



La morphogenèse du système nerveux chez les vertébrés

► Durant la gastrulation, la différenciation neurale débute dans la partie dorsale de l'ectoderme sous l'action de signaux inhibiteurs tels que *noggin*, *chordin*, *follistatin*, *Xnr3* et *cerberus*. Ces signaux, qui proviennent du centre organisateur de Spemann, permettent l'engagement d'une partie de l'ectoderme dans la voie de différenciation neurale en inhibant les facteurs de croissance de type BMP/GDF. L'engagement dans la voie neurale est accompagné d'une différenciation plus spécifique selon les trois axes de l'embryon : (1) dans l'axe dorso-ventral, celle des cellules ventrales du tube neural intervient par l'intermédiaire d'une cascade moléculaire amorcée par SHH et de facteurs de transcription tel que HNF3 β ; celle des cellules dorsales semble être sous le contrôle de signaux du type BMP et Wnt, et de facteurs de transcription tel que *Msx* et *Pax* ; (2) la différenciation dans l'axe antéro-postérieur semble être sous l'influence de plusieurs signaux, FGF, Wnt et l'acide rétinoïque, et de facteurs de transcription de la famille *Hox*, qui divise le tube neural en différents territoires moléculaires ; (3) le facteur *lefty*, enfin, est responsable des différences droite-gauche du tube neural. ◀

Chez tous les vertébrés, la première manifestation morphologique du système nerveux embryonnaire est observée pendant la neurulation, au cours de laquelle un épaissement de l'ectoderme dans la partie dorsale de l'embryon délimite la future plaque neurale dont est dérivé l'ensemble du système nerveux. Les signaux responsables de l'induction neurale sont déjà produits lors de la gastrulation. La plaque neurale, sous l'influence de mouvements morphogénétiques, se referme sur elle-même pour créer le tube neural. Une fois les neurones primaires déterminés, ils établissent des projections axonales vers des cibles spécifiques. L'ensemble de ces événements donne finalement naissance à un système nerveux mature et fonctionnel. Dans cette revue, je décrirai les bases moléculaires de l'induction neurale, la neurogenèse, ainsi que les aspects moléculaires et cellulaires de l'élaboration des axes antéro-postérieur (A-P) et dorso-ventral (D-V), et de l'organisation droite-gauche (D-G) du système nerveux. Je m'intéresserai en particulier à la partie caudale du système nerveux pour laquelle l'information moléculaire est la plus détaillée. Par manque d'espace, je ne discuterai

Ali Hemmati-Brivanlou

A. Hemmati-Brivanlou : The Rockefeller University, 1230 York Avenue, Box 32, New York, NY 10021-6399, Etats-Unis.

TIRÉS À PART

A. Hemmati-Brivanlou.

ni les modes de formation du cerveau ni l'aspect moléculaire du guidage des axones. Un grand nombre de revues de qualité couvrant ces sujets ont été publiées récemment et j'encourage les lecteurs intéressés à les consulter [1-5].

L'induction neurale et la formation des premiers neurones embryonnaires

Durant la gastrulation, les cellules situées dans la partie dorsale de l'ectoderme reçoivent des signaux neuralisants sécrétés par un centre organisateur dorsal, que l'on nomme l'organisateur de Spemann [3, 6]. Parmi ces signaux, on trouve *noggin*, *chordin*, *Xnr3*, *follistatin* et *cerberus*, qui partagent la propriété de pouvoir inhiber directement l'action de ligands de la famille des BMP/GDF (de la superfamille des TGF- β). Ces ligands BMP/GDF induisent la différenciation de l'ectoderme en épiderme en l'absence de signaux neuralisants. Les facteurs neuralisants révèlent la destinée neurale des cellules de l'ectoderme dorsal, cette destinée constituant une voie par défaut. Dans l'ectoderme ventral, dans lequel les signaux BMP/GDF échappent à l'inhi-

bition des signaux neuralisants, un devenir épidermique est imposé (figure 1). Par conséquent, alors que l'induction de l'épiderme implique clairement un signal inductif (en termes moléculaires, un signal qui active une cascade de transduction), on peut considérer que la genèse de l'ectoderme nerveux est permissive (inhibition d'un signal extérieur à la cellule, qui n'implique pas directement l'activation d'une cascade de signalisation). Ce mécanisme moléculaire de la formation du système nerveux embryonnaire a été appelé « modèle de la neurogenèse par défaut ».

Outre les signaux qui proviennent de l'organisateur, la cascade des signaux déclenchés par BMP/GDF peut aussi être inhibée de façon intrinsèque dans les cellules par des inhibiteurs de transduction tels que Smad6 [7] et Smad7 [8] (figure 2). Bien que la conséquence de cette inhibition soit toujours la genèse des neurones, le mécanisme est différent: dans le premier cas l'inhibition est non autonome, alors que dans le deuxième

elle s'effectue d'une manière autonome. Il est cependant important de rappeler que, même si le modèle « par défaut » s'appuie sur de nombreuses données expérimentales et qu'il est généralement accepté dans le système amphibien, il est toujours contesté chez les amniotes [9].

A la suite de cette différenciation, une partie du neuroectoderme s'engage dans la production des neurones différenciés du système nerveux primaire dans la région dorsale de l'ectoderme. Malgré les progrès récents, la cascade moléculaire qui intervient entre les antagonistes de BMP/GDF et la détermination d'un neurone différencié n'est pas élucidée. Deux facteurs de transcription SoxD et Xngnr1 ont toutefois été impliqués dans cette étape. L'expression de SoxD est inhibée par BMPs/GDF et est donc induite par les inhibiteurs qui proviennent de l'organisateur de Spemann. SoxD induit à son tour l'expression de Xngnr1 pour donner naissance à un neurone mature [10, 11] (figure 2).

D'une façon concomitante avec l'induction neurale et les mouvements morphogénétiques qui entraînent la formation d'un tube neural à partir de la plaque, la différenciation du système nerveux embryonnaire provoque l'apparition des types cellulaires multiples qui créeront éventuellement l'ensemble du répertoire cellulaire nécessaire à sa fonction (figure 3).

Différenciation neurale le long de l'axe dorso-ventral

Les différences qui existent entre les parties dorsale, latérale et ventrale de la moelle épinière embryonnaire se manifestent par la présence de différents types cellulaires (figures 3 et 4).

Détermination du devenir cellulaire ventral

Des expériences, réalisées sur des embryons de poulet ainsi que chez des amphibiens, ont montré que la notochorde (ou mésoderme axial) est la source de signaux impliqués dans la détermination du plancher du tube neural puis dans la formation des motoneurons et des interneurons ventraux. Sonic hedgehog (SHH), un membre de la famille de molécules de

signalisation Hedgehog, est exprimé dans la notochorde (figures 3 et 4). Des expériences de perte et de gain de fonction suggéraient que SHH était à la fois nécessaire et suffisant pour l'induction du plancher du tube [4]. Bien que la nécessité de SHH dans l'établissement des destinées ventrales ait été démontrée lors d'études fondées sur des manipulations de son gène chez la souris, il n'est plus certain, depuis des expériences récentes, que ce facteur soit suffisant. La souris homozygote nulle pour le gène *noggin* (*nog^{-/-}*) a un patron d'expression de SHH qui semble normal et, cependant, les neurones moteurs sont absents. L'inhibition des ligands BMP/GDF par Noggin est donc aussi nécessaire à la formation correcte des cellules de type ventral en présence d'une voie de signalisation SHH normale [12]. Il est également important de souligner que la population d'interneurones ventraux ne dépend pas toute entière du signal SHH. Par exemple, le groupe d'interneurones Lim-2⁺ peut se former dans des embryons sans notochorde, et cela est peut-être induit par une signalisation impliquant l'acide rétinolique.

SHH peut aussi agir, à forte concentration, comme morphogène pour le plancher du tube et, à des concentrations plus faibles, pour des motoneurons. Il est intéressant de noter que l'induction du plancher par la notochorde dépend du contact direct entre les deux tissus alors que celle des motoneurons ne nécessite pas de contact. Comme SHH existe à la fois sous une forme membranaire et sous une forme sécrétée (dans laquelle la partie amino-terminale a été clivée) [13, 14], il a été suggéré que la forme membranaire serait impliquée dans l'induction du plancher du tube alors que la forme soluble serait responsable de la détermination des motoneurons [15].

Par l'intermédiaire d'une cascade de transduction du signal (figure 2), qui a été identifiée grâce à des approches génétiques et biochimiques, SHH induit ou réprime l'expression d'une autre série de facteurs de transcription via le facteur de transcription Gli [16]. Dans le tube neural, le signal SHH réprime aussi l'expression de *Pax3* et de *Pax7* (membres de la famille des protéines à homéodomaine de type *paired*) ainsi que de *Msx1* et *Msx2* (de

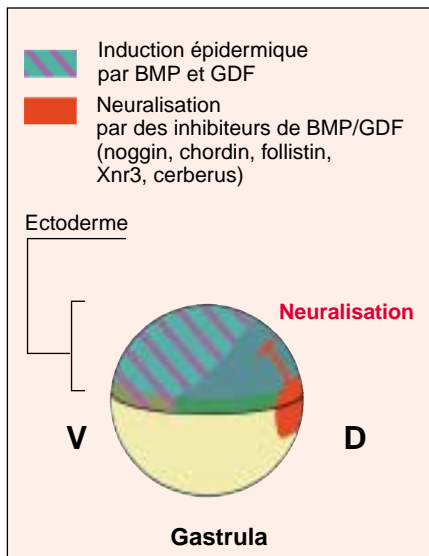


Figure 1. **Différenciation de l'ectoderme au cours de la gastrulation chez le xénope.** Durant la gastrulation, des facteurs inhibiteurs tels que *noggin*, *chordin*, *follistatin*, *Xnr3* et *cerberus*, provenant de l'organisateur de Spemann (cercle rouge), neuralisent l'ectoderme dorsal (D) en inhibant la voie de signalisation de BMP/GDF. Ventralement (V), dans la région dans laquelle la voie de signalisation par BMP/GDF n'est pas inhibée, la destinée épidermique s'impose.

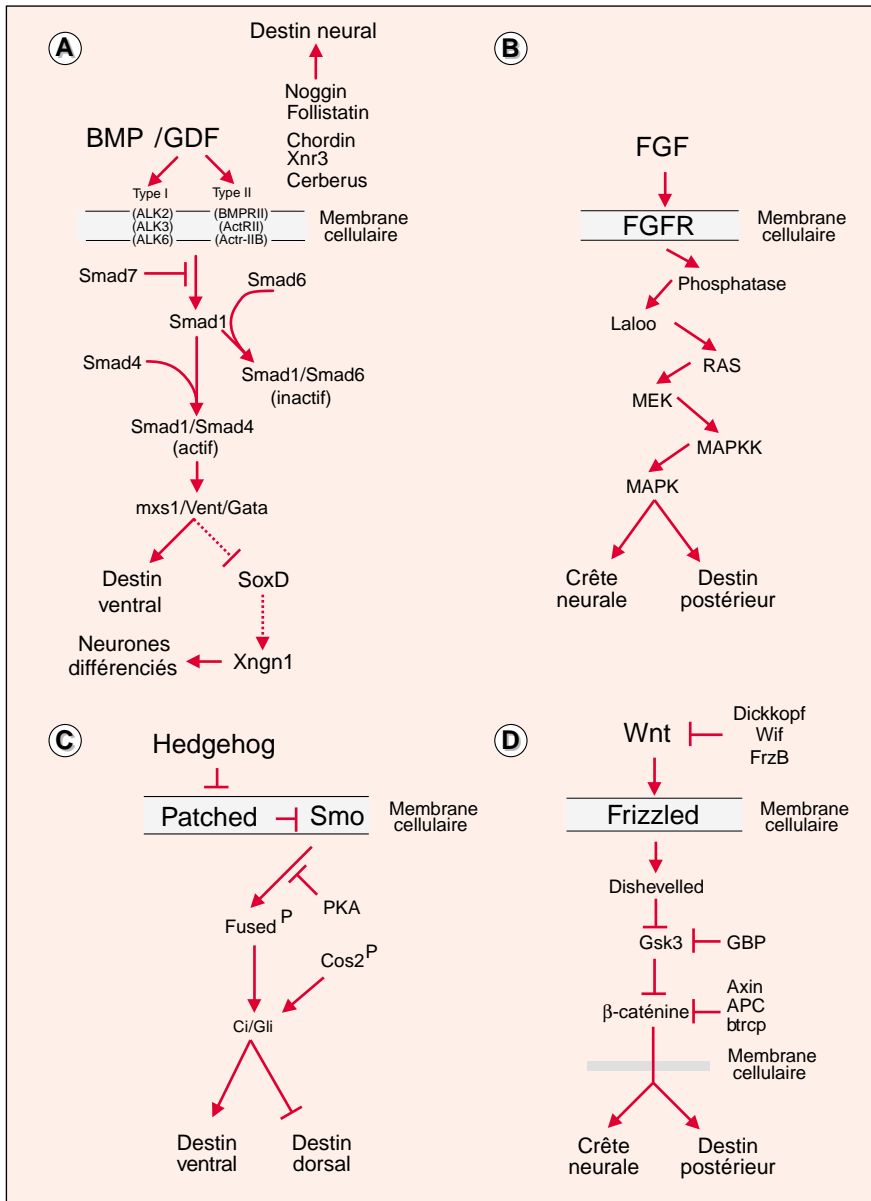


Figure 2. Cascades moléculaires impliquées dans la différenciation de l'ectoderme. **A. La voie de signalisation BMP/GDF.** Chez le xénope, l'induction de l'épiderme commence dans les cellules de l'ectoderme ventral, par l'association de ligands de type BMP ou GDF à leurs récepteurs de type I (ALK2, ALK3 et ALK6) et de type II (BMPRII, ActRII, et ActRIIB). Cette association entraîne la phosphorylation et l'activation du récepteur de type I, qui à son tour phosphoryle et active Smad1. L'activation de Smad1 conduit à la formation d'un complexe Smad1/Smad4, qui migre vers le noyau où il induit l'expression de plusieurs facteurs de transcription. Parmi ceux-ci se trouvent notamment *Msx1*, *Gata1* et les membres de la famille Vent. Ces facteurs, à leur tour, activent les gènes impliqués dans le programme de différenciation de l'épiderme et inhibent des gènes impliqués dans la différenciation neurale. La neuralisation de l'ectoderme dorsal est le résultat de l'action d'antagonistes extracellulaires de BMP et GDF, tels que *noggin*, *follistatin*, *chordin*, *Xnr3* et *cerberus*, qui sont sécrétés par l'organisateur de Spemann. *Smad6* et *Smad7*, des anti-Smads, favorisent également la différenciation vers la voie neurale en inhibant l'action de BMP/GDF à l'intérieur des cellules. Ces antagonistes fonctionneraient en déréprimant l'expression de facteurs tels que *SoxD*, par l'intermédiaire de *Msx1*, *Gata1* et Vent. Selon ce modèle, *SoxD*, en collaboration avec d'autres facteurs, serait en charge d'amorcer l'établissement d'un domaine neural dans l'ectoderme dorsal à la fin de la gastrulation. Ces domaines se différencieront pour donner naissance aux neurones du système nerveux primaire en utilisant *Xngn1* [58]. **B. La voie de signalisation FGF/MAP-kinase.** La fixation des ligands FGF sur leurs récepteurs induit la dimérisation de ces récepteurs qui, via l'action d'une phosphatase et du facteur *laloo*, phosphorylent le transducteur de signal *ras*. *Ras*, à son tour, induirait l'activation de *raf* et des MAP-kinases qui, finalement, induisent la destinée neurale postérieure ainsi que les crêtes neurales [59]. **C. La cascade SHH.** Les ligands *hedgehog* s'attachent et inhibent la signalisation du récepteur *patched* au niveau de la membrane cellulaire [60]. Cette association déréprime les récepteurs *Smoothed/Frizzled* (*Smo*/*Frz*). Cette dérépression aboutit, par un mécanisme inconnu, à l'activation de *Fused* (*Fu*) et de la protéine *Costal-2* (*Cos-2*) dans le cytoplasme. Ces événements affectent le facteur de transcription *Cubitus interruptus* (*Ci*) et *Gli*. Ces facteurs inhiberont à leur tour les gènes dorsaux et activeront les gènes ventraux. **D. La voie de signalisation Wnt.** Les ligands *Wnt* (appelés *Xwnt* chez le xénope) interagissent avec le récepteur *Frizzled* qui lui-même active *dishevel* (*dsh*). *Dsh* inhibe *GSK* qui, à son tour, inhibe le *β-caténine* (*βCAT*). *βCAT* migre dans le noyau et active la transcription de *Siamois* via le facteur nucléaire *Xtcf*. *Gsk* et *βCAT* reçoivent aussi des signaux positifs de deux autres protéines, *Axin* et *APC*. Les ligands *Wnt* ont été impliqués dans la différenciation des destinées dorsale et postérieure dans le système nerveux embryonnaire des vertébrés [61].

la famille des protéines à homéodomaine de type msh). La signalisation par SHH provoque aussi l'augmentation de l'expression de protéines à

homéodomaine de type NK-2. En réglant spécifiquement l'expression de gènes situés en aval, ces facteurs de transcription agissent alors seuls pour

imposer et maintenir le devenir dicté par SHH [17].

Des gènes comme *HNF3-β* sont aussi nécessaires à la formation de la noto-

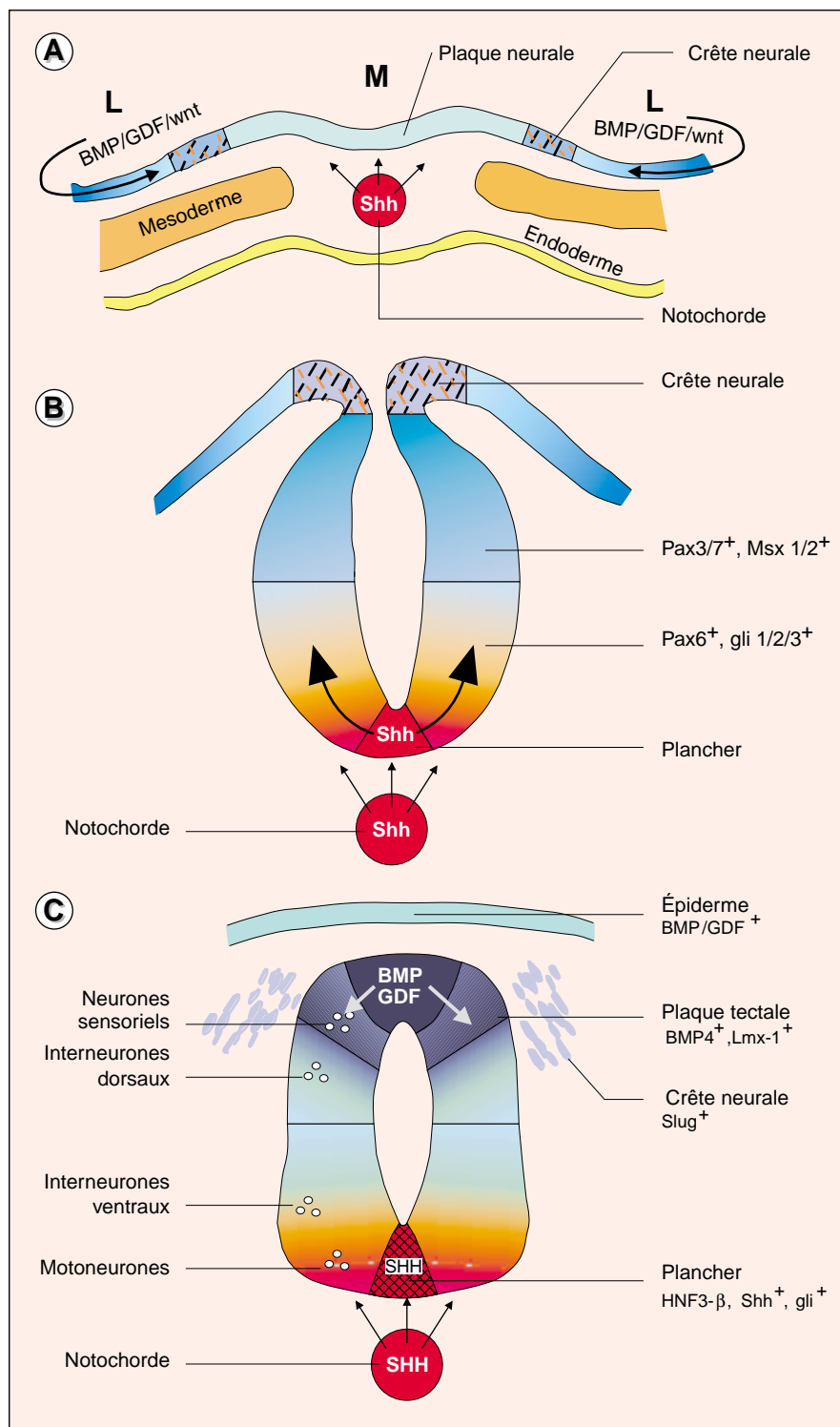


Figure 3. **Morphogenèse du système nerveux.** La plaque neurale (A), une fois induite, subit des mouvements morphogénétiques, qui créent la gouttière neurale (B) par un relèvement de ses bords latéraux. Finalement, les bords de la plaque se rejoignent et elle se ferme dorsalement pour former le tube neural (C). Plus tard, ce tube se différencie pour créer des profils de types cellulaires suivant les trois axes, formant ainsi le cerveau dans la partie antérieure et la moelle épinière dans la partie postérieure. Sur l'axe dorso-ventral, le type cellulaire le plus ventral est le plancher du tube. Immédiatement au-dessus se situent les motoneurons. La partie la plus dorsale du tube neural forme la plaque tectale qui est flanquée d'une population de neurones sensoriels. Encore plus latéralement, on trouve des groupes d'interneurones dorsaux. La partie dorsale du tube neural est aussi le lieu où se forme la crête neurale, qui migre en suivant la fermeture du tube neural. Ces cellules sont à l'origine totipotentes et se différencient par la suite en une large gamme de types cellulaires. Au niveau caudal du tube neural, ces populations de la crête neurale contribuent à différentes structures du tronc, alors que les cellules les plus rostrales participent à des structures céphaliques, parmi lesquelles le squelette. Les zones intermédiaires, entre les régions dorsale et ventrale du tube neural, sont peuplées par différents types d'interneurones. L'établissement du devenir cellulaire le long de l'axe médio (M)-latéral (L) au stade plaque neurale (A), qui devient l'axe dorso-ventral après le stade tube neural, implique l'action concertée de deux forces opposées. La première, relayée par SHH, vient de la notochorde, supprime le devenir dorsal et induit les cellules ventrales. La seconde, relayée par les facteurs BMP, GDF et Wnt, s'exerce depuis la frontière médio-latérale entre l'ectoderme neural et non neural au stade plaque neurale, puis depuis la plaque tectale elle-même. Ces signaux suppriment les devenirs cellulaires ventraux et imposent un devenir dorsal. L'action dorsalisante des signaux BMP/GDF, combinée à la signalisation SHH ventralisante, conduit à l'expression de Pax7, Pax3, Msx1 et Msx2 dorsalement et de Pax6 et Gli 1, 2, 3 ventralement.

traux et imposent un devenir dorsal. L'action dorsalisante des signaux BMP/GDF, combinée à la signalisation SHH ventralisante, conduit à l'expression de Pax7, Pax3, Msx1 et Msx2 dorsalement et de Pax6 et Gli 1, 2, 3 ventralement.

chorde et du plancher neural, puisque ces tissus ne se forment pas chez les souris qui possèdent des allèles nuls de *HNF3-β* [17, 18]. L'absence de plancher neural chez

ces mutants est attribuée à l'absence de notochorde et donc à l'absence de signalisation par SHH. Des expériences de gain de fonction réalisées sur des embryons de xénope ont

démonstré que *HNF3-β* (appelé aussi *pintallavis* [19]) induit la formation de planchers neuraux ectopiques. Un autre facteur de transcription, *Isl-1*, est nécessaire à la formation des

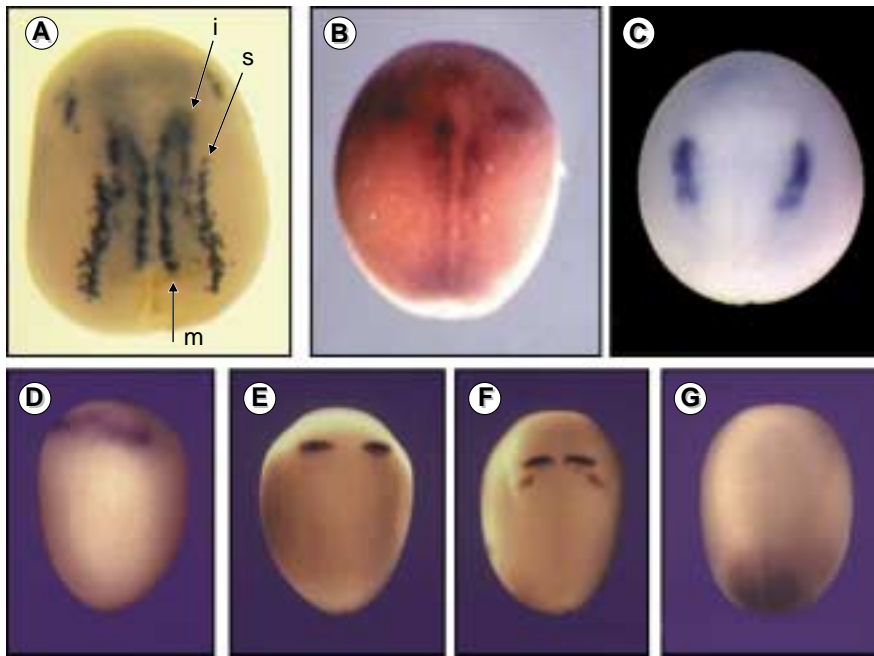


Figure 4. Différenciation le long des axes dorso-ventral et antéro-postérieur chez le xénope. La différenciation le long de ces deux axes a déjà commencé au stade plaque/gouttière neurale bien que, morphologiquement, les cellules ne soient pas distinctes. La différenciation selon l'axe médio-latéral (A, B et C), qui deviendra plus tard l'axe dorso-ventral quand le tube neural sera formé, peut être visualisée grâce à des marqueurs moléculaires lors d'expériences d'hybridation in situ. **A.** L'expression de la β -tubuline marque les neurones mûrs dans la plaque neurale. **B.** L'expression de la nétrine marque la ligne médiane ventrale, qui deviendra le plancher du tube neural. **C.** Twist est un marqueur moléculaire d'une sous-population de la crête neurale. La différenciation le long de l'axe antéro-postérieur peut aussi être suivie par l'expression de marqueurs moléculaires. De la zone antérieure jusqu'à la partie la plus postérieure, l'expression des gènes OtxA (D), En-2 (E), Krox20 (F), et enfin HoxB9 (G) partagent la plaque neurale en territoires distincts. m : motoneurones ; i : interneurones ; s : neurones sensoriels.

motoneurones et d'une sous-population d'interneurones ventraux (qui expriment spécifiquement le marqueur *En1*) [20]. Chez tous les vertébrés, *Isl-1* est exprimé spécifiquement dans les motoneurones [21]. Chez la souris et le poulet, l'élimination du gène *Isl-1* conduit à des embryons complètement dépourvus de motoneurones. Une population d'interneurones ventraux (qui sont aussi *En1*⁺) est aussi absente dans les embryons de souris mutantes pour *Isl-1*. Cela suggère que la formation des interneurones *En1*⁺ dépend de la présence des motoneurones, et souligne l'importance d'une cascade d'interactions inductives qui est amorcée dans la notochorde. Dans ces embryons, la notochorde et le plancher neural se développent apparemment de façon normale, ce qui suggère que l'absence

des types cellulaires ventraux n'est pas une conséquence indirecte d'une perturbation de la différenciation de la ligne médiane (figure 3).

Détermination du devenir cellulaire dorsal

Les devenirs cellulaires de la région dorsale sont établis indépendamment des signaux qui proviennent du mésoderme axial (figures 3 et 4). Si la notochorde est éliminée, ou si les signaux en provenance de la notochorde sont bloqués, les cellules du tube neural adoptent un devenir dorsal [22, 23]. Cette modification du devenir cellulaire peut être suivie en étudiant le comportement de deux marqueurs des types cellulaires dorsaux, *Msx-1* et *Pax-3* (figure 3) [24, 25]. Alors que, dans l'embryon de

type sauvage, ces gènes marquent des types cellulaires dorsaux du tube neural, dans les embryons dans lesquels les signaux de la notochorde sont absents, ces marqueurs sont exprimés suivant tout l'axe dorso-ventral de la moelle, ce qui suggère que toutes les cellules ont adopté le devenir dorsal. Des signaux qui, au début de la neurulation, viennent de l'épiderme (immédiatement adjacent à la plaque neurale, figure 3), peuvent induire la différenciation des cellules de la crête neurale (figure 3) [16, 25-29]. Trois types de molécules de signalisation ont été impliqués dans ce processus.

1. BMP4, 5 et 7 ainsi que dorsalin-1 (un autre membre de la famille de TGF- β) sont capables d'induire le toit du tube neural ainsi que la crête neurale dans l'embryon de poulet [25, 27, 30]. Ces données moléculaires sont en accord avec les résultats des études embryologiques dans lesquelles des pièces d'ectoderme non neural (épiderme) sont greffées dans la plaque neurale, et des pièces de plaque neurale greffées dans un environnement épidermique. Dans les deux cas, les cellules de la crête neurale sont formées à la limite entre les deux tissus, ce qui suggère que les signaux induisant la détermination de la crête neurale proviennent d'interactions à la frontière de ces deux tissus [31].

Plus tard, pendant la fermeture du tube neural, les signaux BMP de la plaque tectale induisent aussi les interneurones dorsaux [30]. Puisque BMP peut induire différents types cellulaires à partir d'une source de signaux unique, il a été suggéré que ce facteur agirait aussi comme un morphogène. La démonstration de l'action morphogénétique de BMP4, réalisée dans l'embryon de xénope, est venue appuyer cette hypothèse [32]. Les BMP (comme d'autres membres de la famille des TGF- β) peuvent exister sous des formes hétérodimériques [33, 34], et ces hétérodimères provoqueraient des réponses quantitativement et qualitativement différentes de celles induites par leurs homologues homodimériques. Ainsi, différents devenirs cellulaires peuvent être dus non seulement à un effet morphogène mais aussi à la formation d'hétérodimères différents et aux changements d'activité associés.

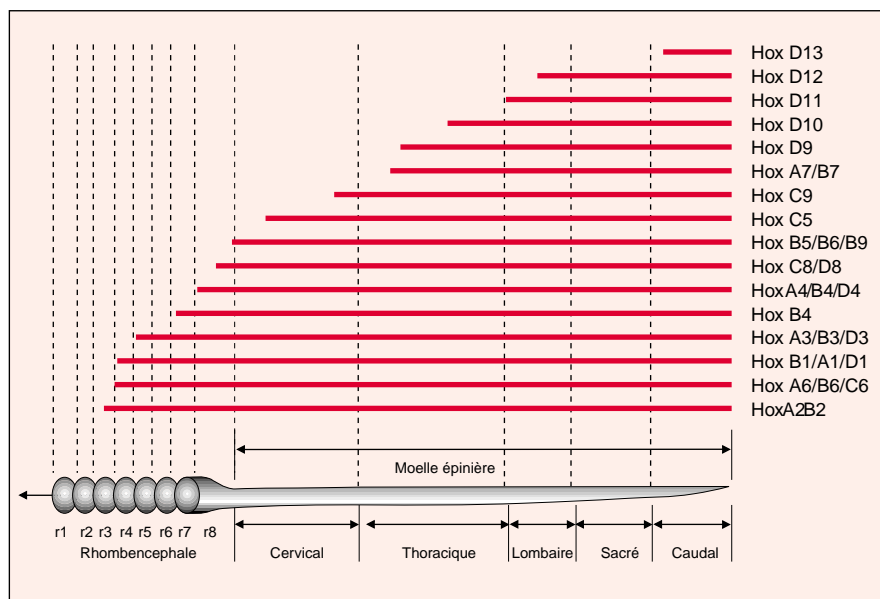


Figure 5. **Sous-division du tube neural par le code Hox.** L'expression des gènes de la famille Hox est montrée au-dessus du diagramme décrivant la partie caudale du tube nerveux. Bien qu'ayant tous la même limite d'expression caudale, leur expression dans la partie antérieure n'est pas restrictive. Cela divise la partie caudale du tube nerveux en territoires, dont chacun est doté d'une combinaison de protéines Hox unique. r1 à r8 représentent les 8 rhombomères de la rhombencéphale [61].

Enfin, puisque les moments précis auxquels les types cellulaires sont déterminés sont différents (la plaque tectale est déterminée la première, puis les interneurons), une modification des compétences de réponse cellulaire aux signaux inductifs en fonction du temps permettrait la formation de ces trois types cellulaires. Des expériences réalisées sur des explants nerveux d'âges différents, qui montrent que BMP induit différents types cellulaires en fonction du moment où on l'applique dans le développement appuient cette hypothèse.

2. Le second type de signal impliqué dans la détermination de la crête neurale implique des facteurs de signalisation de la famille de Wnt (figure 2). Les facteurs Wnt participeraient à la détermination et à l'expansion du devenir cellulaire dorsal. Dans les explants ectodermiques, la co-expression de *Wnt1*, *Wnt3a* [35, 36] ou *Wnt7b* [37] avec des inducteurs nerveux induit la crête neurale. Cette induction peut intervenir en l'absence de division cellulaire, ce qui indique que ces facteurs Wnt (ou d'autres membres de la famille de Wnt) spécifieraient les cellules dorsales directement, et non pas simplement en sti-

mulant la survie ou la multiplication de ces cellules. *Wnt7b*, *Wnt1* et *Wnt3a* sont exprimés sur la ligne médiane dorsale du tube neural. La façon dont BMP et Wnt pourraient interagir dans l'élaboration des profils du tube neural dorsal n'est pas encore comprise. Il est possible que ces deux signaux agissent en synergie pour déterminer la succession temporelle des événements et/ou les compétences spatiales des cellules cibles. Alternativement, une de ces deux voies de signalisation pourrait agir en aval de l'autre pour déterminer le devenir des cellules du système nerveux dorsal.

3. Enfin, FGF est aussi impliqué dans la spécification des cellules de la crête neurale (figure 2). Un récepteur aux FGF tronqué bloque l'expression de *Slug*, un marqueur de la crête neural, sans affecter le marqueur pan-neural *Sox-2*, tandis que la co-expression de l'inducteur neural *noggin* et de *FGF* stimule la transcription de *Slug* [38]. Comme pour la détermination du devenir cellulaire dans l'aspect ventral, un grand nombre de facteurs de transcription ont des rôles directs dans l'induction ou le maintien des devenir cellulaires dorsaux. Parmi ceux-

ci, *Msx1* et *Msx2* (figure 3), exprimés dans la région dorsale du tube neural [39], répondent de façon précoce aux signalisations BMP [40] ou Wnt. Des invalidations des gènes *msx1* et *msx2* [41] chez la souris conduisent à des animaux présentant des défauts dans la partie faciale du crâne, qui pourraient être dus à la disparition des dérivés crâniens de la crête neurale. L'élimination des gènes *Pax3* et *Pax7* [42, 43] aussi exprimés dorsalement (figure 3), conduit à une réduction sévère de la formation de la crête neurale, ce qui est cohérent avec un rôle déterminant de ces gènes dans l'établissement du devenir dorsal.

Établissement des motifs antéro-postérieurs

La différenciation sur l'axe antéro-postérieur commence déjà au stade de la plaque neurale et se manifeste d'abord par des frontières strictes d'expression de certains gènes, ainsi que plus tard par la distribution de différents types cellulaires (figure 4). Des expériences classiques d'embryologie, réalisées sur des embryons d'amphibiens, suggèrent que l'organisateur de Spemann est aussi une source de signaux pour l'établissement des motifs antéro-postérieurs du tube neural. Quand des explants ectodermiques sont couplés à l'organisateur *in vitro*, du tissu nerveux est induit dans l'ectoderme, et il est organisé suivant l'axe antéro-postérieur. Cela n'est pas uniquement révélé par des critères histologiques, mais aussi par l'expression de marqueurs moléculaires qui délimitent différentes zones le long de l'axe antéro-postérieur. De façon intéressante, les organisateurs issus d'embryons au stade gastrula précoce induisent une gamme quasi complète de marqueurs antérieurs et postérieurs, tandis que des organisateurs provenant de gastrulas plus tardives induisent progressivement des marqueurs nerveux plus postérieurs. Deux modèles ont été proposés pour expliquer ces observations [44-46]. Dans le premier, proposé par Mangold, différents signaux neuralisants séparés dans le temps (organisateur précoce contre organisateur tardif) induisent séparément le devenir cellulaire le long de l'axe antéro-postérieur. Dans ce modèle, l'organisateur

précoce possède tous les signaux et l'organisateur tardif a perdu les signaux spécifiques de la partie antérieure. Dans le deuxième modèle, ou modèle de Nieuwkoop, deux types de signaux existent aussi, qui induiraient et détermineraient les motifs neuraux le long de l'axe antéro-postérieur. Les premiers signaux neuralisants provoqueraient l'adoption d'un devenir neural par l'ectoderme, et imposeraient en même temps le devenir le plus antérieur (télencéphalique). Cette étape est nommée activation. Le second signal n'aurait pas d'activité neuralisante, mais agirait sur le premier signal pour ajouter les devenirs les plus postérieurs (mésencéphale, rhombencéphale et moelle épinière). Cette seconde étape est nommée transformation. Bien qu'il existe quelques exceptions, une grande majorité des données moléculaires semblent supporter le modèle de Nieuwkoop. Parmi eux on peut noter que le tissu neural induit par toutes les substances neuralisantes est toujours de caractère antérieur (pro-encéphalique). Ces signaux représenteraient donc l'activation. D'autres signaux qui ne peuvent pas induire des tissus nerveux d'eux-mêmes, comme FGF, Wnt ou l'acide rétinoïque peuvent caudaliser le tissu nerveux induit quand ils sont co-exprimés avec les inducteurs neuraux [47]. Ces signaux représenteraient donc la transformation. Quant à la source de ces signaux, deux hypothèses ont été proposées [48]. La première suggère l'existence d'un signal longitudinal qui diffuserait depuis une source donnée et imposerait un devenir antéro-postérieur. La deuxième propose qu'un signal vertical venant du mésoderme axial et paraxial déterminerait le devenir cellulaire, de façon synchrone avec l'établissement des patrons dans le mésoderme axial. Cette dernière hypothèse correspond mieux aux résultats d'expériences dans lesquelles il a été démontré que la partie antérieure de la notochorde peut induire des marqueurs du mésencéphale-rhombencéphale dans l'ectoderme plus efficacement que la partie caudale [49]. On peut aussi noter, en faveur de cette hypothèse, la mutation *spadetail* chez le poisson lors de laquelle le développement correct des somites (mésoderme paraxial) est

perturbé, et qui affecte aussi l'identité des motoneurons sur l'axe antéro-postérieur [50]. Une des conséquences de ces signaux serait d'établir différents domaines d'expression des facteurs de transcription qui à leur tour maintiendraient, de manière autonome, les destinées cellulaires (figure 4). Parmi ceux-ci on trouve les gènes à homeobox, tels que les membres des familles *Hox* et *LIM*. Les gènes de la famille *Hox* divisent le tube neural en différents territoires, segmentant ainsi l'axe antéro-postérieur selon une combinaison moléculaire unique des gènes *Hox* [51] (figure 5). Chez le poisson, différents motoneurons primaires qui possèdent des identités distinctes expriment une combinaison unique de protéines à homéodomaine LIM [52]. Il existe quatre gènes à homéoboîte LIM, et une combinaison unique de ces gènes différencie chaque sous-type de motoneurons. Il a été suggéré que la combinaison de facteurs de transcription LIM détermine l'identité de chaque classe de motoneurons.

Organisation du tube neural embryonnaire selon l'axe droite-gauche

Alors que l'étude des facteurs moléculaires impliqués dans les axes antéro-postérieurs et dorso-ventral ont été l'objet de nombreuses études, l'aspect moléculaire du développement droite-gauche a été plus ou moins négligé jusqu'à récemment. Des gènes dont l'expression est réglée différenciellement sur l'axe droite-gauche ont été surtout caractérisés dans le contexte du mésoderme, mais aussi dans le tube neural. SHH, nodal (membre de la famille TGF- β) et le récepteur de l'activeine ActRIIa sont, par exemple, exprimés asymétriquement pendant la gastrulation [53]. L'activation des récepteurs des TGF- β conduit à l'expression asymétrique de nodal et SHH [54]. Le résultat de cette cascade de signalisation est l'expression de nodal dans la partie latérale gauche du plateau mésodermique, et ce motif d'expression est conservé chez les vertébrés. Chez la souris, deux membres de la famille des TGF- β , *lefty-1* et *lefty-2*, coopèrent avec nodal pour organiser l'axe droite-gauche dans le plancher du tube, où *lefty-1* est fortement exprimée dans 4

à 5 cellules du plancher du tube gauche [55, 56]. Le niveau d'expression élevé de *lefty-1* dans le plancher du tube neural est transitoire et persiste seulement jusqu'au stade 12-14 somites. La cible de ces signaux semble être *Pitx2* [57], un membre de la famille des homéoprotéines de la classe de bicoid. Son expression dans la partie gauche de l'embryon est plus large et persiste plus longtemps que celle de *lefty-1*. Malgré ces différences précoces d'asymétrie droite-gauche dans le tube neural, aucun lien n'a été établi entre ces modifications et les asymétries fonctionnelles complexes observées chez l'adulte ■

Remerciements

Je tiens à remercier Richard Harland pour sa contribution à la partie A de la figure 4. Je remercie aussi Anne-Francoise Ruaud et Marc Wathelet pour la relecture critique du manuscrit et pour leurs suggestions, ainsi que Giorgio Lagna et Curtis Altman pour leur aide au cours de la préparation des figures.

RÉFÉRENCES

1. Capecchi MR. The role of *Hox* genes in hindbrain development. In : Cowan WM, Jessell TM, Zipursky SL, eds. *Molecular and cellular approaches to neural development*. New York: Oxford University Press, 1997: 334.
2. Goodman CS, Tessier-Lavigne M. Molecular mechanisms of axon guidance and target recognition. In : Cowan WM, Jessell TM, Zipursky SL, eds. *Molecular and cellular approaches to neural development*. New York: Oxford University Press, 1997: 108.
3. Harland R, Gerhart J. Formation and function of Spemann's organizer. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1997; 13: 611-67.
4. Jessell TM, Lumsden A. Inductive signals and the assignment of cell fate in the spinal cord and hindbrain. In : Cowan WM, Jessell TM, Zipursky SL, eds. *Molecular and cellular approaches to neural development*. New York: Oxford University Press, 1997: 290.
5. Rubenstein JL, Shimamura K. Regulation and patterning and differentiation in the embryonic vertebrate forebrain. In : Cowan WM, Jessell TM, Zipursky SL, eds. *Molecular and cellular approaches to neural development*. New York: Oxford University Press, 1997: 356.
6. Honore E, Hemmati-Brivanlou A. *In vivo* evidence for trigeminal nerve guidance by the cement gland in *Xenopus*. *Dev Biol* 1996; 178: 363-74.
7. Hata A, Lagna G, Massague J, Brivanlou AH. Smad6 inhibits BMP/Smad1 signaling by specifically competing with the Smad4 tumor suppressor. *Genes Dev* 1998; 12: 186-97.
8. Casellas R, Brivanlou AH. *Xenopus* Smad7 inhibits both the activin and BMP pathways and acts as a neural inducer. *Dev Biol* 1998; 198: 1-12.

RÉFÉRENCES

9. Streit A, Stern CD. Neural induction. A bird's eye view. *Trends Genet* 1999; 15: 20-4.
10. Ma Q, Kintner C, Anderson DJ. Identification of neurogenin, a vertebrate neuronal determination gene. *Cell* 1996; 87: 43-52.
11. Sasai Y. Identifying the missing links: genes that connect neural induction and primary neurogenesis in vertebrate embryos. *Neuron* 1998; 21: 455-8.
12. McMahon JA, Takada S, Zimmerman LB, Fan CM, Harland RM, McMahon AP. Noggin-mediated antagonism of BMP signaling is required for growth and patterning of the neural tube and somite. *Genes Dev* 1998; 12: 1438-52.
13. Bumcrot DA, Takada R, McMahon AP. Proteolytic processing yields two secreted forms of sonic hedgehog. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2294-303.
14. Porter JA, von Kessler DP, Ekker SC, et al. The product of hedgehog autoproteolytic cleavage active in local and long-range signalling. *Nature* 1995; 374: 363-6.
15. Roelink H, Porter JA, Chiang C, et al. Floor plate and motor neuron induction by different concentrations of the amino-terminal cleavage product of sonic hedgehog autoproteolysis. *Cell* 1995; 81: 445-55.
16. Murone M, Rosenthal A, de Sauvage FJ. Sonic hedgehog signaling by the patched-smoothed receptor complex. *Curr Biol* 1999; 9: 76-84.
17. Ang SL, Rossant J. HNF-3 beta is essential for node and notochord formation in mouse development. *Cell* 1994; 78: 561-74.
18. Weinstein DC, Ruiz I, Altaba A, Chen WS, et al. The winged-helix transcription factor HNF-3 beta is required for notochord development in the mouse embryo. *Cell* 1994; 78: 575-88.
19. Ruiz I, Altaba A, Jessell TM, Roelink H. Restrictions to floor plate induction by hedgehog and winged-helix genes in the neural tube of frog embryos. *Mol Cell Neurosci* 1995; 6: 106-21.
20. Pfaff SL, Mendelsohn M, Stewart CL, Edlund T, Jessell TM. Requirement for LIM homeobox gene *Isl1* in motor neuron generation reveals a motor neuron-dependent step in interneuron differentiation. *Cell* 1996; 84: 309-20.
21. Goulding MD, Lumsden A, Gruss P. Signals from the notochord and floor plate regulate the region-specific expression of two *Pax* genes in the developing spinal cord. *Development* 1993; 117: 1001-16.
22. Artinger KB, Bronner-Fraser M. Notochord grafts do not suppress formation of neural crest cells or commissural neurons. *Development* 1992; 116: 877-86.
23. Yamada T, Placzek M, Tanaka H, Dodd J, Jessell TM. Control of cell pattern in the developing nervous system: polarizing activity of the floor plate and notochord. *Cell* 1991; 64: 635-47.
24. Hemmati-Brivanlou A, Stewart RM, Harland RM. Region-specific neural induction of an engrailed protein by anterior notochord in *Xenopus*. *Science* 1990; 250: 800-2.
25. Liem KFJ, Tremml G, Roelink H, Jessell TM. Dorsal differentiation of neural plate cells induced by BMP-mediated signals from epidermal ectoderm. *Cell* 1995; 82: 969-79.
26. Dickinson ME, Selleck MA, McMahon AP, Bronner-Fraser M. Dorsalization of the neural tube by the non-neural ectoderm. *Development* 1995; 121: 2099-106.
27. Liem KFJ, Tremml G, Jessell TM. A role for the roof plate and its resident TGF-beta-related proteins in neuronal patterning in the dorsal spinal cord. *Cell* 1997; 91: 127-38.
28. Sechrist J, Nieto MA, Zamanian RT, Bronner-Fraser M. Regulative response of the cranial neural tube after neural fold ablation: spatiotemporal nature of neural crest regeneration and up-regulation of *Slug*. *Development* 1995; 121: 4103-15.
29. Selleck MA, Bronner-Fraser M. Origins of the avian neural crest: the role of neural plate-epidermal interactions. *Development* 1995; 121: 525-38.
30. Basler K, Edlund T, Jessell TM, Yamada T. Control of cell pattern in the neural tube: regulation of cell differentiation by *dorsalin-1*, a novel TGF beta family member. *Cell* 1993; 73: 687-702.
31. Moury JD, Jacobson AG. The origins of neural crest cells in the axolotl. *Dev Biol* 1990; 141: 243-53.
32. Wilson PA, Lagna G, Suzuki A, Hemmati-Brivanlou A. Concentration-dependent patterning of the *Xenopus* ectoderm by BMP4 and its signal transducer *Smad1*. *Development* 1997; 124: 3177-84.
33. Chang C, Hemmati-Brivanlou A. *Xenopus* GDF6, a new antagonist of *noggin* and a partner of BMPs. *Development* 1999; 126: 3347-57.
34. Suzuki A, Kaneko E, Maeda J, Ueno N. Mesoderm induction by BMP-4 and -7 heterodimers. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232: 153-6.
35. Ikeya M, Lee SM, Johnson JE, McMahon AP, Takada S. Wnt signalling required for expansion of neural crest and CNS progenitors. *Nature* 1997; 389: 966-70.
36. Saint-Jeannet JP, He X, Varmus HE, Dawid IB. Regulation of dorsal fate in the neuraxis by *Wnt-1* and *Wnt-3a*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13713-8.
37. Chang C, Hemmati-Brivanlou A. neural crest induction by *Xwnt7B* in *Xenopus*. *Dev Biol* 1998; 194: 129-34.
38. Mayor R, Guerrero N, Martinez C. Role of FGF and *noggin* in neural crest induction. *Dev Biol* 1997; 189: 1-12.
39. Davidson D. The function and evolution of *Msx* genes: pointers and paradoxes. *Trends Genet* 1995; 11: 405-11.
40. Suzuki A, Ueno N, Hemmati-Brivanlou A. *Xenopus msx1* mediates epidermal induction and neural inhibition by BMP4. *Development* 1997; 124: 3037-44.
41. Foerst-Potts L, Sadler TW. Disruption of *Msx-1* and *Msx-2* reveals roles for these genes in craniofacial, eye, and axial development. *Dev Dyn* 1997; 209: 70-84.
42. Mansouri A, Stoykova A, Torres M, Gruss P. Dysgenesis of cephalic neural crest derivatives in *Pax7^{-/-}* mutant mice. *Development* 1996; 122: 831-8.
43. Stuart ET, Kioussi C, Gruss P. Mammalian *Pax* genes. *Annu Rev Genet* 1994; 28: 219-36.
44. Mangold O. Über die induktionsfähigkeit der verschiedenen bezirke der neurula von urodelen. *Naturwissenschaften* 1933; 21: 761-6.
45. Nieuwkoop PD. Activation and organization of the central nervous system in amphibians. *J Exp Zool* 1952; 120: 1-31.
46. Nieuwkoop PD. Activation and organization of the central nervous system in amphibians. Part II. Differentiation and organization. *J Exp Zool* 1952; 120: 33-81.
47. Chang C, Hemmati-Brivanlou A. Cell fate determination in embryonic ectoderm. *J Neurobiol* 1998; 36: 128-51.
48. Doniach T. Planar and vertical induction of anteroposterior pattern during the development of the amphibian central nervous system. *J Neurobiol* 1993; 24: 1256-75.
49. Ericson J, Thor S, Edlund T, Jessell TM, Yamada T. Early stages of motor neuron differentiation revealed by expression of homeobox gene *Islet-1*. *Science* 1992; 256: 1555-60.
50. Tokumoto M, Gong Z, Tsubokawa T, et al. Molecular heterogeneity among primary motoneurons and within myotomes revealed by the differential mRNA expression of novel *islet-1* homologs in embryonic zebrafish. *Dev Biol* 1995; 171: 578-89.
51. Duboule D. *Guidebook to the homeobox genes*. Oxford: Sambrook and Tooze, 1994.
52. Appel B, Korzh V, Glasgow E, et al. Motor neuron fate specification revealed by patterned LIM homeobox gene expression in embryonic zebrafish. *Development* 1995; 121: 4117-25.
53. Levin M, Johnson RL, Stern CD, Kuehn M, Tabin C. A molecular pathway determining left-right asymmetry in chick embryogenesis. *Cell* 1995; 82: 803-14.
54. Levin M, Pagan S, Roberts DJ, Cooke J, Kuehn MR, Tabin CJ. Left/right patterning signals and the independent regulation of different aspects of situs in the chick embryo. *Dev Biol* 1997; 189: 57-67.
55. Collignon J, Varlet I, Robertson EJ. Relationship between asymmetric nodal expression and the direction of embryonic turning. *Nature* 1996; 381: 155-8.
56. Meno C, Ito Y, Saijoh Y, et al. Two closely-related left-right asymmetrically expressed genes, *lefty-1* and *lefty-2*: their distinct expression domains, chromosomal linkage and direct neuralizing activity in *Xenopus* embryos. *Genes Cells* 1997; 2: 513-24.
57. Logan M, Pagan-Westphal SM, Smith DM, Paganessi L, Tabin CJ. The transcription factor *Pitx2* mediates situs-specific morphogenesis in response to left-right asymmetric signals. *Cell* 1998; 94: 307-17.
58. Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-91.
59. Weinstein DC, Marden J, Carnevali F, Hemmati-Brivanlou A. FGF-mediated mesoderm induction involves the *Src*-family kinase *Laloo*. *Nature* 1998; 394: 904-8.
60. Goodrich LV, Scott MP. Hedgehog and patched in neural development and disease. *Neuron* 1998; 21: 1243-57.
61. Dierick H, Bejsovec A. Cellular mechanisms of *wingless/Wnt* signal transduction. *Curr Top Dev Biol* 1999; 43: 153-90.

ms2000

Summary

Nervous system morphogenesis in vertebrates

Molecular approaches used in the studies of embryonic neural development in the vertebrate embryos have started to unravel pathways involved in neural induction and patterning of the central nervous system. Neural induction begins with inhibition of BMP/GDF type of signaling on the dorsal ectoderm. Factors such as noggin, chordin, follistatin and cerebrus derived from the organizer mediate this inhibition and thus unveil neural fate in the dorsal side. Downstream of this inhibition, the activity of transcription factors such as SoxD and neurogenin have been implicated with the differentiation of mature neurons.

Concomitant and following morphogenetic movements of the neural plate, differentiation of subtypes of neurons begins along the three axes of the neural tube. Antero-posterior differentiation is mediated by secreted factors such as FGF and Wnts as well as retinoic acid. The Hox code also subdivides the neural tube in different A-P gene expression domains and has been suggested to mediate cell identity. Ventral differentiation seems to be mediated by signaling cascades initiated by SHH originally from the notochord and later from the floor plate. HNF3 β , a

transcription factor also seems to be involved in ventral differentiation. On the dorsal side both BMPs and Wnts signaling cascades have been implicated in the establishment of dorsal neural fates. Transcription factors such as Pax3 and 7 are also involved in this differentiation which ultimately will produce the roof plate, sensory neurons and dorsal interneurons. Right left asymmetry seems to be mediated by lefty (also a member of the TGF β family), and the transcription factor ptx2. All these influences will ultimately allow the establishment of different fates in the embryonic nervous system.



**26^e SYMPOSIUM
EUROPÉEN DES PEPTIDES**

Montpellier, France

- Le 26^e Symposium Européen des Peptides (26th EPS) aura lieu à Montpellier, France du 10 au 15 septembre 2000. C'est un événement biennal, qui regroupe plus d'un millier de personnes et qui est le congrès de référence dans le monde du **Peptide** (le dernier symposium, qui s'est déroulé en France, a été organisé par le Professeur Bricas en 1968). Il est organisé sous les auspices de la Société Européenne des Peptides (EPS) et, cette année, du Groupe Français des Peptides et Protéines (GFPP). L'organisateur, le Professeur Jean Martinez, vous attend à Montpellier.
- Un présymposium sur le suivi analytique des réactions organiques sur support solide aura lieu le samedi 9 septembre 2000 et est organisé par le Professeur Jean-Louis Aubagnac.
- Consultez notre site web pour toute information et inscription.

Site web : <http://ww2.pharma.univ.montp1.fr/26-EPS>

Date limite d'inscription : 1^{er} mars 2000