

Un rôle essentiel des récepteurs de rétinoïdes X au cours du développement embryonnaire précoce et de la placentogenèse

Les récepteurs nucléaires de rétinoïdes X, RXR α , RXR β et RXR γ , qui se lient spécifiquement à l'acide rétinoïque 9-*cis*, sont des transrégulateurs transcriptionnels intervenant potentiellement dans plusieurs voies de signalisation. Dans des cellules cultivées *in vitro*, les RXR peuvent agir non seulement sous forme d'homodimères, mais aussi former des hétérodimères en s'associant à d'autres récepteurs nucléaires dont ceux des acides rétinoïques tout-*trans* (atAR) et 9-*cis* (9cAR) (RAR α , β et γ), des hormones thyroïdiennes (TR α et TR β), de la vitamine D3 (VDR), des proliférateurs de peroxisomes (PPAR α , β et γ), ainsi qu'avec des récepteurs orphelins (figure 1). Le 9cAR, qui active les homodimères RXR, pourrait ainsi activer d'autres voies de signalisation en se liant à des hétérodimères comportant des récepteurs nucléaires dif-

férents des RAR ([1], *m/s* 1999, n° 2, p. 225 ; *m/s* 1999, n° 1, p. 113 et *m/s* 1999, n° 1, p. 56). Si tel était le cas, les mutations nulles des RXR pourraient produire chez la souris des anomalies semblables, sinon identiques, à celles qui résultent de l'inactivation des RAR, mais aussi à celles engendrées par l'inactivation de leurs autres partenaires d'hétérodimérisation. En réalité, les fœtus RXR α ^{-/-} meurent *in utero* à 14,5 ± 2 jours de gestation (14,5 jours *post-coïtum* [jpc], l'équivalent de 2 mois de gestation chez la femme). Ils présentent des anomalies cardiaques et oculaires qui sont caractéristiques du syndrome de carence fœtale en vitamine A et sont également observées chez des mutants doublement nuls pour une paire d'isotypes RAR (doubles mutants RAR/RAR) (pour revue, voir [2, 3]). De plus, des doubles-

mutants associant à une mutation nulle de l'un des 3 isotypes de RAR (α , β ou γ), soit une mutation nulle de RXR α , soit une mutation de RXR α invalidant sa fonction de transactivation dépendante du 9cAR (mutation RXR α AF2°), reproduisent la majorité des anomalies congénitales observées chez les doubles-mutants RAR/RAR [4, 9]. A l'opposé, l'association d'une mutation nulle de RXR β ou de RXR γ est sans effet sur les anomalies du développement présentées par un mutant invalidé pour l'un des isotypes RAR (α , β ou γ) [4]. Ces observations ont permis de conclure que les hétérodimères RXR α :RAR (α , β et γ) sont, pour l'essentiel, les unités fonctionnelles transduisant le signal rétinoïde au cours de l'ontogenèse [2-4]. En effet, la double mutation RXR γ ^{-/-}/RXR α ^{-/-} n'a d'incidence ni sur la létalité fœtale, ni sur la pénétrance et la sévérité des anomalies congénitales de la mutation nulle pour RXR α . Par ailleurs, les mutants doublement nuls RXR β ^{-/-}/RXR γ ^{-/-} présentent des troubles locomoteurs également présents chez les mutants nuls pour RAR β et les doubles-mutants RXR β ^{-/-}/RAR β ^{-/-}, mais sont viables et morphologiquement normaux [5, 6]. Au contraire, nous avons récemment montré que les embryons RXR α ^{-/-}/RXR β ^{-/-} meurent très précocement entre 9,5 et 10,5 jpc (l'équivalent d'un mois de gestation chez la femme). Ils présentent des malformations sévères et une absence de la zone labyrinthique du placenta [7]. Les malformations précoces présentées par les embryons RXR α ^{-/-}/RXR β ^{-/-} correspondent à des arrêts bien définis du développement entre 8,5 et 9,5 jpc (figure 2) [7], ce qui permet de les dissocier sans ambiguïté des anomalies placentaires. En effet, l'agénésie complète du placenta est

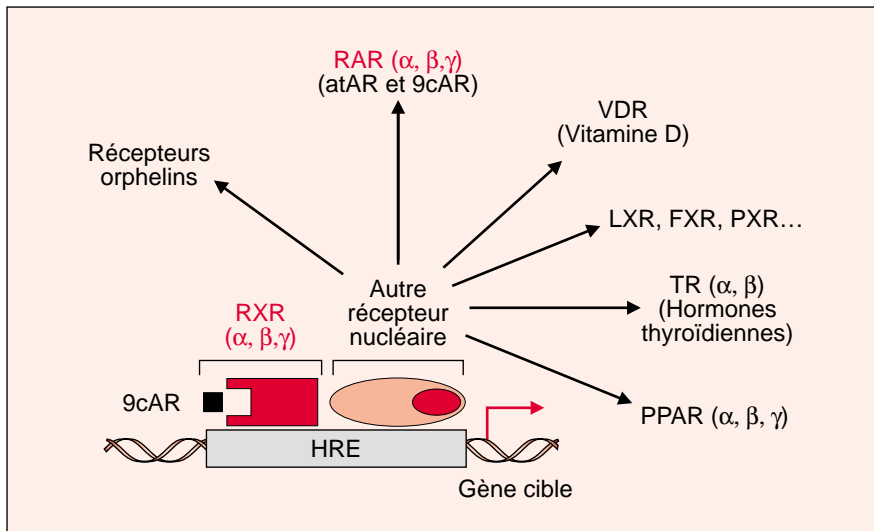


Figure 1. **Partenaires d'hétérodimérisation de RXR.** Les RXR, sous la forme d'homodimères ou d'hétérodimères avec d'autres récepteurs nucléaires, se fixent à des éléments spécifiques de régulation de la transcription (HRE ou hormone responsive element) localisés au voisinage des promoteurs de gènes cibles.

S
E
T
E
N
O
M

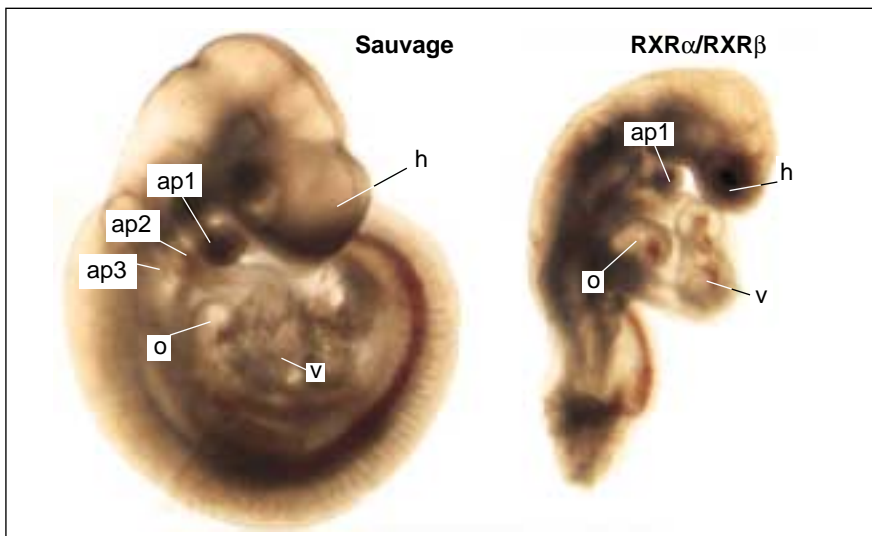


Figure 2. **Vues externes d'embryons sauvage (A) et doublement mutant ($RXR\alpha^{-/-}/RXR\beta^{-/-}$) (B) à 9,5 jpc.** Chez le mutant, noter l'arrêt de développement de la région caudale, des hémisphères cérébraux (h) et des arcs pharyngiens (ap) ainsi que la dilatation des cavités cardiaques (o et v). ap1, ap2, et ap3: premier, deuxième et troisième arcs pharyngiens ; o : oreillette ; v : ventricule (voir [7]).

parfaitement compatible avec un développement embryonnaire normal jusqu'à 10,5 jpc (références dans [7]). Ces malformations précoces n'ont pas été décrites dans le syndrome de carence fœtale en vitamine A, probablement parce que des états carenciels profonds sont incompatibles avec la gestation. En revanche, des malformations précoces semblables ont été

observées chez des embryons mutés n'exprimant plus la rétinaldéhyde déshydrogénase 2 (RALDH2) qui est essentielle à la synthèse de l'AR [8], et aussi chez des embryons doublement nuls $RAR\alpha^{-/-}/RAR\gamma^{-/-}$. Ainsi, les anomalies précoces présentées par les embryons $RXR\alpha^{-/-}/RXR\beta^{-/-}$ reflètent très probablement une altération de la voie de signalisation par les rétinoïdes.

Toutefois, les souris mutantes chez lesquelles les fonctions AF-2 de transactivation dépendante du ligand des RXR sont toutes abolies (souris $RXR\alpha$ AF2°/ $RXR\beta^{-/-}/RXR\gamma^{-/-}$) [9] ne présentent aucune des malformations précoces des mutants $RXR\alpha^{-/-}/RXR\beta^{-/-}$. Aussi est-il très probable que le signal AR, qui est essentiel pour ces événements précoces, soit transduit par des hétérodimères RAR/RXR (α , β et γ), et non pas par des homodimères RXR/RXR ou des hétérodimères associant des RXR et d'autres récepteurs nucléaires (voir plus haut).

La zone labyrinthique du placenta chorio-allantoïdien, qui représente le site principal des échanges foeto-maternels dès 10,5 jpc, est totalement absente chez les mutants $RXR\alpha^{-/-}/RXR\beta^{-/-}$ (figure 3) [7]. Cette absence est probablement la cause principale de la mort fœtale à 10,5 jpc. Cependant, l'AR ne semble pas requis pour la formation de cette zone labyrinthique, car les mutants $RXR\alpha^{-/-}/RAR\alpha^{-/-}$, $RXR\alpha^{-/-}/RAR\beta^{-/-}$, $RXR\alpha^{-/-}/RAR\gamma^{-/-}$ et $RXR\alpha$ AF2°/ $RXR\beta^{-/-}/RXR\gamma^{-/-}$ ne présentent que des défauts placentaires mineurs (références dans [7]). En revanche, le phénotype placentaire des mutants $RXR\alpha^{-/-}/RXR\beta^{-/-}$ ressemble beaucoup à celui des mutants nuls pour PPAR γ .

L'ensemble de ces études indique que les RXR, très probablement au sein

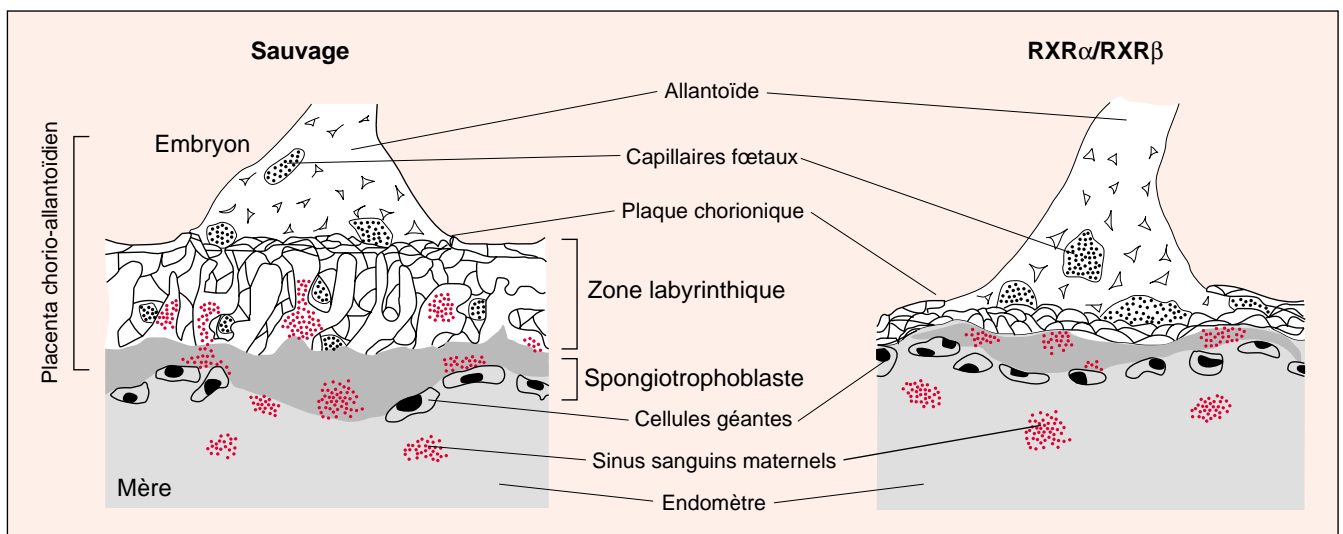


Figure 3. **Représentations schématiques de coupes histologiques à travers le placenta d'embryons sauvage et doublement mutant à 10,5 jpc.** Chez le mutant, l'allantoïde a pris contact avec la paroi utérine, comme c'est normalement le cas à 8,5 jpc, mais la plaque chorionique ne s'est pas différenciée en zone labyrinthique, le site normal des échanges entre les sangs maternel et fœtal (voir [7]).

d'hétérodimères RAR:RXR dans lesquels le signal hormonal AR est transduit par les RAR, sont indispensables au développement embryonnaire précoce avant même le début de la placentogenèse. Il apparaît également que les RXR jouent un rôle essentiel dans la formation du placenta chorio-allantoïdien, probablement par le biais d'une hétérodimérisation avec PPAR γ . Toutefois, ni pour l'embryogenèse précoce, ni pour la placentogenèse, la présence de la fonction AF-2 des RXR, et donc, en extrapolant, celle d'un ligand de RXR, ne semble requise. En conséquence, les RXR paraissent ici jouer un rôle essentiel en tant que partenaires d'hétérodimérisation silencieux (c'est-à-dire « non ligandés »), soit au sein d'hétérodimères RAR:RXR activés par l'AR (embryogenèse précoce), soit au sein d'hétérodimères PPAR γ :RXR transduisant un signal hormonal qui active PPAR γ (placentogenèse) et reste à déterminer.

**Olivia Wendling
Pierre Chambon
Manuel Mark**

IGBMC, Parc d'Innovation, BP 163, 1, rue Laurent-Fries, 67404 Illkirch Cedex, France.

Remerciements

Olivia Wendling, Pierre Chambon et Manuel Mark remercient le secrétariat pour la préparation de ce manuscrit. Nos travaux, réalisés à l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC) à Strasbourg, ont été financés par l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), le Centre National de la Recherche Scientifique (Cnrs), les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), le Collège de France, l'Association pour la Recherche sur le Cancer, la Fondation pour la Recherche Médicale, le *Human Frontiers Science Program*, et Bristol-Myers Squibb.

1. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996; 10: 940-54.
2. Kastner P, Mark M, Chambon P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? *Cell* 1995; 83: 859-69.
3. Mark M, Chambon P. Récepteurs de l'acide rétinoïque et morphogenèse. *Ann Institut Pasteur* 1997; 8: 85-95.
4. Kastner P, Mark M, Ghyselinck N, Krezel W, Dupé V, Grondona JM, Chambon P. Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development. *Development* 1997; 124: 313-26.
5. Krezel W, Dupé V, Mark M, Dierich A, Kastner P, Chambon P. RXR γ null mice are apparently normal and compound RXR α ^{-/-}/RXR β ^{-/-}/RXR γ ^{-/-} mutant mice are viable. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9010-4.
6. Krezel W, Ghyselinck NB, Samad TA, Dupé V, Kastner P, Borrelli E, Chambon P. Impaired locomotion and dopamine signaling in retinoid receptor mutant mice. *Science* 1998; 279: 863-7.
7. Wendling O, Chambon P, Mark M. RXRs are essential for early mouse development and placentogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 547-51.
8. Niederreither K, Subbarayan V, Dollé P, Chambon P. Embryonic retinoic acid produced by RALDH-2 is essential for mouse early post-implantation development. *Nat Genet* 1999; 21: 444-8.
9. Mascres B, Mark M, Dierich A, Ghyselinck NB, Kastner P, Chambon P. The RXR α ligand-dependent activation function 2 (AF-2) is important for mouse development. *Development* 1998; 125: 4691-707.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ Piwi... gène de l'immortalité ?

Les cellules souches, capables de s'autorenouveler et d'engendrer des cellules filles s'engageant dans des voies de différenciation spécifiques, assurent la croissance et la régénération de tissus variés. Le contrôle de leurs divisions pourrait être en partie assuré par des facteurs extrinsèques de nature encore inconnue, produits par les cellules des micro-environnements spécifiques locaux. La caractérisation de telles molécules s'avère donc essentielle à la maîtrise des cultures de cellules souches *in vitro*, puis à une éventuelle application ultérieure *in vivo*. Un pas dans cette direction vient d'être franchi par la caractérisation du gène *piwi* (*P-element induced wimpy testis*) chez la drosophile [1]. *Piwi* fait partie d'une nouvelle classe de gènes conservés chez les organismes multicellulaires et impliqués dans la perpétuation de cellules pluripotentes [2]. Bien que dépourvu de domaines connus, le produit du gène *piwi* possède une forte identité avec de nouvelles protéines isolées par

homologie chez le nématode (40 % environ pour *prg1* et *prg2*) et chez l'homme (47 % pour le produit *hiwi*). La conservation étonnante du domaine carboxy-terminal, et en particulier d'une séquence basique de 43 acides aminés définissant la boîte *piwi*, a permis d'identifier une famille de 22 protéines (dont 13 isolées chez *C. elegans*). Cette famille protéique est absente chez les organismes unicellulaires, et donc potentiellement impliquée dans des processus de communication intercellulaire. Chez la drosophile, *piwi* est nécessaire au maintien des cellules souches germinales (CSG) mâles et femelles. Dans l'ovaire, *Piwi* est transcrit dans les cellules somatiques et germinales et son absence conduit à un épuisement de la population de CSG qui se différencient sans s'autorenouveler [1]. Cet autorenouvellement des CSG dépend de l'expression de *piwi* par des cellules somatiques quiescentes, les cellules du filament terminal, directement en contact avec les CSG. *Piwi* agirait donc comme un signal para-

crine sur la prolifération des cellules souches. Deux homologues clonés chez *C. elegans*, *prg1* et *prg2*, s'avèrent également essentiels au processus de renouvellement des CSG sans que l'on sache si *prg1* et *prg2* interviennent, comme *piwi*, de façon indirecte par le biais d'interactions cellulaires. Plus remarquable encore, deux protéines de cette nouvelle famille, produits des gènes *Argonaute* (*Ago-1*) [3] et *Zwille* (*Zll*) [4] contrôlent le nombre et/ou la fonction des cellules pluripotentes méristématiques chez *Arabidopsis thaliana*. L'enjeu est maintenant de caractériser la fonction de ces protéines très conservées y compris chez les mammifères puisque certains gènes homologues ont été clonés.

- [1. Lin H, et al. *Development* 1997; 124: 2463-76.]
- [2. Cox DN, et al. *Genes Dev* 1998; 12: 3715-27.]
- [3. Moussian B, et al. *EMBO J* 1998; 17: 1799-809.]
- [4. Bohmert K, et al. *EMBO J* 1998; 17: 170-80.]