



Contrôle moléculaire du développement du système hématopoïétique chez les vertébrés

► Le fonctionnement harmonieux du système hématopoïétique chez l'adulte implique l'accomplissement, lors de l'embryogenèse, de plusieurs processus d'une extrême complexité résultant : (1) de la multiplicité des sites anatomiques, extra- et intra-embryonnaires, hébergeant l'hématopoïèse au cours du développement ; (2) de la succession de deux processus distincts, l'érythropoïèse primitive, transitoire, restreinte au territoire extra-embryonnaire de la vésicule vitelline, puis l'installation de l'hématopoïèse définitive dans le foie fœtal et la moelle osseuse. Un troisième niveau de complexité, commun aux lignées embryonnaires et adultes, provient de la diversité des cellules matures fonctionnelles issues d'une population rare de cellules souches. Toutes ces étapes sont sous le contrôle, dans le temps et dans l'espace, de deux types de molécules, les facteurs de croissance (agissant par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques), essentiels à l'amplification des populations de progéniteurs, et les facteurs de transcription, dont le rôle est surtout de déterminer le devenir des cellules souches vers une lignée de différenciation donnée. ◀

L'étude de la mise en place du système hématopoïétique dans différents modèles animaux, notamment l'oiseau et la souris, a permis de dégager les principes généraux qui en régissent le développement. Chez les oiseaux, comme chez les mammifères, les premières cellules hématopoïétiques apparaissent peu après la gastrulation dans le mésoderme extra-embryonnaire du sac vitellin (SV), au sein de structures nommées « îlots sanguins », dans lesquelles cellules endothéliales et hématopoïétiques se différencient simultanément. Cette première vague de cellules souches hématopoïétiques (CSH), ou hématopoïèse primitive, engendre essentiellement des érythrocytes primitifs transitoires, cellules nucléées ne produisant que de l'hémoglobine embryonnaire. L'hématopoïèse définitive prend place secondairement, dans les tissus embryonnaires et fœtaux, le foie, le thymus, la rate, la moelle osseuse (et la bourse de Fabricius chez les oiseaux), lorsque ces tissus sont colonisés par une deuxième vague de CSH extrinsèques circulantes. La théorie ancienne selon laquelle les CSH qui colonisent les organes hématopoïétiques de l'embryon et du

Fernando Cortes
Marie-Claude Labastie

F. Cortes, M.C. Labastie; Institut d'embryologie cellulaire et moléculaire, Cnrs UPR 9064, 49 bis, avenue de la Belle-Gabrielle, 94736 Nogent-sur-Marne Cedex, France.

TIRÉS À PART

M.C. Labastie.

fœtus proviennent du SV a été infirmée. D'abord dans le modèle de l'embryon d'oiseau, dans lequel il a été démontré que l'ensemble des cellules hématopoïétiques présentes après la naissance dérivait de l'embryon lui-même, du mésoderme de la splanchnopleure para-aortique (*m/s* 1997, n° 2, p. 225-8). Il en est de même chez les mammifères, puisque des CSH ont été identifiées dans ce même territoire (splanchnopleure para-aortique) dans les embryons murins et humains. Il faut cependant souligner que l'absence de participation du SV à l'hématopoïèse définitive des mammifères reste encore à établir expérimentalement [1].

Identification de gènes régulateurs du développement hématopoïétique

Les différentes étapes de la prolifération et de la différenciation des CSH pendant et après la vie embryonnaire sont sous la dépendance, d'une part de facteurs de croissance solubles, transmembranaires, ou adsorbés aux protéines de la matrice extracellulaire, qui agissent par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques exprimés

par les CSH, d'autre part de facteurs de transcription qui activent ou répriment spécifiquement l'expression de gènes cibles. Signalons également, mais ce sujet ne sera pas développé ici, que la mise en place de l'hématopoïèse définitive dans la moelle osseuse nécessite la migration sélective des CSH vers les organes et tissus où ils se développeront. Les CSH interagissent alors avec les cellules endothéliales de l'arbre vasculaire et les cellules stromales tissulaires environnantes, interactions que contrôlent les récepteurs et les ligands d'adhérence, ainsi que les chimiokines et leurs récepteurs.

La technique de mutation ciblée dans les cellules souches embryonnaires de souris (cellules ES), cellules totipotentes dérivées de la masse cellulaire interne du blastocyste entre le 3^e et le

4^e jour du développement, a permis d'établir le rôle majeur de certaines de ces molécules. En effet, lorsqu'elles sont injectées dans un blastocyste hôte, les cellules ES sont capables de participer à la formation de toutes les lignées, y compris la lignée germinale, permettant ainsi d'obtenir des souris homozygotes pour une mutation préalablement introduite dans leur génome par recombinaison homologue. Si le phénotype associé à la mutation est létal précocement, ne permettant pas l'analyse du système hématopoïétique des mutants homozygotes, on peut néanmoins analyser le potentiel hématopoïétique de cellules ES nulles pour l'expression du gène en les injectant dans un blastocyste sauvage et en analysant leur contribution aux différentes lignées hématopoïétiques des souris chimeres

résultantes. Il est alors possible de déterminer précisément le ou les déficits intrinsèques résultant de la mutation étudiée [2, 2 bis].

Les facteurs de croissance et leurs récepteurs

Les facteurs de croissance, en se fixant sur leurs récepteurs spécifiques, stimulent la survie, la prolifération et la différenciation des CSH et des progéniteurs hématopoïétiques multipotents et de ceux qui sont engagés dans les différentes lignées myéloïdes et lymphoïdes (figure 1). Le VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et son récepteur le VEGFR-2 jouent un rôle prépondérant, aux premières étapes du développement embryonnaire, dans l'expansion initiale de précurseurs mésodermiques communs aux

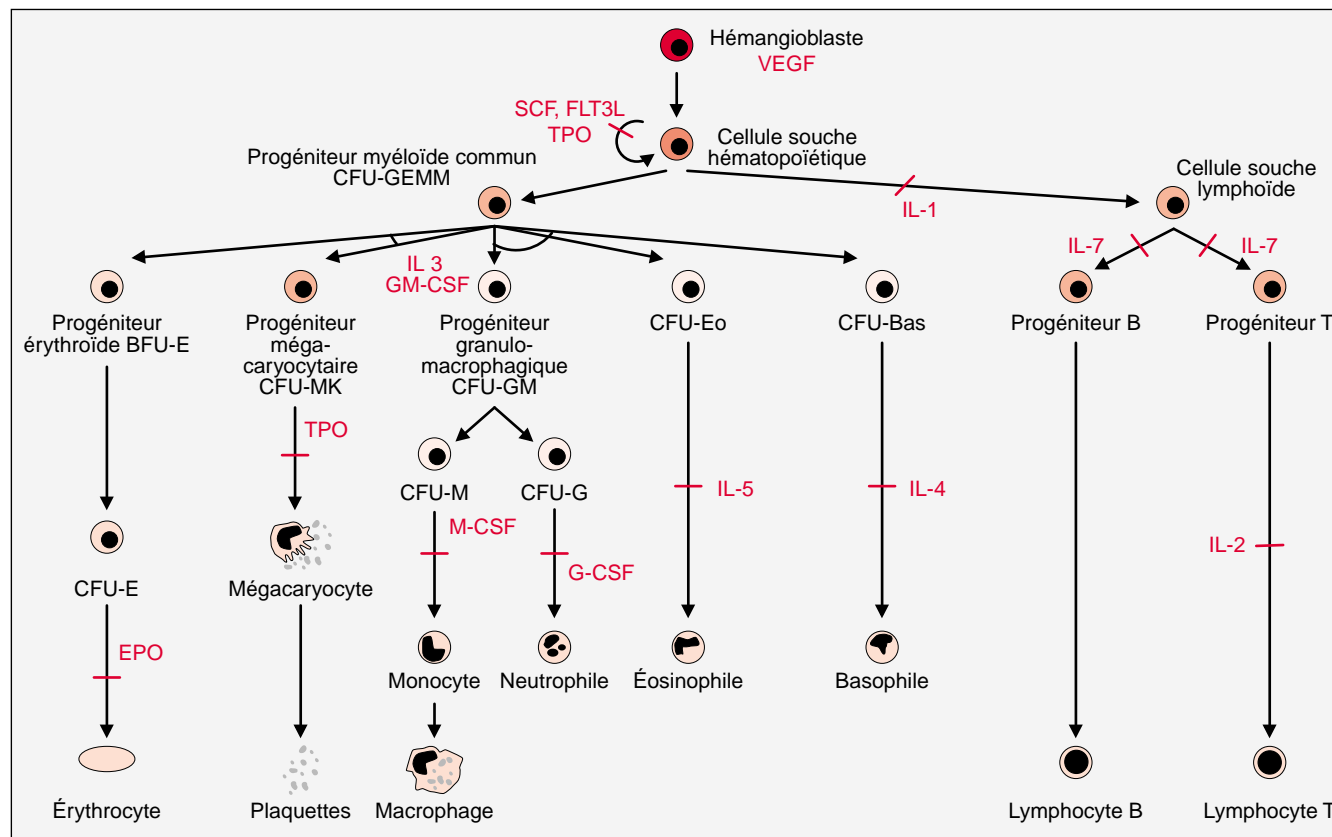


Figure 1. **Schéma de la hiérarchie des progéniteurs hématopoïétiques et indication des étapes cibles des facteurs de croissance.** Les différents progéniteurs des lignées myéloïdes et lymphoïdes sont indiqués: progéniteurs pluripotents CFU-GEMM; colony-forming unit granulocyte-erythroid-megacaryocyte. Progéniteurs déterminés des différentes lignées myéloïdes: BFU-E: burst-forming unit-erythroid; CFU-E: colony-forming unit-erythroid; CFU-MK: colony-forming unit-megakaryocyte; CFU-GM: colony-forming unit-granulocyte-macrophage; CFU-M: colony-forming unit-macrophage; CFU-G: colony-forming unit-granulocyte; CFU-E: colony-forming unit-eosinophil; CFU-Bas: colony-forming unit-basophil. Les facteurs de croissance sont également indiqués; VEGF: vascular endothelial growth factor; SCF: stem cell factor; FLT3L: fetal liver tyrosine kinase-ligand; TPO: thrombopoïétine; EPO: érythropoïétine; M-CSF: macrophage colony-stimulating factor; G-CSF: granulocyte-CSF; IL: interleukin.

lignées endothéliale et hématopoïétique, et dans leur migration vers les premiers sites de production hématopoïétique extra- et intra-embryonnaires (*m/s* 1997, n° 6-7, p. 886-91). En effet, les souris nulles pour l'expression du gène *flk-1/VEGFR-2*, l'un des trois récepteurs connus du VEGF, meurent précocément en raison de l'absence de différenciation d'îlots sanguins dans le sac vitellin, qui entraîne l'absence de cellules endothéliales et de cellules hématopoïétiques [3]. De plus, les cellules ES *flk-1^{-/-}*, lorsqu'elles sont injectées dans un blastocyste sauvage, ne participent au développement ni du réseau vasculaire ni d'aucun des compartiments hématopoïétiques des souris chimères

résultantes [4], un double déficit qu'explique le défaut de migration, aux stades précoces de l'embryogenèse, d'un précurseur mésodermique commun à ces deux lignées [5] (*m/s* 1999, n° 8-9, p. 1047).

En aval du VEGFR-2, le récepteur à activité tyrosine kinase c-kit dont le ligand est le facteur Steel (Sl), aussi appelé SCF (*stem cell factor*), est également indispensable à l'expansion initiale et/ou à la survie des CSH (*m/s* 1990, n° 10, p. 1016). Les souris naturellement dépourvues de récepteur c-kit (souche W/W), ou de son ligand (souche Sl/Sl), développent une hématopoïèse primitive normale dans le sac vitellin, mais tous les compartiments hématopoïétiques de la lignée

définitive sont très sévèrement atteints, ce dont témoigne une très forte réduction du nombre de progéniteurs pluripotents dans le foie, et ce dès E12 [6, 7]. En revanche, les récepteurs Flt-3/Flk-2 et c-mpl, qui sont exprimés par les CSH les plus primitives de l'adulte, et dont les ligands, FL (*fetal liver kinase-3 ligand*) et TPO (thrombopoïétine) stimulent la prolifération *ex vivo*, semblent moins importants pour la mise en place du système hématopoïétique dans l'embryon. En effet, la mutation ciblée de Flt-3/Flk2 ne provoque qu'une diminution du nombre des progéniteurs lymphoïdes B sans altération des autres lignées [8]. Il en est de même du récepteur c-mpl dont

Tableau I
**MOLÉCULES IMPLIQUÉES DANS LA DIFFÉRENCIATION PRÉCOCE
 DES CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES AU COURS DU DÉVELOPPEMENT**

Gène	Protéine*	Expression	Phénotype hématopoïétique des souris mutantes	Létalité	Phénotype souris chimères/cellules ES <i>in vitro</i>
Flk-1/KDR (VEGFR-2)	Récepteur à activité tyrosine kinase	Progéniteurs, cellules endothéliales, mésoderme précoce	Pas d'érythropoïèse primitive Aucune lignée définitive	E8,5-9,5	Quelques précurseurs érythroïdes primitifs dans les corps embryonnaires
SCL/TAL-1	bHLH	Progéniteurs, cellules érythroïdes, mégacaryocytes mastocytes, cellules endothéliales embryonnaires	Pas d'hématopoïèse primitive et définitive	E9,5	Aucune contribution aux tissus hématopoïétiques adultes
Lmo2/Rbtn2	Lim	Ubiquitaire	Pas d'hématopoïèse primitive et définitive	E10	Aucune contribution aux tissus hématopoïétiques adultes
GATA-2	GATA doigts de zinc	Progéniteurs, cellules érythroïdes, mégacaryocytes, mastocytes SNC et SNP**	Pas d'hématopoïèse primitive et définitive	E10,5-11,5	Contingent très réduit des progéniteurs multipotents définitifs. Différenciation myélo-érythroïde non bloquée
AML-1 (CBFα2) CBFβ	runt	Ubiquitaire	Aucune lignée définitive	E12,5	Aucune contribution aux tissus hématopoïétiques adultes Différenciation érythroïde primitive
c-kit	Récepteur à activité tyrosine kinase	CSH et progéniteurs cellules endothéliales embryonnaires, expression variée dans l'embryon	↓ Progéniteurs myélo-érythroïdes définitifs Anémie sévère	Quelques jours après la naissance	-

* Lorsqu'il s'agit de facteurs de transcription, seul le motif structural spécifique est indiqué.
 ** Système nerveux central et périphérique.

l'absence d'expression se traduit par une diminution significative du nombre de progéniteurs hématopoïétiques, qui est compatible avec la survie de l'animal [9].

Les autres cytokines et lymphokines qui sont impliquées dans la différenciation des cellules hématopoïétiques stimulent la croissance et/ou la survie de progéniteurs hématopoïétiques déjà commis vers les différentes voies de maturation. Alors que le GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) et l'IL (*interleukin*)-3 stimulent des progéniteurs myélo-érythroïdes multipotents, et en aval des progéniteurs érythroïdes et granulomacrophagiques, la plupart des autres cytokines telles que l'érythropoïétine (EPO), la TPO (*m/s 1994, n° 8-9, p. 874-6*), le M-CSF (*macrophage*

colony-stimulating factor) ou le G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) ont un spectre d'action beaucoup plus restreint [10]. La mutation ciblée de ces différents récepteurs de cytokines et/ou de leurs ligands conduit souvent à un déficit seulement partiel de la ou des lignées dont ils sont spécifiques, ce qui atteste de la redondance d'action de ces cytokines, et donc de la communauté de certaines de leurs voies de signalisation (*m/s 1998, n° 10, p. 1129-30*).

Toutefois certaines cytokines induisent des signaux uniques: c'est le cas (1) du couple EPO/EPOR dont les mutations ciblées entraînent un phénotype identique, léthal à E13, que caractérise l'absence de différenciation érythroïde terminale, primitive et définitive [11]; (2) le couple IL-7/IL-

7R dont les mutations ciblées provoquent toutes deux une forte réduction du compartiment des cellules T et B immatures [12,13]. Enfin, citons le déficit sévère en mégacaryocytes résultant de l'inactivation du récepteur c-mpl [9].

Les facteurs de transcription

Certains facteurs de transcription se sont avérés indispensables à l'émergence de l'ensemble des lignées hématopoïétiques, tandis que d'autres n'interviennent que dans un nombre restreint de ces lignées, voire dans une seule (*Tableaux I et II*). Parmi les facteurs de transcription impliqués dans le développement précoce du système hématopoïétique, il faut aussi distinguer ceux qui interviennent

Tableau II

MOLÉCULES IMPLIQUÉES DANS LA DIFFÉRENCIATION D'UNE OU DE PLUSIEURS LIGNÉES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Gène	Protéine*	Expression	Phénotype hématopoïétique des souris mutantes	Létalité
c-myb	Myb	CSH et progéniteurs myéloérythroïdes	Pas de myéloérythropoïèse définitive Pas de LB. Blocage précoce de la lymphopoïèse T	E15
PU.1	Ets	Progéniteurs multipotents myéloïdes, B et érythroïde	Pas de progéniteurs lymphoïdes B et T Aucun progéniteur myéloïde dans le foie	E17-18
Ikars	Kruppel (doigts de zinc)	Foie, thymus et rate fœtaux Corpus striatum LT adultes et lignées leucémiques T	Pas de LB et cellules NK Lymphopoïèse T postnatale anormale	Viable
E2A	bHLH	Ubiquitaire	Pas de LB**	Après la naissance
Ets-1	Ets	Cellules endothéliales dans l'embryon. Thymocytes. Cellules T adultes	Pas de cellules NK fonctionnelles Blocage de l'activation des LT	Viable
GATA-1	GATA doigts de zinc	Progéniteurs, cellules érythroïdes, mégacaryocytes, mastocytes Testicules	Pas d'érythropoïèse primitive et définitive	E11
FOG	doigts de zinc	Progéniteurs, cellules érythroïdes, mégacaryocytes	Pas d'érythropoïèse primitive et définitive. Thrombocytopenie	E10,5-12,5
NF-E2	bZIP	Cellules érythroïdes, mégacaryocytes, mastocytes	Thrombocytopenie	Après la naissance

* Lorsqu'il s'agit de facteurs de transcription, seul le motif structural spécifique est indiqué.

** LT : lymphocytes T; LB : lymphocytes B.

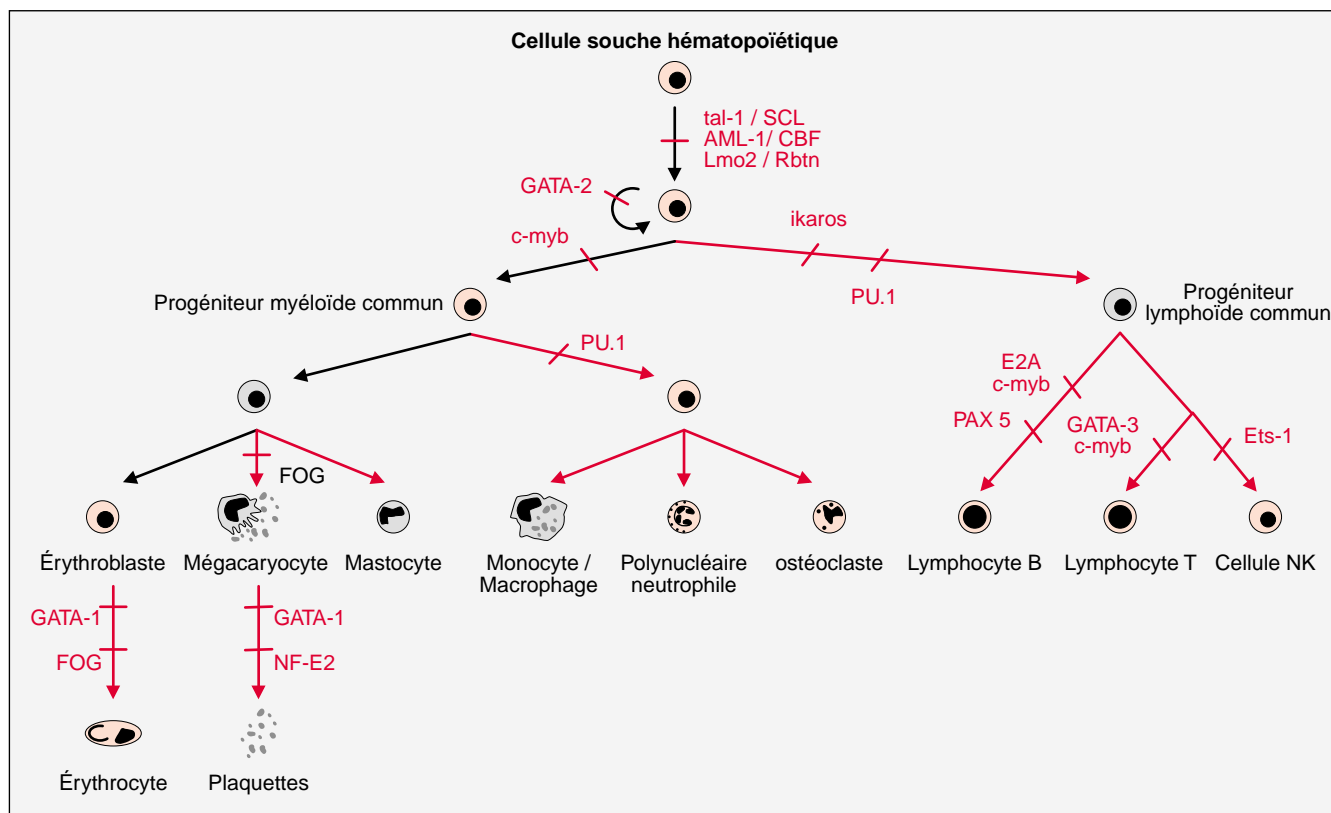


Figure 2. **Schéma de la hiérarchie des progéniteurs hématopoïétiques et indication des étapes cibles des facteurs de transcription.** Les étapes sont identiques à celles décrites sur la figure 1, mais seules sont figurées les étapes clairement associées à des facteurs de transcription.

dans l'établissement de l'hématopoïèse primitive et définitive, de ceux dont l'inactivation affecte sélectivement l'hématopoïèse définitive. En amont de la hiérarchie, la protéine de type basique « hélice-boucle-hélice » (bHLH) SCL/Tal-1 est proposée comme « gène maître » de la différenciation hématopoïétique, et agirait au niveau de précurseurs mésodermiques indifférenciés (*m/s* 1997, n°1, p.125 et 1999, n°8-9, p.986). En effet, l'expression ectopique de SCL, au stade 2-4 cellules, dans le modèle du xénope et du poisson zèbre, induit une production anormalement élevée d'érythroblastes hémoglobinisés, phénomène qui est précédé, chez le poisson zèbre, de la production d'hémangioblastes SCL⁺ Flk-1⁺ surnuméraires aux dépens des autres compartiments mésodermiques, somites et mésonéphros [14, 15]. Le phénotype résultant du gain de fonction de la protéine SCL chez les vertébrés inférieurs concorde avec celui résultant de sa perte de fonction chez la souris. En effet, les embryons

de souris *SCL*^{-/-} sont totalement dépourvus d'érythrocytes primitifs et meurent d'anémie à E9,5 [16, 17]. De plus, les cellules ES *SCL*^{-/-} ne participent à aucune des lignées hématopoïétiques, que ce soit *in vitro* ou dans les souris chimériques, témoignant de l'absence totale de cellules souches de la lignée définitive [18, 19]. Le phénotype létal résultant de l'inactivation des gènes codant pour les facteurs de transcription Lmo2/Rbtn2 et GATA-2 (*m/s* 1994, n°11, p.1174 et 1999, n°4, p.563), qui peuvent former un complexe avec la protéine SCL, est semblable à celui des embryons mutants *SCL*^{-/-}. Les cellules ES nulles pour l'expression de ces deux protéines ne participent à aucune des lignées sanguines définitives dans les souris chimères, manifestant ainsi un blocage au stade d'une cellule souche pluripotente [20-22]. Néanmoins, la persistance d'un petit nombre de progéniteurs produits par les cellules *GATA-2*^{-/-} suggère que ce gène contrôle plutôt la prolifération des CSH extra- et

intra-embryonnaires que leur émergence au cours du développement [23] (Tableau I). Parmi les facteurs de transcription impliqués uniquement dans la différenciation des cellules de l'hématopoïèse définitive, la protéine hétérodimérique CBF (*core binding factor*) intervient au niveau du compartiment des cellules souches pluripotentes. En effet, l'absence d'expression des sous-unités β et α2/AML-1 du facteur CBF entraîne un déficit sélectif de tous les compartiments hématopoïétiques de la lignée définitive alors que l'érythropoïèse primitive se déroule normalement [24-26]. En aval du CBF, les protéines nucléaires PU-1 (*m/s* 1997, n°5, p.724), c-myb et Ikaros interviennent dans la spécification et/ou la différenciation de progéniteurs multipotents, dont les potentialités sont plus ou moins restreintes: l'inactivation du gène *PU-1* bloque les voies myéloïdes et lymphoïdes [27, 28], alors que celle du gène *Ikaros* provoque un déficit sélectif des lignées lymphocytaires T, B et *natural*

killer [29]. Dans le cas d'Ikaros, son absence retentit aussi sur le compartiment des cellules souches [30]. Quant au gène *c-myb*, indispensable à la différenciation myélo-érythroïde et lymphoïde B, il intervient également dans la maturation précoce de la lignée lymphocytaire T [31, 32].

Enfin, parmi les facteurs de transcription qui régulent la différenciation de progéniteurs plus restreints, GATA-3, Ets-1, E2A et BSAP (produit de *Pax-5*), sont indispensables, respectivement, à la production des lignées T, *Natural Killer* et B pour les deux derniers [33-37]. Par ailleurs, les protéines GATA-1 et FOG (*Friend of GATA*, qui forme un complexe avec GATA-1), sont requises pour le développement des érythrocytes (*m/s* 1991, n°4, p.385) et des mégacaryocytes, la maturation de ces derniers en plaquettes étant ensuite placée sous le contrôle du facteur NF-E2 (*m/s* 1995, n°10 p.1503; 1998, n°1, p.90-2) (Tableau 2) [38-40].

Conclusions

La méthode de mutation ciblée dans les cellules ES a permis de caractériser, au moins partiellement, les mécanismes moléculaires qui déterminent l'émergence des premières CSH dans l'embryon, puis les étapes successives de leur différenciation en progéniteurs communs, plus ou moins restreints, et enfin en cellules sanguines mûres. Il est intéressant de souligner que les molécules impliquées dans l'émergence précoce des CSH sont détectées très tôt dans les territoires hématopoïétiques présomptifs de différentes espèces de vertébrés, du poisson zèbre à l'homme, ce qui suggère une remarquable conservation de ces mécanismes au cours de l'évolution. S'il se dégage une filiation entre les étapes successives de la différenciation hématopoïétique et le rôle-clé de certains facteurs de transcription et récepteurs aux facteurs de croissance, reste maintenant à caractériser leurs relations spécifiques dans la chaîne de transduction du signal ■

RÉFÉRENCES

- Dzierzak E, Medvinsky A, de Bruijn M. Qualitative and quantitative aspects of haematopoietic cell development in the mammalian embryo. *Immunol Today* 1998; 19: 228-36.
- Filippi MD, Sainteny F. Les cellules ES: une avancée capitale dans la compréhension de la biologie de l'hématopoïèse. *Hématologie* 1998; 6: 407-18.
- 2 bis. Babinet C, Cohen-Tannoudji M. Vingt ans d'interventions délibérées sur le génome de la souris: une révolution dans l'approche génétique de la biologie des mammifères. *Med Sci* 2000; 16: 31-42.
- Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 1995; 376: 62-6.
- Shalaby F, Ho J, Stanford WL, et al. A requirement for Flk-1 in primitive and definitive hematopoiesis and vasculogenesis. *Cell* 1997; 89: 981-90.
- Schuh AC, Faloon P, Hu QL, Bhimani M, Choi K. *In vitro* hematopoietic and endothelial potential of flk-1(-/-) embryonic stem cells and embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2159-64.
- Russell ES. Hereditary anemias of the mouse: a review for geneticists. *Adv Genet* 1979; 20: 357-459.
- Geissler EN, McFarland EC, Russell ES. Analysis of pleiotropism at the dominant white-spotting (*W*) locus of the house mouse: a description of ten new *W* alleles. *Genetics* 1981; 97: 337-61.
- MacKarehshchian K, Hardin JD, Moore KA, Boast S, Goff SP, Lemischka IR. Targeted disruption of the *flk2/flt3* gene leads to deficiencies in primitive hematopoietic progenitors. *Immunity* 1995; 3: 147-61.
- Alexander WS, Roberts AW, Nicola NA, Li R, Metcalf D. Deficiencies in progenitor cells of multiple hematopoietic lineages and defective megakaryocytopoiesis in mice lacking the thrombopoietin receptor c-Mpl. *Blood* 1996; 87: 2162-70.
- Veiby OP, Mikhail AA, Snodgrass HR. Growth factors and hematopoietic stem cells. *Hematol Oncol Clin North Am* 1997; 11: 1173-84.
- Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* 1995; 83: 59-67.
- Peschon JJ, Morrissey PJ, Grabstein KH, et al. Early lymphocyte expansion is severely impaired in interleukin 7 receptor-deficient mice. *J Exp Med* 1994; 180: 1955-60.
- von Freeden-Jeffrey U, Vieira P, Lucian LA, McNeil T, Burdach SEG, Murray R. Lymphopenia in interleukin (IL-7) gene-deleted mice identifies IL-7 as a nonredundant cytokine. *J Exp Med* 1995; 181: 1519-26.
- Gering M, Rodaway AR, Göttgens B, Patient RK, Green AR. The SCL gene specifies haemangioblast development from early mesoderm. *EMBO J* 1998; 17: 4029-45.
- Mead PE, Kelley CM, Hahn PS, Piedad O, Zon LI. SCL specifies hematopoietic mesoderm in *Xenopus* embryos. *Development* 1998; 125: 2611-20.
- Shivdasani RA, Mayer EL, Orkin SH. Absence of blood formation in mice lacking the T-cell leukaemia oncogene tal-1/SCL. *Nature* 1995; 373: 432-4.
- Robb L, Lyons I, Li R, et al. Absence of yolk sac hematopoiesis from mice with a targeted disruption of the scl gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7075-9.
- Robb L, Elwood NJ, Elefanty AG, et al. The scl gene product is required for the generation of all hematopoietic lineages in the adult mouse. *EMBO J* 1996; 15: 4123-9.
- Porcher C, Swat W, Rockwell K, Fujiwara Y, Alt FW, Orkin SH. The T cell leukemia oncogene SCL/tal-1 is essential for development of all hematopoietic lineages. *Cell* 1996; 86: 47-57.
- Warren AJ, Colledge WH, Carlton MB, Evans MJ, Smith AJ, Rabbitts TH. The oncogenic cysteine-rich LIM domain protein *lmo2* is essential for erythroid development. *Cell* 1994; 78: 45-57.
- Tsai FY, Keller G, Kuo FC, et al. An early haematopoietic defect in mice lacking the transcription factor GATA-2. *Nature* 1994; 371: 221-6.
- Yamada Y, Warren AJ, Dobson C, Forster A, Pannell R, Rabbitts TH. The T cell leukemia LIM protein *Lmo2* is necessary for adult mouse hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3890-5.
- Tsai FY, Orkin SH. Transcription factor GATA-2 is required for proliferation/survival of early hematopoietic cells and mast cell formation, but not for erythroid and myeloid terminal differentiation. *Blood* 1997; 89: 3636-43.
- Okuda T, Van Deursen J, Hiebert SW, Grosveld G, Downing JR. AML1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis. *Cell* 1996; 84: 321-30.
- Wang Q, Stacy T, Binder M, Marin-Padilla M, Sharpe AH, Speck NA. Disruption of the *Cbfa2* gene causes necrosis and hemorrhaging in the central nervous system and blocks definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3444-9.
- Wang Q, Stacy T, Miller JD, et al. The CBF β subunit is essential for CBF α 2 (AML1) function *in vivo*. *Cell* 1996; 87: 697-708.
- Scott EW, Simon MC, Anastasi J, Singh H. Requirement of transcription factor PU.1 in the development of multiple hematopoietic lineages. *Science* 1994; 265: 1573-7.
- McKercher SR, Torbett BE, Anderson KL, et al. Targeted disruption of the *PU.1* gene results in multiple hematopoietic abnormalities. *EMBO J* 1996; 15: 5647-58.
- Georgopoulos K, Bigby M, Wang JH, et al. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* 1994; 79: 143-56.
- Nichogiannopoulou A, Trevisan M, Neben S, Friedrich C, Georgopoulos K. Defects in hemopoietic stem cell activity in *ikaros* mutant mice. *J Exp Med* 1999; 190: 1201-14.

RÉFÉRENCES

31. Mucenski ML, McLain K, Kier AB, *et al.* A functional *c-myb* gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis. *Cell* 1991; 65: 677-89.
32. Allen Rd III, Bender TP, Siu G. *c-Myb* is essential for early T cell development. *Genes Dev* 1999; 13: 1073-8.
33. Ting CN, Olson MC, Barton KP, Leiden JM. Transcription factor GATA-3 is required for development of the T-cell lineage. *Nature* 1996; 384: 474-8.
34. Zhuang Y, Soriano P, Weintraub H. The helix-loop-helix gene E2A is required for B cell formation. *Cell* 1994; 79: 875-84.
35. Bain G, Maandag ECR, Izon DJ, *et al.* E2A proteins are required for proper B cell development and initiation of immunoglobulin gene rearrangements. *Cell* 1994; 79: 885-92.
36. Barton K, Muthusamy N, Fischer C, *et al.* The Ets-1 transcription factor is required for the development of natural killer cells in mice. *Immunity* 1998; 9: 555-63.
37. Nutt SL, Heavey B, Rolink AG, Busslinger M. Commitment to the B-lymphoid lineage depends on the transcription factor Pax5. *Nature* 1999; 401: 556-62.
38. Pevny L, Simon MC, Robertson E, *et al.* Erythroid differentiation in chimaeric mice blocked by a targeted mutation in the gene for transcription factor GATA-1. *Nature* 1991; 349: 257-60.
39. Shivdasani RA, Rosenblatt MF, Zucker-Franklin D, *et al.* Transcription factor NF-E2 is required for platelet formation independent of the actions of thrombopoietin/MGDF in megakaryocyte development. *Cell* 1995; 81: 695-704.
40. Tsang AP, Fujiwara Y, Hom DB, Orkin SH. Failure of megakaryopoiesis and arrested erythropoiesis in mice lacking the GATA-1 transcriptional cofactor FOG. *Genes Dev* 1998; 12: 1176-88.

ms2000

Summary

Molecules controlling hematopoietic development in vertebrates

Hematopoiesis first emerges in the embryo in the extra-embryonic mesoderm in the yolk sac, and generates primitive erythroblasts. Definitive hematopoiesis then takes place in the fetal liver and bone marrow probably after the seeding of stem cells migrating from the para-aortic region. The analysis of the phenotype of mutant mice created by homologous recombination in ES cells has led to the identification of mastegenes controlling hematopoietic development. These encode two types of molecules, growth factors and transcription factors. Each appears to act at a very timely defined stage of stem cell development, either to specify the

transition from the mesoderm to the hematopoietic differentiation, or the choice between the lymphoid or myeloid pathway, or to trigger the proliferation of defined progenitors. A hierarchy in the activity of these genes has been proposed based on results of knock-out experiments: in the absence of some of these molecules, hematopoiesis completely fails to occur, whereas the lack of others only compromises the development of one pathway. The ongoing challenge is now to unravel the downstream signalling pathways used by these growth and transcription factors to influence hematopoietic stem cell decisions.