrulation et au-delà.

Depuis plusieurs années, la seule réponse précoce connue à l'induction

RÉFÉRENCES

14. Ruiz i Altaba A, Melton DA. Axial patterning and the establishment of polarity in the frog embryos. *TIG* 1990 ; 6 : 57-64.
15. Hopwood ND, Pluck A, Gurdon JB. A *Xenopus* mRNA related to *Drosophila twist* is expressed in response to induction in the mesoderm and the neural crest. *Cell* 1989 ; 59 : 893-903.
16. Downs KM, Martin GR, Bishop JM. Contrasting patterns of *myc* and *N-myc* expression during gastrulation of the mouse embryo. *Genes and Development* 1989 ; 3 : 860-9.
17. Willison K. The mouse brachyury gene and mesoderm formation. *TIG* 1990 ; 6 : 104-5.
18. Wilkinson DG, Bhatt S, Hermann BG. Expression pattern of the mouse *T* gene and its role in mesoderm formation. *Nature* 1990 ; 343 : 657-9.
19. Hogan B, Holland P, Schofield P. How is the mouse segmented. *TIG* 1985 ; 1 (3) : 67-74.
20. Christ B, Jacob HJ, Jacob M. Experimental analysis of the origin of the wing musculature in avian embryos. *Anat Embryol* 1977 ; 150 : 171-86.
21. Le Douarin N. *The Neural Crest*. Cambridge : Cambridge University Press, 1982.
22. Le Douarin NM, Teillet M-A, Couly G. Chimères embryonnaires et développement du système nerveux. *m/s* 1990 ; 6 (3) : 228-44.
23. Christ B, Jacob HJ, Jacob M. Über den Ursprung des Flügelmuskulatur. Experimentelle Untersuchungen mit Wachtel- und Hühnerembryonen. *Experientia* 1974 ; 30 : 1446-8.
24. Chevallier A, Kieny M, Mauger A. Sur l'origine de la musculature de l'aile chez les oiseaux. *CR Acad Sc Paris* 1976 ; 282D : 309-11.
25. Milaire J. Contribution cellulaire des somites à la genèse des bourgeons de membres postérieurs chez la souris. *Arch Biol* 1976 ; 87 : 315-43.
26. Keynes RJ, Stern CD. Mechanisms of vertebrate segmentation. *Development* 1988 ; 103 : 413-29.
27. Ede DA, El-Gadi AOA. Genetic modifications of developmental acts in chick and mouse somite development. In : Bellairs, Ede, Lash, ed. *Somites in Developing Embryos*. New York and London : Plenum Press, 1986 : 209-24.

du mésoderme était l'expression de l' α -actine dans le mésoderme puis dans les somites en formation, chez le xénope [10]. Des marqueurs encore plus précoces ont été récemment identifiés : l'homologue chez le xénope de MyoD1 (MyoD1, facteur régulateur myogénique, voir [11]) est exprimé dans le mésoderme dès le stade *gastrula* précoce quelque temps avant l'actine, puis dans les somites en formation [12]. On observe aussi l'activation d'au moins deux homéogènes à la suite de l'induction du mésoderme, Mix-1 dans l'endoderme prospectif [13] et XHox-3 dans le mésoderme [14]. Enfin, *Xtwi*, homologue du gène *twist* de la drosophile (impliqué dans la formation du mésoderme et dans la gastrulation), apparemment le plus précoce, est exprimé dans la crête neurale et dans les cellules mésodermales précoces, mais pas dans les somites, précurseurs de tous les muscles striés du corps et des membres ; il présente ainsi un profil d'expression « complémentaire » à celui de XMyoD [15].

Chez la souris, la gastrulation commence au jour 6,5 du développement. Downs *et al.* [16] ont analysé l'expression de *myc* et *N-myc* à ces stades précoces de l'embryogenèse : *N-myc* est exprimé de façon non négligeable dans le mésoderme encore indifférencié, et — à mesure de sa maturation en ses divers dérivés, cœur, somites — son expression diminue pour disparaître. Tout récemment a été rapportée l'analyse de l'expression *in vivo* au cours de ces étapes précoces du développement, d'un gène, le gène *T*, connu génétiquement comme impliqué dans la formation du mésoderme. Des embryons de souris homozygotes pour la mutation *T/T* n'ont pas de mésoderme formé lors de la gastrulation. Celle-ci s'en trouve altérée et le développement de ces souris limité [17], ce qui présente une analogie avec les embryons mutants *twist* de drosophile. L'expression du produit du gène *T* est décelable dès le 7^e jour de développement dans les cellules mésodermiques et ectodermiques chez l'embryon de souris, mais dès 8,5 jours, cette expression est localisée dans des dérivés mésodermiques [18]. Il serait cependant pertinent de s'assurer précisément des

cinétiques respectives de l'induction du mésoderme et du début de l'expression du gène *T* dans l'ectoderme avant de lui assigner un rôle causal dans l'induction du mésoderme chez la souris.

Somitogenèse et origine des muscles squelettiques

Les mouvements morphogénétiques de la gastrulation mettent en place les trois feuilletts fondamentaux des métazoaires. Chez la souris, la majorité des cellules produites pendant les six jours suivant la fécondation constitue les annexes extra-embryonnaires, et l'embryon de souris se forme à partir d'un petit groupe de cellules épithéliales, l'ectoderme embryonnaire ou primitif. La séquence des événements lors de la gastrulation est très semblable chez la souris et le poulet (*figure 2*). Le long d'un sillon qui se forme dans la partie postérieure de l'embryon et progresse vers la région antérieure (*la ligne primitive*), des cellules de l'ectoderme (ou épiblaste) s'internalisent sous l'ectoderme pour produire le mésoderme et l'endoderme définitif. Le mésoderme va constituer deux populations, le mésoderme latéral et le mésoderme paraxial. A l'extrémité antérieure de la ligne primitive apparaît une autre structure, le nœud de Hensen, qui régresse vers la partie postérieure et à travers lequel s'internalisent d'autres cellules épiblastiques destinées à former la notocorde. Au cours de sa régression, le nœud de Hensen sépare le mésoderme paraxial en deux bandes de mésenchyme : la plaque segmentaire, dont l'épithélialisation séquentielle donnera les somites [19]. Quoique l'essentiel de la structure des membres soit constitué du mésoderme latéral (squelette, cartilage, tendons et même les enveloppes musculaires), tous les myoblastes des muscles squelettiques y proviennent du mésoderme somitique, dont les cellules migrent pour coloniser les bourgeons de patte. Cela a été suggéré dès 1895 par Fischel (cité par Christ *et al.* [20], mais démontré beaucoup plus récemment sur l'embryon de poulet, pour lequel on dispose du système de marquage cellulaire que fournit la transplantation de cellules de caille, introduit par

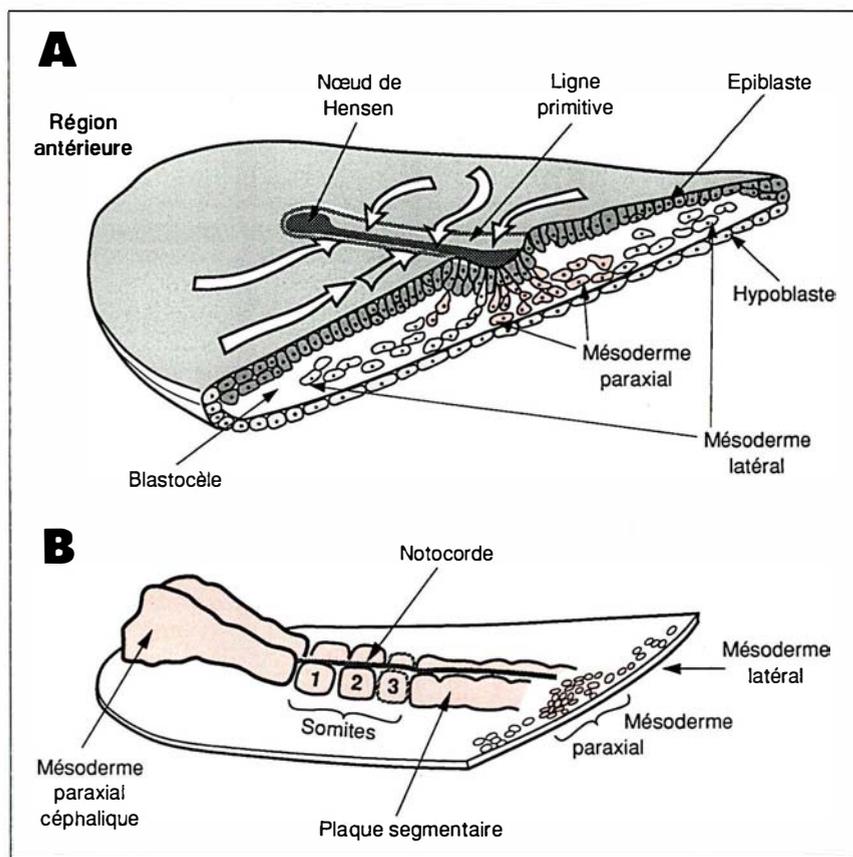


Figure 2. **Gastrulation chez le poulet.** A) Schéma tridimensionnel d'un embryon de poulet au moment de la gastrulation. Les cellules de l'épiblaste (ectoderme embryonnaire) s'invaginent le long de la ligne primitive. Celles qui migrent le plus loin dans le blastocèle vont former le mésoderme latéral ; celles qui restent à proximité de la ligne primitive forment le mésoderme paraxial. A l'extrémité antérieure de l'embryon se forme le nœud de Hensen, à travers lequel migrent les cellules qui formeront la notocorde. Les flèches figurent les mouvements de migration cellulaire. L'hypoblaste ne participe pas aux structures de l'embryon : il est envahi au cours de la gastrulation par les cellules de l'endoderme, qui le repoussent hors de la zone embryonnaire. Quoique l'épithélium de l'ectoderme embryonnaire ne soit pas plan chez la souris, mais forme une cupule, les mouvements de la gastrulation y sont analogues. B) Structure du mésoderme mis en place à la gastrulation. Le feuillet ectodermique (épiblaste, tube neural) n'est pas représenté, ce qui permet de visualiser la notocorde, les somites et la plaque segmentaire. Les somites s'individualisent à partir de la plaque segmentaire, de façon antéro-postérieure. A l'extrémité postérieure, du mésoderme continue d'être formé. La segmentation du mésoderme paraxial céphalique reste virtuelle, et d'ailleurs est controversée.

Nicole Le Douarin [21, 22]. Les noyaux cellulaires de ces deux espèces peuvent en effet être aisément distingués, et les chimères formées aux stades précoces de l'embryogenèse se développent parfaitement, jusqu'à l'éclosion et au-delà. Des greffes hétérosécifiques permettent donc de suivre sans ambiguïté le destin des cellules greffées. Ainsi, il a été

montré que des somites de caille, greffés sur l'embryon de poulet, envoient des cellules qui contribuent exclusivement à la formation des fibres musculaires [23, 24] : à l'inverse, du mésoderme latéral, greffé, ne contribue jamais à la population des cellules myogéniques, mais seulement au tissu conjonctif du muscle [20]. L'embryologie expérimentale

des mammifères est extrêmement réduite ; l'essentiel des informations rassemblées dans cette section concernera donc l'embryogenèse du poulet ; cependant, certains résultats sont confirmés chez les mammifères par l'observation histologique. Ainsi en est-il de l'origine somitique des myotubes, confirmée chez la souris par les travaux de Milaire [25], révélant de véritables « coulées cellulaires » des somites vers le bourgeon de patte.

Somitogenèse

C'est dans les somites que les myoblastes trouvent leur origine ; nous allons donc étudier d'abord la formation et la différenciation des somites. Ceux-ci apparaissent dès la 24^e heure d'incubation, chez le poulet, à partir du mésenchyme de la plaque segmentaire [26]. Ils adoptent d'abord la forme d'une structure épithéliale, sphère enclose dans une membrane basale, dont les cellules arrangées de façon radiale bordent une petite cavité centrale, ou somitocèle, remplie de cellules à structure mésenchymateuse (figure 3, p. 659). De petites différences sont observées chez la souris, en particulier dans le nombre et la taille des cellules somitiques [27]. Mais à de mineures exceptions près, les mécanismes de la somitogenèse sont conservés à travers tous les *phylums* des vertébrés. Les somites se différencient ensuite en trois composants : la partie ventromédiane (interne), d'abord, perd sa structure épithéliale pour former, avec les cellules du somitocèle, la structure mésenchymateuse du sclérotome, qui, en combinaison avec la notocorde, formera la colonne vertébrale. La région dorsolatérale du somite retient une structure épithéliale et forme le dermomyotome, au double destin. Sa partie la plus externe, située sous l'ectoderme, forme le dermatome qui se désagrègera pour donner les cellules du derme. Par ailleurs, des cellules migrent du dermomyotome pour aller former la troisième composante du somite, le *myotome* (figure 3). Les cellules du myotome formeront les muscles paravertébraux et intercostaux, et participeront à l'élaboration des muscles abdominaux [28]. Il faut remarquer que cette source de musculature, prédominante chez les pois-

RÉFÉRENCES

28. Christ B, Jacob M, Jacob HJ, Brand B, Wachtler F. Myogenesis : a problem of cell distribution and cell interactions. In : Bellairs, Ede, Lash, ed. *Somites in Developing Embryos*. New York and London : Plenum Press, 1986 : 261-75.
29. Chevallier A. Role of the somitic mesoderm in the development of the thorax in bird embryos. *J Embryol Exp Morph* 1979 ; 49 : 73-88.
30. Beresford B. Brachial muscles in the chick embryo : the fate of individual somites. *J Embryol Exp Morph* 1983 ; 77 : 99-116.
31. Lance-Jones C. The somitic level of origin of embryonic chick hindlimb muscles. *Dev Biol* 1988 ; 126 : 394-407.
32. Sengel P. Régionalisation précoce du mésoderme somitique chez l'embryon de poulet : développement comparé du plumage et du squelette axial. *Bull Soc Zool Fr* 1972 ; 97 : 485-95.
33. Kiény M, Pautou MP, Chevallier A, Mauger A. Spatial organization of the developing limb musculature in birds and mammals. *Bibliothca Anat* 1986 ; 29 : 65-90.
34. Romer AS. *The Vertebrate Body*. Philadelphia : W.B. Saunders, 1963.
35. Wachtler F, Jacob M. Origin and development of the cranial skeletal muscles. *Bibliothca Anat* 1986 ; 29 : 24-46.
36. Noden D. Patterns and organization of craniofacial skeletogenic and myogenic mesenchyme : a perspective. In : Dixon, Sarnat, ed. *Factors and Mechanisms Influencing Bone Growth*. New York : AR Liss, 1982 : 167-203.
37. Buckingham ME. The control of muscle gene expression : a review of molecular studies on the production and processing of primary transcripts. *British Medical Bull* 1989 ; 45 (3) : 608-29.
38. Holtzer H, Marshall J, Fink H. An analysis of myogenesis by the use of fluorescent antimyosin. *J Biophys Biochem Cytol* 1957 ; 3 : 705-24.
39. Lyons GE, Ontell M, Cox R, Sassoon D, Buckingham M. The expression of myosin genes in developing skeletal muscle in the mouse embryo. *J Cell Biol* 1990. In press.
40. Sassoon D, Garner I, Buckingham M. Transcripts of α -cardiac and α -skeletal actins are early markers for myogenesis in the mouse embryo. *Development* 1988 ; 104 : 155-64.
41. Lyons GE, Mannhertz H, Buckingham ME. 1990, manuscript in preparation.
- sons, devient quasi vestigiale chez les oiseaux, où les muscles paravertébraux ne se retrouvent guère que dans le cou, toute la partie postérieure de la colonne vertébrale étant soudée. Les modalités précises de la migration des myoblastes vers le myotome sont controversées, mais tous s'accordent à admettre qu'ils s'échappent par la partie dorsomédiane (celle qui jouxte le tube neural). De la région ventrolatérale (externe) du dermomyotome migre une autre population de cellules (figure 3), celle qui va coloniser les bourgeons de membres et y former les myoblastes, et plus généralement va constituer la source de myoblastes pour tous les muscles du tronc et des membres, à l'exception de ceux dont l'origine est purement myotomique [27]. Il apparaît donc que le dermomyotome est la source de myoblastes pour tous les muscles striés du tronc et des membres. La situation des muscles de la tête est plus compliquée, et nous y reviendrons.

Il est important de noter que le mésoderme paraxial ne se segmente qu'après le passage du nœud de Hensen lors de la régression de celui-ci le long de la ligne primitive, de façon antéropostérieure [19]. Le développement de tous les somites ne sera donc pas simultané : les premiers se différencieront déjà dans la région antérieure, tandis que la plaque segmentaire restera indifférenciée dans la région postérieure (figure 2). A un instant donné, l'embryon présentera donc des somites à tous les stades de différenciation. Pour la même raison, le développement des membres antérieurs est toujours plus précoce que celui des membres postérieurs.

Régionalisation des territoires somitiques

L'origine embryologique des différents muscles du tronc et des membres a été étudiée. Il en ressort que chaque muscle, chez le poulet, dérive d'un territoire somitique bien défini le long de l'axe céphalo-caudal. Ainsi, les muscles de l'aile sont colonisés par les cellules des somites 16 à 21 [29, 30], et ceux de la patte, par des cellules dérivant des somites 26 à 32 [29, 31]. Lance-Jones [31] a poussé cette analyse plus en détail, examinant pour chaque muscle de la

patte dans quel somite il trouvait son origine. Elle conclut que, des somites destinés à coloniser les muscles d'un membre, les plus antérieurs envoient leurs cellules vers les muscles les plus antérieurs, et de même les plus postérieurs vers les muscles les plus postérieurs. D'une façon générale, les cellules d'un somite vont coloniser les territoires musculaires présomptifs qui lui sont adjacents, et les muscles qui s'étendent sur de grandes distances le long de l'axe de l'embryon seront peuplés de myotubes provenant d'un grand nombre de somites [29]. Cette régionalisation très stricte n'est pas, cependant, une propriété intrinsèque des somites. Si l'on greffe un somite d'un embryon en position ectopique, le développement se fera normalement, et le destin des cellules somitiques greffées sera conforme à leur localisation lors de leur migration, non à leur localisation d'origine : ainsi, des somites provenant du cou, du tronc ou du niveau de la patte enverront des cellules myogéniques dans l'aile s'ils sont greffés en regard de ce territoire [29]. Les cellules somitiques sont donc déterminées pour la différenciation myogénique, mais non pour la formation d'une structure musculaire définie le long de l'axe de l'embryon. Au contraire, les cellules qui produisent les autres dérivés du somite, structures dermiques comme le plumage, ou squelettiques, comme le squelette axial, ont des capacités morphogénétiques précocement régionalisées [32]. Cette homologie sérielle des somites vis-à-vis de la myogénèse donne au mésoderme latéral un rôle primordial pour la formation de structures musculaires spécifiques. On a vu que c'est de cette fraction du mésoderme que dérivent les tissus annexes du muscle, tendons et enveloppes musculaires. Il semble que ces tissus façonnent l'architecture des muscles : des embryons privés de myoblastes (somitiques) vont développer des pattes où l'on retrouvera l'organisation normale des faisceaux musculaires, mais sous forme de fantômes de muscles... vides de toute cellule musculaire (B. Christ, communication personnelle). Cette prévalence du mésoderme latéral doit cependant être nuancée : s'il est établi qu'elle s'exerce sur la formation

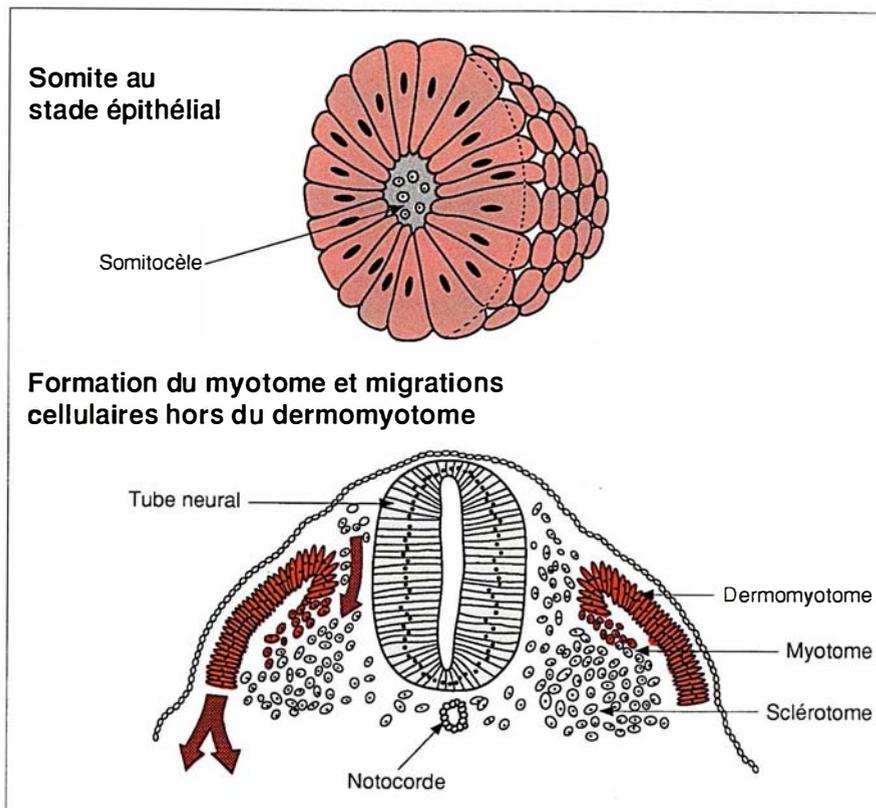


Figure 3. **Deux étapes du développement des somites chez le poulet.** Au stade épithérial, le somite forme une sphère d'une seule cellule de rayon, contenant quelques cellules mésenchymateuses au sein du somitocèle. Au stade de la formation du myotome, sclérotome et dermomyotome sont déjà individualisés. Les cellules à destinée myogénique, qui vont former le myotome, migrent de la lèvre dorso-médiane du dermomyotome ; celles qui migrent hors du somite proviennent de la lèvre ventro-latérale (voir les flèches).

des structures musculaires, la stabilisation de ces structures dépend également de facteurs liés aux myoblastes. Cela a été démontré par Madeleine Kieny et son groupe, par l'analyse du mutant *crooked neck dwarf* (cn). La formation normale des muscles individuels passe par la constitution de grandes masses musculaires, qui sont ensuite scindées en faisceaux plus petits. Le mutant cn/cn présente une dysgénésie très grave du fait qu'après cette scission initiale, les muscles formés fusionnent de nouveau. Or, l'expérience montre que l'élément affecté chez ce mutant est la lignée myogénique : en effet, la greffe de cellules somitiques normales sur l'embryon mutant restaure un phénotype normal des muscles [33].

Le *Kopfproblem*

Si l'origine des muscles du tronc est clairement définie comme strictement somitique, celle des muscles de la tête

reste controversée (ce que les savants de langue allemande dénomment plaisamment *Kopfproblem*). C'est que l'origine du mésenchyme céphalique elle-même est complexe. Il dérive en partie, comme dans le tronc, du mésoderme paraxial (qui, dans la tête, ne se segmente pas) ; mais aussi d'une formation spécifique, la plaque précordale, formée en avant de la partie antérieure de la notocorde. Le mésoderme précordal, comme le mésoderme paraxial, provient de l'invagination de cellules épiblastiques à travers la ligne primitive ; mais ces cellules conservent une structure mésenchymateuse, au contraire de celles des somites qui forment des épithéliums. Enfin, la crête neurale constitue une source considérable de mésenchyme céphalique, que, du fait de sa dérivation tardive du feuillet ectodermique, on qualifie de méséctoderme [21]. On peut distinguer

dans la tête trois groupes de muscles : ceux de la langue, les muscles externes de l'œil et les muscles branchiomériques. Ces derniers sont ainsi nommés parce que, chez nos ancêtres aquatiques, ils formaient la musculature des arcs branchiaux, comme c'est aujourd'hui encore le cas pour les poissons. Ils ont évidemment une moindre expansion chez les oiseaux et les mammifères, où les arcs branchiaux ne constituent plus que des structures transitoires, d'où dérivent cependant les muscles de la mâchoire, de la face, et certains muscles du cou [34].

Les muscles de la langue dérivent, comme ceux du tronc et des membres, du mésoderme somitique provenant des somites occipitaux (revue par Wachtler *et al.* [35]). Le tissu conjonctif de ces muscles, cependant, dérive de la crête neurale. L'origine des muscles externes de l'œil a été longtemps controversée : après les expériences décisives de Wachtler *et al.* [35], elle est clairement localisée dans le mésoderme précordal. L'origine des muscles branchiomériques reste incertaine : Le Douarin [21], observant des cellules de caille dans les muscles de la mâchoire après une greffe de crête neurale de caille, attribue au méséctoderme dérivé de la crête neurale, des propriétés myogéniques. Mais Wachtler *et al.* [35], au terme d'une étude sur les potentialités myogéniques de différentes structures embryonnaires, concluent à l'absence de telles propriétés dans la crête neurale céphalique ; et Noden [36] propose que ces muscles dérivent du mésoderme paraxial céphalique. La question est encore ouverte aujourd'hui.

La formation du muscle : marqueurs musculaires

La formation du muscle est caractérisée par l'activation de toute une série de gènes dont les produits sont spécifiques de ce tissu. Il s'agit de protéines telles que les composants structurels du sarcomère, les enzymes particulières au métabolisme du muscle et les constituants membranaires impliqués, entre autres, dans les interactions nerf-muscle. Il s'agit également des facteurs de régulation myogénique, découverts depuis

RÉFÉRENCES

42. Furst D, Osborn M, Weber K. Myogenesis in the mouse embryo : differential onset of expression of myogenic proteins and the involvement of titin in myofibril assembly. *J Cell Biol* 1989 ; 109 : 517-27.
43. Vivarelli E, Brown W, Whalen R, Cossu G. The expression of slow myosin during mammalian somitogenesis and limb bud differentiation. *J Cell Biol* 1988 ; 107 : 2191-7.
44. Kelly AM. Emergence of specialization in skeletal muscle. In : Peachey, Adrian, Geiger, ed. : *Handbook of Physiology - Skeletal Muscle*. Bethesda, American Physiological Society, 1987 : 507-37.
45. Sassoon D, Lyons GE, Wright W, Lin V, Lassar A, Weintraub H. Expression of two myogenic regulatory factors : *myogenin* and *MyoD1* during mouse embryogenesis. *Nature* 1989 ; 341 : 303-7.
46. Charles de La Brousse F, Emerson CP. Localized expression of a myogenic regulatory gene, *qmf1*, in the somite dermatome of avian embryos. *Genes and Development* 1990 ; 4 : 567-81.
47. Ott M-O, Bober E, Lyons GE, Arnold HH, Buckingham ME (1990). Early expression of the myogenic regulatory gene, *myf5*, in precursor cells of skeletal muscle in the mouse embryo. Submitted.
48. Gros F, Montarras D, Pinset C, Mouly V. Hétérogénéité myoblastique et filiation myogénique. *m/s* 1990 ; 6 (3) : 245-51.
49. Hauschka SD. Clonal analysis of vertebrate myogenesis — III. Development changes in the muscle-colony-forming cells of the human fetal limb. *Development* 1974 ; 37 : 345-68.
50. Miller JB, Stockdale FE. Developmental regulation of the multiple cell lineages of the avian embryo. *J Cell Biol* 1986 ; 103 : 2197-208.
51. Ontell M, Kozeka K. The organogenesis of murine striated muscle : a cytoarchitectural study. *Amer J Anat* 1984 ; 171 : 133-48.
52. Cossu G, Eusebi F, Grassi F, Wanke E. Acetylcholine receptor channels are present in undifferentiated satellite cells but not in embryonic myoblasts in culture. *Dev Biol* 1987 ; 123 : 43-50.
53. Pinney DF, Pearson-White SH, Konieczny SF, Latham KE, Emerson CP. Myogenic lineage determination and differentiation : evidence for a regulatory gene pathway. *Cell* 1988 ; 53 : 781-93.
54. Krenn V, Gorka P, Wachtler F, Christ B, Jacob HJ. On the origin of cells determined to form skeletal muscle in avian embryos. *Anat Embryol* 1988 ; 179 : 49-54.
- peu [11], qui peuvent éventuellement jouer un rôle aussi bien dans la détermination que dans la différenciation des cellules musculaires. Un aspect qui complique considérablement le « scénario muscle » est l'existence de multiples isoformes de la plupart de ces protéines. Dans le cas des protéines contractiles, par exemple, différentes isoformes sont présentes dans divers muscles et même dans des tissus non musculaires. A toutes les étapes du développement musculaire, on peut constater également l'apparition d'isoformes particulières (voir [37]). Cette situation complexe présente l'avantage d'offrir un grand nombre de marqueurs qui peuvent éventuellement servir à caractériser les différentes étapes de la myogenèse.
- ### Gènes de structure
- Les premiers muscles du squelette à se former sont les myotomes, à partir de la région centrale des somites. Avant même l'apparition des fibres musculaires, les cellules mononucléées du myotome contiennent déjà un sarcomère musculaire et des myofibrilles contractiles [38]. L'analyse de l'expression de gènes d'actines et de myosine, par hybridation *in situ*, chez la souris, démontre en effet que leurs transcrits sont présents dans le myotome [39]. On constate qu'avec des gènes qui s'expriment uniquement dans le muscle du squelette, sont co-exprimés d'autres gènes dont les produits sont aussi caractéristiques du cœur. L'apparition des transcrits des divers gènes n'est pas synchronisée. A partir de 8,5 jours, les cellules du myotome des somites antérieurs expriment déjà l' α -actine, surtout l'isoforme cardiaque (figure 4) [40]. Un autre marqueur du muscle cardiaque, l'isoforme de myosine MLC1A (*myosin light chain 1A*), a également un transcrit qui se trouve en abondance dans les premières cellules du myotome. En revanche, aucune des séquences codant pour des protéines de structure du muscle n'est détectée dans le dermomyotome des somites. Avant la formation des somites, c'est seulement dans le cœur, qui se forme plus précocement, que s'expriment des marqueurs musculaires. Il faut noter que chez les vertébrés inférieurs, tel le xénope, les transcrits d'actine cardiaque sont détectés quelques heures avant l'apparition des premiers somites [10].
- D'autres gènes, dont les produits constituent une partie importante du sarcomère, ne sont activés qu'un peu plus tard dans le myotome. Ainsi, par exemple, les premiers transcrits des chaînes lourdes de la myosine, de type embryonnaire et, encore une fois, cardiaque, sont accumulés à 9,5 jours, alors que les transcrits d'autres gènes de myosine n'apparaissent que plus tardivement encore [39]. Au niveau des protéines, nous possédons moins d'informations précises, mais l'utilisation d'anticorps a fait apparaître clairement que l' α -actine est présente aussi précocement que son messenger [41] et que d'autres protéines musculaires, telle la desmine, apparaissent relativement tôt dans le myotome [42]. Pour une myosine, cependant, il y a décalage entre l'apparition du messenger et celle de la protéine [39, 43].
- D'autres masses musculaires se forment plus tardivement : dans celles-ci, l'expression de gènes tels que les actines et les myosines n'a pas été suivie avec autant de précision, mais la cinétique d'expression des divers gènes est probablement semblable. Dans les bourgeons de patte, par exemple, les transcrits d'actine cardiaque sont détectés à partir de 11,5 jours, avant la formation des myofibrilles contractiles (voir [39, 40]). A l'origine, les masses musculaires de l'embryon ont un phénotype homogène. Ce n'est qu'au moment de l'innervation (15^e jour environ, chez l'embryon de la souris) que différentes fibres à l'intérieur d'un même muscle commencent à exprimer des marqueurs différents [44]. Les isoformes présentes continuent à évoluer jusqu'à la mise en place des phénotypes des différentes fibres adultes, lentes et rapides, au cours de la période périnatale (voir [39]).
- ### Gènes de régulation
- Avec la découverte récente des facteurs de régulation myogénique [11] — *MyoD1*, *myogénine*, *myf5* et *myf6*, chez les mammifères —, on dispose de gènes qui ne sont plus seulement des marqueurs de l'état différencié, mais d'éventuels effecteurs de la détermination et de la différenciation des cellules musculaires. Il s'agit uni-

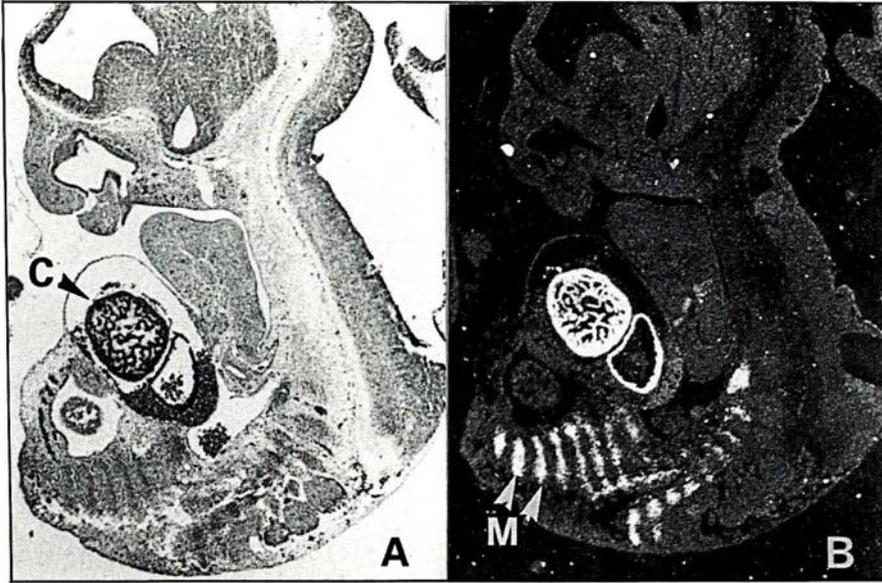


Figure 4. **Coupe parasagittale d'un embryon de souris de 11,5 jours.** **A)** Photographie en contraste de phase ; **B)** Même champ en fond noir, après hybridation *in situ* avec la sonde d'actine cardiaque exprimée dans le cœur (C) et les myotomes (M).

quement des cellules du muscle squelettique, en ce qui concerne cette famille de gènes, aucune de ces séquences n'étant exprimée dans le cœur [45]. On peut se demander si ces facteurs sont exprimés dans les cellules mésodermiques précurseurs du muscle, et s'ils ont des profils d'expression différents.

Une première observation importante est que la cinétique d'accumulation de chaque séquence est différente. *Myf6* (aussi appelé *MRF4* ou *herculine*) est probablement exprimé tardivement, aux environs de la naissance, et dans le muscle adulte (voir [11]). Dans l'embryon de souris, les transcrits du gène *MyoD1* ne sont détectés dans les myotomes qu'à partir de 10,5 jours, tandis que ceux de la myogénine se trouvent en abondance dans les premières cellules des myotomes [45]. Une séquence *gmf1*, qui est homologue à celle de *MyoD1*, est exprimée dans les myotomes de la caille [46]. *Myf5* est la seule séquence de régulation myogénique à être détectée plus précocement. En effet, chez la souris, les premiers transcrits de *Myf5* s'accumulent dans le dermomyotome avant la formation du myotome. Leur plus grande abondance dans la partie dorsomédiane qui jouxte le tube neural, peut être corrélée aux observations embryolo-

giques et indique une expression de ce gène dans les cellules qui sont les précurseurs du myotome [47] (figure 5, p. 662). Des transcrits de *myf5* sont néanmoins répartis dans tout le dermomyotome. Il est donc possible que les cellules du dermomyotome qui vont migrer pour établir d'autres masses musculaires expriment également *Myf5*. Avec les moyens techniques disponibles actuellement, il n'est pas possible d'identifier une expression éventuelle du gène *myf5* dans des cellules isolées en voie de migration. Cependant, les transcrits de *Myf5* sont détectés très précocement (à 12 jours) dans les cellules des bourgeons de patte, juste avant ceux de *MyoD1* et de la myogénine qui apparaissent ensemble à 11,5 jours. *Myf5* est exprimé précocement, mais son expression ne se maintient pas. Dès le 12^e jour, dans l'embryon de souris, les transcrits commencent à disparaître, tandis que ceux de *MyoD1* et de la myogénine se maintiennent à un taux d'expression très élevé dans tous les muscles du squelette. Chez d'autres espèces, l'expression précoce d'un facteur myogénique a également été notée. Comme nous l'avons déjà vu, chez le xénope, *XMyoD1* est exprimé quelques heures avant l'actine cardiaque à la suite de l'induction du mésoderme [12].

Les différentes cinétiques d'apparition des facteurs myogéniques chez l'embryon pourraient suggérer qu'ils jouent des rôles différents pendant la myogenèse (Tableau I, p. 662). D'une part, on sait qu'il s'agit d'une famille de facteurs de transcription (voir [11]) et on peut formuler l'hypothèse que différents facteurs ou combinaisons de facteurs myogéniques interviennent dans l'activation de différents gènes structuraux du muscle. Cela dit, il n'y a pas de corrélation simple et évidente entre les cinétiques d'apparition des différents messagers (voir [39]). D'autre part, on sait, que dans certaines lignées cellulaires *in vitro*, l'introduction de séquences produisant ces facteurs myogéniques provoque une conversion de la cellule en lignage myogénique. On peut se demander si différentes filiations de cellules musculaires existent chez l'embryon, caractérisées par l'expression de différents facteurs myogéniques (voir [48]). Même si l'on ne constate pas de distinction entre les fibres à l'intérieur d'une même masse musculaire, il se peut cependant que différentes populations de myoblastes contribuent aux différences temporelles dans l'expression d'isoformes musculaires. En fait, la question de l'existence de différentes filiations de myoblastes primaires est controversée actuellement. Les expériences *in vitro* avec les myoblastes prélevés à des stades différents suggèrent la présence de plusieurs populations de myoblastes embryonnaires [49, 50]. Plus tard, au cours du développement du muscle, à la suite de l'innervation (14-15 jours chez l'embryon de la souris), une population de myoblastes dits « secondaires » donne des fibres « secondaires » qui se distinguent morphologiquement des premières fibres présentes chez l'embryon [51]. Les cellules « satellites » associées aux fibres musculaires adultes ont également des propriétés qui diffèrent de celles des myoblastes embryonnaires [52]. Il y a donc plusieurs populations de myoblastes. Le problème des filiations de cellules musculaires chez l'embryon mérite d'être reconsidéré dans le contexte des facteurs myogéniques. L'éventuelle manipulation *in vivo* des gènes de ces facteurs, notamment par recombinaison homologue, devrait

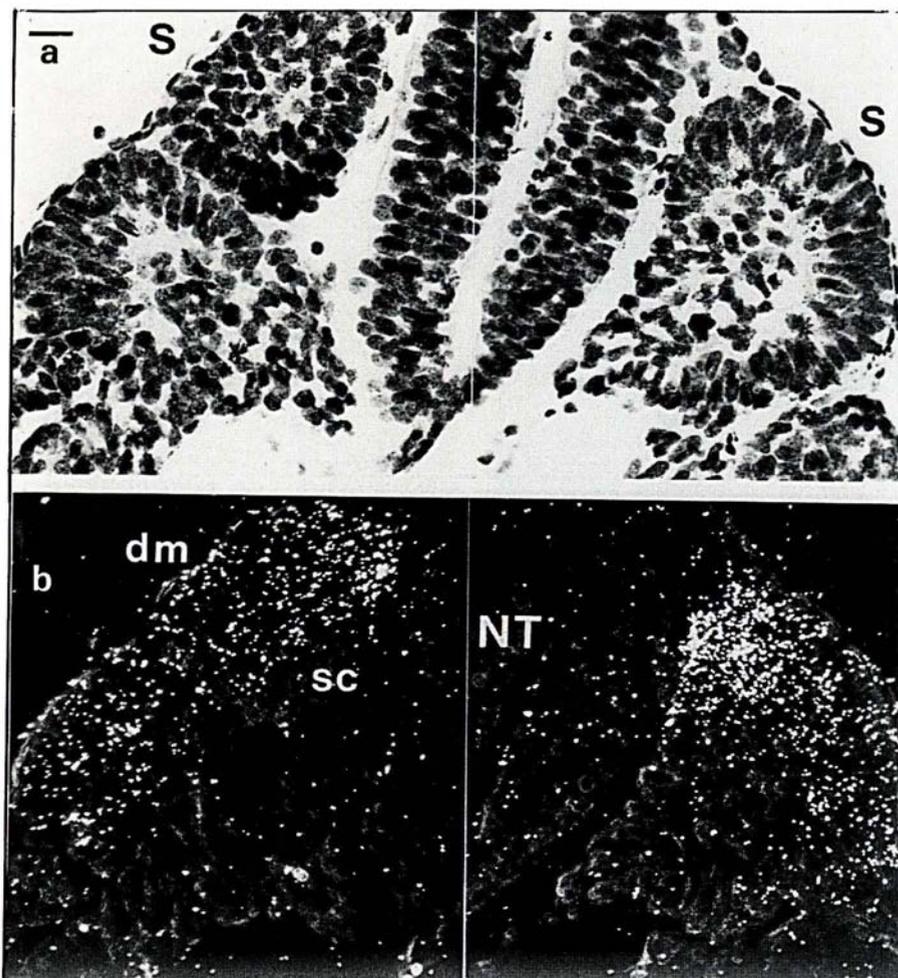


Figure 5. **Coupe transversale de la région caudale d'un embryon de souris de 9,25 jours (21-24 somites), hybridée avec une sonde myf5. A)** Photographie en contraste de phase, montrant le tube neural (NT), et les somites (S) de chaque côté ; **B)** Même champ en fond noir, montrant l'hybridation (en blanc) avec la sonde. dm : dermomyotome ; sc : sclérotome.

éclaircir la question de leur rôle dans la formation et dans la maturation des muscles.

On ne sait pas non plus s'il existe un ou plusieurs effecteurs responsables des différentes cinétiques d'apparition des facteurs myogéniques. Les expériences *in vitro* suggèrent la possibilité d'une éventuelle autoactivation « en cascade » de différents gènes de régulation myogénique (voir [11]). Les cinétiques de leur expression *in vivo* ne sont pas facilement expliquées par un modèle simple de ce type. D'autres facteurs « physiologiques » doivent intervenir. L'activation de l'expression de *Myo D1*, par exemple, pourrait être corrélée à un effet du tube neural sur la maturation des somites (voir [45]). Des différents facteurs myogéniques, c'est *myf5* qui est exprimé le plus précocement. On ignore, pour le moment, si d'autres régulateurs myogéniques existent. Une séquence « myd » a été partiellement caractérisée, et proposée comme un régulateur plus précoce [53], mais il n'y a aucune donnée actuellement sur l'expression de *myd* pendant l'embryogenèse. On pourrait avancer l'argument que l'apparition de *myf5* dans le dermomyotome correspond, en fait, au moment où les cellules précurseurs du muscle se distinguent d'autres cellules du dermomyotome aux devenir différents. De là à dire que *myf5* est la molécule qui détermine le devenir myogénique, cela semble cependant un peu prématuré. Son expression, d'ailleurs, apparaît à une étape relativement tardive du développement. Krenn *et al.* [54] ont observé que des cellules à potentialités myogéniques sont décelables dans la ligne primitive dès le début de sa formation, chez le poulet. Il y aurait donc détermination pour la myogenèse dès la mise en place du mésoderme, ce qui ne veut nullement dire que la formation des somites, leur différenciation en trois composants, et la migration de cellules hors du dermomyotome ne soient pas nécessaires à l'expression du phénotype musculaire ; mais certainement, qu'il reste d'autres facteurs de régulation à mettre en évidence avant de prétendre à une définition moléculaire des cellules déterminées pour la myogenèse, parmi les autres dérivés mésodermiques ■

Tableau I

APPARITION DES SÉQUENCES MYOGÉNIQUES RÉGULATRICES PENDANT L'EMBRYOGENÈSE CHEZ LA SOURIS

Age approximatif de l'embryon	8 j	8,5 j	10,5 j	17 j	adulte
Myf5	+	+	+	(+/-)	-
Myogénine	-	+	+	+	+/-
MyoD1	-	-	+	+	+/-
Myf6 (MRF4) (Herculine)	?	?	?	+	+

Summary

The muscle, where does it come from ?

In the embryo the three germ layers, ectoderm, endoderm and mesoderm are first established at gastrulation. Muscle is a mesodermal derivative. The formation of mesoderm during vertebrate embryogenesis is best understood in *Amphibia*, where it has been clearly demonstrated that mesoderm is induced as a result of an interaction between endoderm and ectoderm. In fact, a number of molecules, mainly growth factors, have been characterized which play a role in this phenomenon. Early molecular markers of mesoderm have also begun to be identified, including sequences characteristic of skeletal muscle, which are detected in *Xenopus* prior to the process of gastrulation. In higher vertebrates, this is not the case and markers of muscle first appear in somites. These are formed as a result of segmentation of the paraxial mesoderm, which becomes distinguishable from so-called lateral mesoderm during gastrulation. All the myotubes of skeletal muscle are derived from the somites or in the case of certain head muscles from lateral mesoderm. Other mesenchymal cells in the muscle come from lateral mesoderm. The description of which cells contribute where and when to skeletal muscle formation is based on experiments using avian (chick/quail) chimeras. The mature somite consists of three regions, the dermomyotome, myotome and sclerotome. It is cells from the dermomyotome which will migrate out of the different somites to provide the precursors for muscle masses elsewhere in the embryo. Cells in the part of the dermomyotome adjacent to the neural tube contribute to the myotome, which will become the first skeletal muscle formed during embryogenesis. Genes which code for the typical

structural proteins of muscle only begin to be expressed in higher vertebrates, such as the mouse, in the myotome and subsequently in nascent muscle masses in the limb bud and elsewhere. This process has been examined in detail by *in situ* hybridization, and shown to be relatively unsynchronous. α -actin and certain myosin light chain sequences appear well before the first myosin heavy chain transcripts, in the developing myotome. It is of particular interest to determine what happens to myogenic regulatory sequences of the *MyoD1* family. In fact the four known sequences have different temporal patterns of expression during myogenesis; only one of them, *myf5*, is detectable prior to myotome formation, in the dermomyotome. It is therefore a potential early marker of muscle precursor cells. The potential roles of the different myogenic factors in activating different series of muscle genes and/or in characterizing different muscle cell lineages remain open questions.

Remerciements

Nous tenons à remercier Gary Lyons pour ses conseils et pour la *figure 4*, et André Weydert pour de fructueuses discussions. Le laboratoire de Margaret Buckingham est subventionné par l'Institut Pasteur, le Cnrs, l'Inserm, l'Arc et l'AFM.

TIRÉS A PART

M. Buckingham.