

Implication des gènes Hox dans les processus d'organogenèse chez les mammifères

Josée Aubin
Lucie Jeannotte

Au cours du développement, la famille des facteurs de transcription HOX joue un rôle essentiel dans la détermination de l'identité régionale de l'embryon, en spécifiant le modelage des squelettes axial et appendiculaire. L'analyse de lignées de souris déficientes pour les gènes *Hox* démontre que ceux-ci sont également impliqués dans d'autres processus d'organogenèse. Ainsi, près du tiers des mutations *Hox* sont létales, et sauf exception, la mortalité observée n'est pas liée aux transformations squelettiques. Au cours de l'embryogenèse, les gènes *Hox* sont des acteurs essentiels de la morphogenèse des systèmes respiratoire, digestif et urogénital, de même que des structures glandulaires. Au stade postnatal, les gènes *Hox* sont impliqués dans le développement du pelage et de la glande mammaire. L'analyse des souris déficientes pour *Hoxa5* montre qu'un même gène *Hox* peut agir dans plusieurs de ces processus en influençant, entre autres, les communications entre les couches cellulaires.

ADRESSE

J. Aubin, L. Jeannotte : Centre de recherche en cancérologie de l'Université Laval, Centre hospitalier universitaire de Québec, L'Hôtel-Dieu de Québec, 9, rue McMahon, Québec, G1R 2J6 Canada.

Le développement d'un organisme multicellulaire à partir de l'œuf fécondé est un processus complexe, nécessitant l'expression différentielle de l'information génétique selon un profil spatio-temporel précis. Chez les vertébrés, les facteurs de transcription HOX occupent une position stratégique dans la hiérarchie des processus de développement qui déterminent le devenir des différentes régions de l'organisme. Initialement identifiées chez la drosophile,

les protéines HOX contrôlent la formation de structures spécifiques des diverses régions de l'organisme, en modulant l'expression de gènes cibles. Ceux-ci contrôlent à leur tour les événements morphogénétiques menant à l'élaboration de formes complexes [1]. Ainsi, de nombreux travaux réalisés chez la drosophile démontrent que la mutation des gènes homéotiques provoque le changement d'identité des segments. Chez cette espèce, huit gènes homéotiques sont organisés en deux com-

plexes adjacents, *Antennapedia* et *bithorax* (figure 1). Il existe une relation de co-linéarité entre la position relative de chaque gène au sein de ces complexes et celle des segments dont ils contrôlent l'identité le long de l'axe antéro-postérieur de la drosophile. En effet, les gènes situés en 3' des complexes sont exprimés dans les segments antérieurs, alors que les gènes localisés en 5' agissent au niveau de segments plus postérieurs. La caractérisation moléculaire des gènes homéotiques a mené à la découverte d'une séquence commune de 183 paires de bases, appelée la boîte *homéo* [1]. Cette séquence code pour le domaine du même nom, comportant un motif de type hélice-tour-hélice, responsable de la liaison à l'ADN. La présence de gènes contenant une boîte *homéo* a par la suite été décrite dans le génome d'une grande variété d'espèces, de la levure à l'humain. Chez l'humain et la souris, 39 gènes *Hox* (possédant une boîte *homéo* de classe I), sont regroupés en quatre complexes (*HoxA*, *B*, *C* et *D*) situés sur des chromosomes différents (figure 1). Ces différents gènes *Hox* ont été classés en 13 groupes paralogues, sur la base de la conservation des séquences

protéiques correspondantes. Capecchi *et al.* ont d'ailleurs récemment suggéré que les produits des gènes d'un même groupe paralogue pourraient être fonctionnellement équivalents [2]. Toujours en raison d'une homologie de séquence, chaque groupe paralogue peut être associé à un gène homéotique orthologue chez la drosophile, démontrant ainsi la conservation de l'organisation des complexes *Hox* au cours de l'évolution (figure 1) [3]. En outre, la relation existant entre la position d'un gène *Hox* dans le complexe et la frontière antérieure de son domaine d'expression le long de l'axe antéro-postérieur est conservée chez les mammifères. Cette co-linéarité s'observe aussi sur le plan temporel, puisque les gènes situés à l'extrémité 3' des complexes s'expriment plus tôt. En conséquence, l'organisation des complexes *Hox* semble fondamentale pour une régulation spatio-temporelle précise de chaque gène *Hox* lors du développement de l'embryon. Des données récentes démontrent d'ailleurs la mise en commun de séquences régulatrices entre gènes *Hox* avoisinants, ainsi que la conservation d'éléments de contrôle transcriptionnel des gènes *Hox* entre espèces divergentes [4].

La préservation de l'organisation génomique des complexes *Hox* au cours de l'évolution suggère que la fonction de ces gènes dans le développement serait maintenue chez les mammifères. Ainsi, chez la drosophile, une mutation de type « perte de fonction » d'un gène *Hox* a généralement pour conséquence la transformation d'un segment en un autre ayant une identité plus antérieure. En revanche, les mutations de type « gain de fonction » entraînent la transformation inverse d'un segment antérieur vers une structure plus postérieure. Ainsi, le gène *Hox* le plus postérieur, exprimé à un niveau axial donné, serait responsable de la spécification de l'identité segmentaire, selon un phénomène appelé suppression phénotypique [1, 3].

Chez la souris, on retrouve le long des axes embryonnaires et à des moments précis des variations des niveaux et des domaines d'expression des gènes *Hox*. Ainsi, le profil d'expression combiné des différentes protéines HOX présentes établit un code de développement (ou code *Hox*), qui contrôle les programmes de spécification régionale responsables des variations morphologiques existant le long des axes [4-6]. Grâce à des approches génétiques (gain ou perte de fonction) chez la souris, il a été montré que les gènes *Hox* sont aussi des acteurs essentiels de la spécification de l'identité axiale chez les mammifères. Ainsi, le gain d'expression des gènes *Hoxd4*, *Hoxb6*, *Hoxc6*, *Hoxa7*, *Hoxb7* et *Hoxb8*, mène le plus souvent à des transformations de type antérieur → postérieur des vertèbres dans les sites d'expression ectopiques [3, 7]. Cependant, lorsque *Hoxc8* est placé sous le contrôle des séquences régulatrices du gène *Hoxa4*, des transformations de type postérieur → antérieur sont observées [8].

L'analyse de souris déficientes pour une fonction *hox* confirme que la fonction homéotique de ces gènes a été conservée au cours de l'évolution. A ce jour, les expériences de mutation de 34 des 39 gènes *Hox* ont été réalisées, et les conséquences de l'inactivation de ces gènes *Hox* sur l'identité axiale ont été décrites pour la plupart d'entre eux [9]. Généralement, des transformations homéotiques de type postérieur → antérieur sont observées chez les mutants. Elles

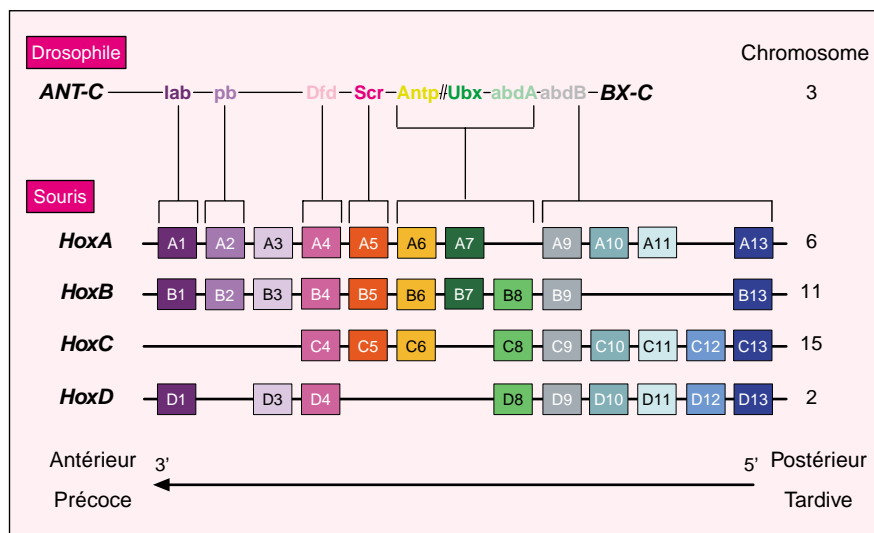


Figure 1. Complexes *Hox* de la drosophile et de la souris. Les gènes *Hox* de la drosophile sont représentés le long de leurs deux complexes Antennapedia (ANT-C) et bithorax (BX-C) en haut de la figure. Les gènes *Hox* de souris sont aussi représentés selon leur ordre relatif dans les complexes. Chacun des gènes est placé en fonction de son groupe paralogue avec l'orthologue correspondant chez la drosophile. La relation de co-linéarité entre l'organisation structurale des complexes et l'expression temporelle et antéro-postérieure des gènes est indiquée au bas de la figure par la flèche qui indique également la direction de transcription des gènes *Hox*.

sont le plus souvent limitées à la région la plus antérieure du domaine d'expression du gène dans la colonne vertébrale, ou encore dans la région où le gène est le plus fortement exprimé (figure 2). De plus, pour certains gènes *Hox*, la perte de fonction provoque à la fois des transformations de type postérieur à antérieur et l'inverse, chez un même individu [9, 10]. La position de la limite rostrale d'expression de chaque gène *Hox*, ainsi que leurs niveaux d'expression, sont donc des facteurs critiques pour l'établissement de l'identité axiale au cours de l'embryogenèse. L'étude de la fonction des gènes *Hox*

au cours du développement a également révélé leur rôle lors de la formation des membres [11]. L'analyse des lignées de souris déficientes pour les gènes *Hox* des groupes paralogues 9 à 13 indique des aspects analogues à ceux observés lors de l'analyse des transformations du squelette axial. Ainsi, il existe un lien de colinéarité entre l'organisation génomique des complexes *Hox* et le domaine d'expression et d'action des gènes *Hox* dans les membres, les gènes du groupe 9 agissant dans la partie proximale du membre alors que ceux du groupe 13 sont nécessaires au développement des pha-

langes. De plus, les gènes des groupes 5 et 6 sont impliqués dans l'élaboration des structures de la ceinture scapulaire [12-14]. L'établissement des frontières d'expression des gènes des groupes 5 à 8 semble indispensable à l'émergence des bourgeons de membres antérieurs. Cette hypothèse est confortée par le fait que la restriction de l'expression des gènes *Hoxc6* et *Hoxc8* disparaît dans le mésoderme latéral des serpents qui sont des vertébrés sans membres [15]. Chez les vertébrés, la co-linéarité existant entre l'organisation chromosomique des gènes *Hox* et leur profil

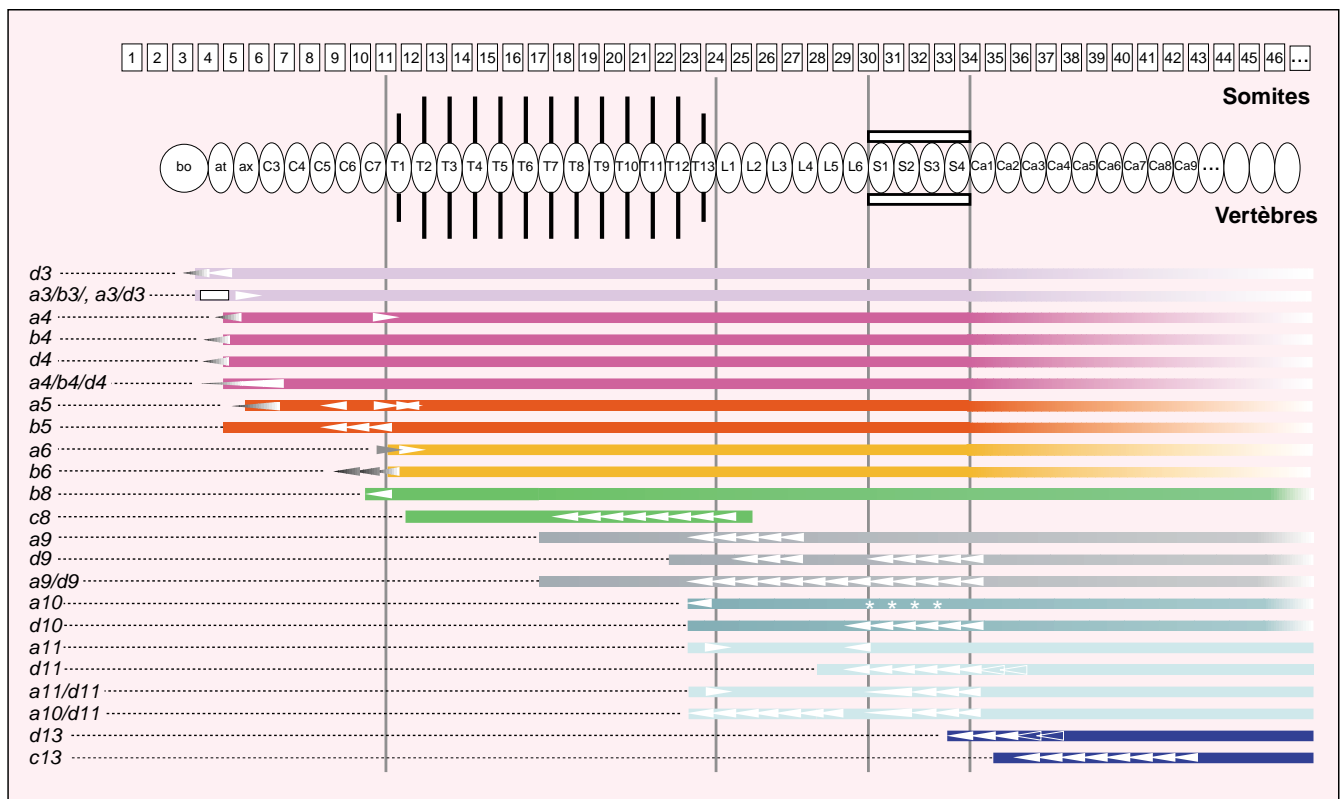


Figure 2. **Transformations homéotiques axiales chez les différentes lignées de souris déficientes pour les gènes Hox.** Représentation du profil d'expression de différents gènes Hox dans la colonne prévertébrale, et des conséquences phénotypiques qu'entraîne leur invalidation sur la spécification axiale. Le trait schématise le domaine d'expression de chaque gène décrit, avec sa limite d'expression dans la colonne prévertébrale et les somites correspondants (se reporter à la figure 1 pour la charte de couleurs). Les transformations homéotiques attribuables à la perte de fonction pour chaque gène sont indiquées par les flèches dirigées vers l'identité que prennent les vertèbres : une flèche vers la gauche indiquant une transformation de type postérieur → antérieur alors qu'une flèche vers la droite indique une transformation de type antérieur → postérieur. Dans les cas de transformations ayant lieu en dehors du domaine d'expression, les flèches sont grises, alors que les malformations ambiguës sont indiquées par des astérisques. Les transformations pour lesquelles les critères morphologiques ne permettent pas d'établir de façon certaine quelles sont les vertèbres touchées sont représentées par des flèches vides (e.g. Hoxd13). Dans le cas des doubles mutants Hoxa3/Hoxd3, la délétion de la vertèbre C1 est indiquée par la boîte. Les lignées déficientes pour les gènes Hox pour lesquelles aucune transformation squelettique axiale n'a été rapportée ne sont pas incluses (groupes paralogues Hox 1, 2, 7 et 12), ni celles dont la mutation cause une interférence transcriptionnelle en position cis sur l'expression de gènes Hox avoisinants.

d'expression n'est pas limitée uniquement à la colonne prévertébrale et aux membres, mais existe également dans le tube neural, la crête neurale, le rhombencéphale, l'ectoderme de surface, les arcs branchiaux, le tube digestif et le système urogénital (figure 3) [3]. Les travaux ciblés essentiellement sur l'étude des transformations squelettiques chez les souris mutantes ont parfois éclipsé l'implication de ces gènes dans d'autres processus d'organogenèse. Or, près du tiers des mutations *Hox* ont des conséquences dramatiques sur la viabilité des souris. A l'exception de la mutation *Hoxd3*

pour laquelle la létalité résulterait d'une dislocation cervicale, et de la mutation *Hoxb4*, qui provoque la mort par fissure sternale, les transformations squelettiques observées chez les mutants ne peuvent à elles seules expliquer la mortalité observée [9]. Ces observations sont en faveur d'une participation importante des gènes *Hox* à la formation des organes vitaux. Alors que le rôle des gènes *Hox* dans la morphogenèse du squelette, du système nerveux et des structures dérivées de la crête neurale fait l'objet d'une littérature abondante, leur implication dans d'autres processus d'organogenèse commence

seulement à être abordée. Nous présentons ici un résumé des connaissances concernant le rôle des gènes *Hox* dans la morphogenèse des organes glandulaires de la région cervico-thoracique, ainsi que dans celle des systèmes respiratoire, digestif et urogénital. Nous porterons une attention particulière aux résultats obtenus de l'analyse de souris déficientes pour le gène *Hoxa5* [10, 12, 16, 17].

Gènes Hox et morphogenèse des organes glandulaires de la région cervicothoracique

L'inactivation des gènes des groupes paralogues 1 et 3 révèle la participation de ces derniers à la formation des structures osseuses, cartilagineuses et glandulaires des régions cervicale et thoracique supérieure [9, 18, 19]. Bien que les mutants simples *Hoxa1* et *Hoxb1* ne présentent pas de dysmorphogenèse des structures du cou, les doubles mutants *Hoxa1/Hoxb1* présentent une agénésie du thymus et des glandes parathyroïdes. Les souris *Hoxa3*^{-/-} présentent des anomalies au niveau du système cardiovasculaire, une atrophie de la glande thyroïde ainsi que des malformations des os et des cartilages du cou. Elles sont également dépourvues de thymus et de glandes parathyroïdes [18]. Les anomalies cardiovasculaires et du larynx seraient responsables de la létalité chez ces animaux mutants. Le gène *Hoxa3* est fortement exprimé dans le mésenchyme du troisième arc branchial, et dans l'endoderme de la troisième et de la quatrième poche pharyngiale, dont dérivent les glandes parathyroïdes, le thymus et les corps ultimobranchiaux (précurseurs des cellules C productrices de calcitonine), et dans le plancher du pharynx d'où émerge la glande thyroïde (figure 3). L'atrophie de la glande thyroïde observée chez les mutants *Hoxa3*^{-/-} s'accompagne d'une déletion ou d'un déplacement de l'isthme thyroïdien qui relie normalement les deux lobes de la glande, ainsi que d'une diminution ou d'une absence de cellules C. La perte de cellules C est liée à une incapacité des corps ultimobranchiaux à migrer, et à fusionner

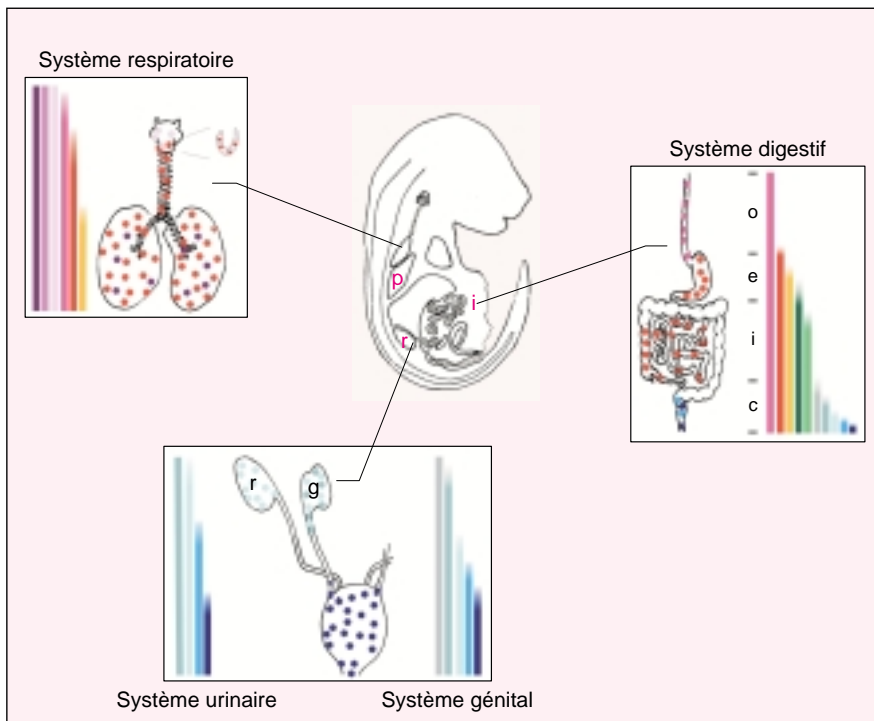


Figure 3. **Gènes Hox et organogenèse.** Représentation schématique des phénotypes selon les organes chez des lignées de souris déficientes pour les gènes Hox. Le domaine d'expression respectif des différents groupes paralogues le long de l'axe antéro-postérieur des organes est également représenté. Pour les groupes paralogues, les couleurs correspondent à celles de la charte présentée sur la figure 1. Les conséquences phénotypiques de l'inactivation des gènes Hox sont notées par les points de couleurs appropriés. Dans la région cervicothoracique, la mutation des gènes du groupe 3, ainsi que la mutation du gène *Hoxa5*, affecte la glande thyroïde, représentée à droite du larynx. Dans le système respiratoire, les souris *Hoxa3*^{-/-} et *Hoxa5*^{-/-} montrent une désorganisation du larynx. Seule l'inactivation du gène *Hoxa5* cause une dysmorphogenèse de la trachée et du poumon. Les doubles mutants *Hoxa1/Hoxb1* développent des poumons plus petits. Dans le système digestif, le gène *Hoxc4* est impliqué dans la formation de l'œsophage, *Hoxa5* dans celle de l'estomac, de l'intestin et du côlon, les gènes des groupes 12 et 13, dans la morphogenèse du rectum. La relation de co-linéarité est également respectée dans le système urogénital. c: côlon; e: estomac; g: gonade; i: intestin; o: œsophage; p: poumon; r: rein.

avec la thyroïde. Alors que la réduction de taille de la glande thyroïde et l'agénésie du thymus et des glandes parathyroïdes ne s'observent que chez les souris déficientes pour le gène *Hoxa3*, l'analyse des animaux mutants *Hoxa3/Hoxb3/Hoxd3* révèle que ces gènes agissent en synergie lors de la migration des cellules précurseurs de ces organes [18]. L'action prépondérante du gène *Hoxa3* s'explique par le fait que, de ces trois gènes, seul *Hoxa3* s'exprime dans l'endoderme des troisième et quatrième poches pharyngiales. Le développement de la glande thyroïde nécessite également l'expression du gène *Hoxa5* (figure 3). Les souris *Hoxa5*^{-/-} qui survivent après la naissance présentent un développement postnatal retardé, notamment en ce qui concerne l'ouverture des yeux et l'élevation des oreilles. Ces symptômes sont normalement associés à une hypothyroïdie. Au cours du développement de la glande thyroïde, le gène *Hoxa5* est exprimé dans le mésenchyme adjacent à la thyroïde. Malgré le fait que les taux circulants de thyroxine soient normaux chez les animaux mutants, on observe chez les embryons *Hoxa5*^{-/-} une désorganisation des follicules thyroïdiens [17]. Le mécanisme par lequel cette désorganisation conduit à une hypothyroïdie chez les souris *Hoxa5*^{-/-} demeure inconnu.

Gènes Hox et morphogenèse du système respiratoire

Les gènes *Hox* des groupes 1 à 6 sont exprimés lors de l'ontogénie du système respiratoire et il a été proposé que ceux des groupes 3 à 6 déterminent son modelage proximodistal selon un ordre correspondant à leur position le long des complexes (figure 3) [20]. L'altération de la morphogenèse du larynx chez les souris déficientes pour les gènes *Hoxa3* et *Hoxa5* est d'ailleurs en faveur de cette hypothèse ; *Hoxa3* participe à la formation des cartilages thyroïdien et cricoïdien, alors que *Hoxa5* est nécessaire à la formation du cartilage cricoïdien situé en position plus postérieure [16, 18]. Ces deux gènes possèdent donc des fonctions distinctes et complémentaires dans la morphogenèse du larynx. De plus, le

gène *Hoxa5* est essentiel à la formation de la trachée et du poumon. Cependant, l'analyse des autres mutants *Hox* des groupes paralogues 1 à 6 ne confirme pas l'existence d'un lien de co-linéarité entre la localisation chromosomique des gènes *Hox* et la spécification régionale pulmonaire [16, 19]. La redondance fonctionnelle pourrait expliquer l'absence de phénotype pulmonaire apparent chez les mutants des gènes appartenant aux groupes 1 à 6. A l'appui de cette hypothèse, la double mutation des gènes *Hoxa1* et *Hoxb1* entraîne le développement de poumons plus petits, le nombre de lobes étant parfois réduit sans que la structure du tissu pulmonaire en soit altérée [19]. Cependant, chez les animaux mutants combinés pour les gènes des groupes paralogues 3 et 4, l'absence de mortalité attribuable à une détresse respiratoire suggère que ces derniers ne participent pas à la morphogenèse du poumon ou n'ont pas d'action prépondérante. La mutation du gène *Hoxa1* est la seule décrite à ce jour pour laquelle la mortalité périnatale est liée à une anoxie, mais cette mutation affecte la formation des centres de contrôle respiratoire dans le tronc cérébral [21]. En fait, seule la mutation du gène *Hoxa5* entraîne chez une majorité d'individus une mortalité périnatale causée par la dysmorphogenèse des voies respiratoires. Cette anomalie n'est pas observée chez les mutants *Hoxb5* ou *Hoxc5*, le domaine d'expression de ces gènes paralogues étant par ailleurs plus limité dans cet organe. Il semble donc que le gène *Hoxa5* exerce un rôle prédominant dans la morphogenèse de la trachée et du poumon.

Tous les animaux déficients pour le gène *Hoxa5*^{-/-} présentent une malformation sévère des voies respiratoires [16]. L'aspect anormal du larynx, le rétrécissement de la trachée et la désorganisation des anneaux trachéaux s'accompagnent de la présence d'un épithélium dont la structure est très désorganisée et d'une déficience fonctionnelle des poumons à la naissance. L'ensemble de ces anomalies est à l'origine de la détresse respiratoire des nouveau-nés *Hoxa5*^{-/-}, et résulte d'une dysmorphogenèse des voies respiratoires chez ces mutants. Il y a en effet

réduction de la formation de l'arbre bronchial au stade pseudoglandulaire vers le jour embryonnaire 15,5. En outre, chez les animaux adultes *Hoxa5*^{-/-}, la périphérie des poumons présente des poches d'air caractéristiques de défauts de septation suggérant que la fonction *Hoxa5* est également requise pour l'intégrité fonctionnelle du poumon adulte (figure 4). Des modifications dans les niveaux d'expression de plusieurs gènes impliqués dans la morphogenèse et/ou la fonction pulmonaire ont été mises en évidence au jour embryonnaire 12,5 : l'expression des gènes *TTF-1* et *Hnf3β* est diminuée, alors que celle du gène *N-myc* augmente. L'expression de ces gènes est limitée à l'épithélium, alors que celle de *Hoxa5* durant la morphogenèse du système respiratoire est strictement mésenchymateuse, appuyant l'hypothèse selon laquelle *Hoxa5* serait un modulateur des interactions épithélio-mésenchymateuse dans le poumon. Des données récentes sont en faveur de cette notion puisque l'expression de gènes codant pour des molécules de signalisation, tel que *TGFβ1*, est altérée par l'inactivation du gène *Hoxa5*.

Gènes Hox et morphogenèse du tube digestif

Chez la drosophile, les gènes *Hox* sont exprimés dans le mésoderme viscéral, dans lequel ils définissent les spécialisations régionales [22]. Les profils d'expression chevauchants des gènes *Hox* le long de l'axe rostro-caudal du système digestif suggèrent qu'il en est de même chez les vertébrés [23]. En effet, les modèles d'inactivation des gènes *Hoxc4*, *Hoxa5*, *Hoxd12*, *Hoxa13* et *Hoxd13* indiquent que les gènes *Hox* sont impliqués lors de la spécification régionale du tube digestif, leur domaine d'action respectif corrélant avec la position du gène à l'intérieur des complexes (figure 3) [17].

Ainsi, l'inactivation du gène *Hoxc4* est associée à une létalité périnatale, qui est attribuée à une malformation de la couche musculaire de l'œsophage, empêchant une alimentation normale [24]. Par ailleurs, les mutations des gènes *Hoxd12*, *Hoxa13* et *Hoxd13* sont responsables d'altéra-

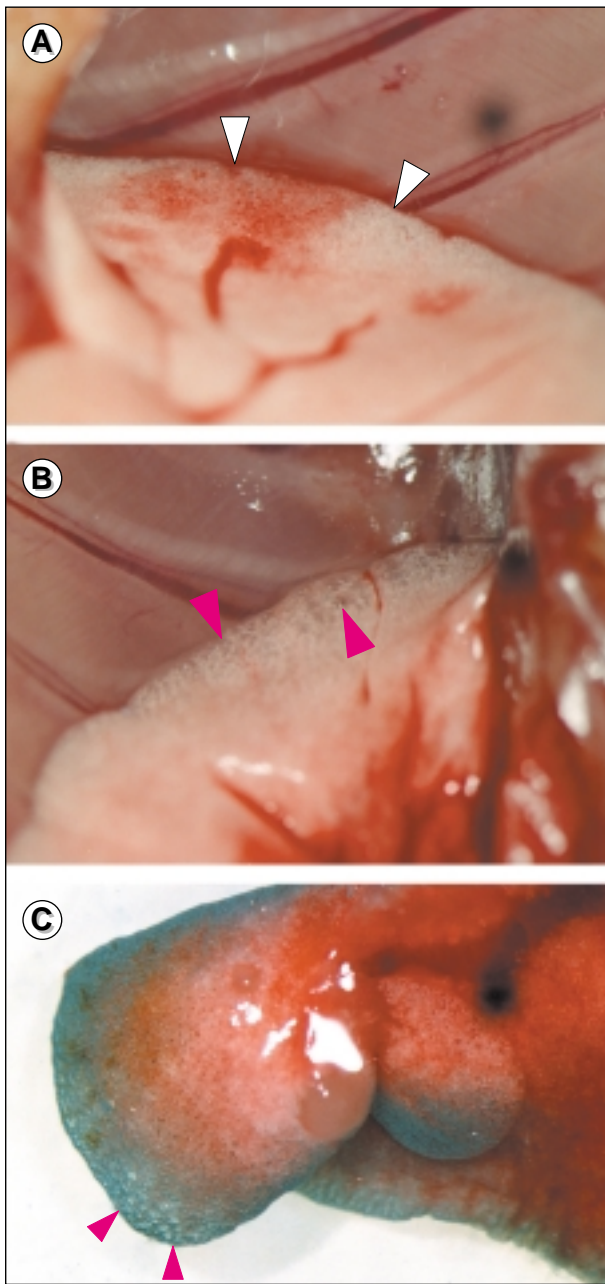


Figure 4. **Anomalies alvéolaires dans les poumons de souris *Hoxa5*^{-/-}.** A. Lobe gauche d'un poumon de souris *Hoxa5*^{-/-}, avec formation normale des alvéoles (indiquées par des flèches blanches). B. En revanche, des saccules remplies d'air, caractéristiques d'une septation déficiente, s'observent en périphérie du lobe droit chez le même individu, (flèches rouges). C. Le poumon a été isolé et immergé dans une solution saline. Des saccules sont aussi présentes dans d'autres régions du poumon (flèches rouges).

côlon et une migration aberrante des progéniteurs neuronaux [27]. Il est intéressant de souligner que dans le cas de l'inactivation de *Hoxa4*, aucune anomalie viscérale n'a été rapportée [9]. De plus, lorsque le gène *Hoxc8* est exprimé de manière ectopique dans l'estomac, il y a formation de lésions hamartomateuses correspondant à l'inclusion de muqueuse gastrique dans la couche musculaire [8]. Ce phénotype s'apparente à certaines lésions du système gastro-intestinal observées chez l'homme, et qui sont parfois associées à des malformations du squelette. Ces résultats reflètent l'importance d'une régulation fine de l'expression des protéines HOX lors de l'organogenèse.

Le gène *Hoxa5* joue aussi un rôle essentiel dans la morphogenèse et la fonction du tube digestif [17]. L'inactivation du gène *Hoxa5* provoque des retards dans les programmes ontogéniques de maturation intestinale. Ceux-ci contrôlent de façon concomitante la baisse de l'activité des enzymes responsables de la digestion du lait maternel et la hausse d'activité de celles nécessaires à la digestion de la nourriture solide au moment du sevrage. Nous avons pu établir que le retard fonctionnel dans la mise en place des activités enzymatiques du tube digestif ne dépendait ni d'un défaut au niveau de la morphogenèse de l'intestin, ni d'un déficit hormonal chez les animaux mutants *Hoxa5*, mais plutôt de l'absence d'une action directe de *Hoxa5* lors de la spécification régionale du tube digestif durant l'embryogenèse. Ainsi, *Hoxa5* participerait à l'établissement des programmes ontogéniques de différenciation des cellules de l'épithélium intestinal [17]. Nos travaux démontrent ainsi que les gènes *Hox* peuvent avoir un rôle dans la fonction d'un organe sans que l'inactivation du gène correspondant ne conduise à des anomalies morphologiques. *Hoxa5* est aussi exprimé lors de la morphogenèse de l'estomac. Contrairement à ce qui est observé pour l'intestin moyen, l'inactivation du gène *Hoxa5* s'accompagne d'une désorganisation de l'épithélium gastrique (figure 3). L'absence d'expression du gène *Hoxa5* dans le mésenchyme perturbe la différenciation, la

tions du tube digestif dans sa partie la plus distale [25, 26]. L'inactivation individuelle des gènes *Hoxd12* et *Hoxd13* provoque une désorganisation des couches musculaires du rectum, la mutation *Hoxd13* exerçant un effet plus important. Cette désorganisation s'observe dès le début de la différenciation des couches musculaires durant le développement embryonnaire. Chez les animaux doubles mutants *Hoxa13/Hoxd13*, les tractus digestif et urogénital ne sont pas séparés puisque la croissance du

septum urorectal, responsable de cette partition, ne se fait pas [26]. Par ailleurs, la surexpression du gène *Hoxa4* induit l'apparition d'un mégacôlon, caractérisé par l'accumulation des matières fécales dans le côlon, causant ainsi le décès de l'animal avant l'âge adulte. Cette pathologie est attribuable à une dysmorphogenèse du système nerveux entérique, associée à une surproduction de molécules de signalisation dans le mésenchyme entérique, qui entraîne un élargissement de la muqueuse du

prolifération et l'apoptose cellulaire dans cet épithélium gastrique. L'épithélium du côlon proximal est également atteint chez les mutants *Hoxa5*, les cellules caliciformes bordant l'épithélium du côlon se regroupant en agrégats distribués de façon irrégulière.

Au cours de l'ontogenèse du système gastro-intestinal, l'expression de *Hoxa5* est limitée au mésenchyme, comme cela est le cas dans le poumon. Cette observation est en faveur de l'idée que *Hoxa5* agirait comme régulateur des interactions épithélio-mésenchymateuses lors de l'organogénèse [17]. Ainsi, le domaine d'expression de *TGFβ1* est élargi dans le mésenchyme gastrique en l'absence d'*Hoxa5* lors de l'embryogenèse.

Chez la drosophile, le gène *Sex combs reduced (Scr)*, orthologue de *Hoxa5*, est nécessaire à la formation des caeca gastriques dans la région antérieure du tube digestif. Il est également exprimé dans la partie postérieure du tube digestif moyen, où il jouerait un rôle dans la délimitation d'une quatrième constriction [28]. Ces deux régions correspondent à des frontières fonctionnelles du tube digestif chez la drosophile. Un parallèle peut donc être établi quant à une conservation de la fonction du gène *Hoxa5* dans la spécification régionale du tube digestif au cours de l'évolution. Tout comme *Scr*, *Hoxa5* pourrait être impliqué dans la définition des zones qui séparent la région responsable des fonctions digestives, c'est-à-dire l'intestin moyen, du reste du tractus digestif.

Gènes Hox et morphogénèse du système urogénital

Des malformations sont observées dans le tractus urogénital des souris déficientes pour les gènes *Hox* des groupes 10, 11 et 13, comme pouvaient le laisser penser les profils d'expression observés pour ces gènes. L'invalidation des gènes *Hoxa10*, *Hoxa11*, *Hoxd11*, *Hoxa13* et *Hoxd13* entraîne une stérilité [25, 26, 29-34]. Chez les mâles *Hoxa10*^{-/-} et *Hoxa11*^{-/-}, cette stérilité est due à une cryptorchidie et à une transformation homéotique partielle au niveau de la jonction de l'épididyme et du

canal déférent [29, 32-33]. Quant aux femelles *Hoxa10*^{-/-}, elles développent des kystes endométriaux et présentent une transformation homéotique de l'utérus dont la première partie devient similaire à un oviducte, expliquant la baisse de fertilité [33]. Des défauts d'implantation pourraient aussi contribuer à la stérilité des femelles puisqu'il est possible que *Hoxa10* module la réponse de la matrice utérine à la progestérone et aux œstrogènes, chez la souris comme chez la femme.

Les gènes *Hoxa13* et *Hoxd13* participent aussi à la morphogénèse de la région terminale du tractus génital [26, 30, 34, 35]. En effet, chez l'humain, une mutation autosomique dominante entraîne la production d'une protéine HOXA13 tronquée de ses vingt derniers acides aminés, et responsable des problèmes de fertilité [36]. La sévérité du phénotype hétérozygote chez l'homme laisse supposer que cette protéine tronquée exerce un effet dominant négatif. Chez la souris, l'introduction d'une mutation dans le gène *Hoxa13* provoque une létalité entre les jours embryonnaires 11,5 et 15,5, probablement due à une constriction du cordon ombilical [26]. En ce qui concerne la mutation du gène *Hoxd13*, seuls les mâles mutants ont une fertilité réduite, associée à une malformation de l'os pénien [30]. De plus, la ramification des ductules de la prostate, qui se produit normalement durant la période postnatale, est diminuée [34]. L'analyse des doubles mutants *Hoxa13*^{+/-}/*Hoxd13*^{+/-} révèle l'absence du bourgeon génital. De plus, la majorité des mâles doubles mutants meurent de cause inconnue quelques semaines après la naissance, alors que les survivants sont stériles. L'analyse morphologique montre que ces mâles présentent une hypoplasie de la vésicule séminale et du corps caverneux, et perdent certaines glandes sexuelles accessoires. Si l'hypoplasie de la vésicule séminale semble due à un effet post-natal de l'invalidation génique, les autres malformations peuvent être associées à des défauts de morphogénèse [34]. Une situation semblable se produit chez les femelles mutantes *Hoxa13*^{+/-}/*Hoxd13*^{+/-}, chez lesquelles une agénésie de la partie caudale de la corne utérine et du col

est observée. On observe également un rapprochement spatial de l'urètre et du vagin, pouvant parfois conduire à leur fusion chez les femelles les plus atteintes. De plus, chez les doubles mutants, les mâles comme les femelles souffrent d'une dilatation des cavités rénales attribuable à un défaut au niveau de l'entrée de l'urètre dans la vessie. Toutes ces malformations sont donc associées à des anomalies de morphogénèse qui affectent l'identité régionale le long des sinus urogénitaux, des canaux de Wolff chez les mâles, et des canaux müllériens chez les femelles [26]. Enfin, en ce qui concerne le tractus urinaire, la caractérisation des doubles mutants *Hoxa11* et *Hoxd11* a révélé l'importance de ces deux gènes dans la formation des reins [37]. En effet, l'absence conjointe des gènes *Hoxa11* et *Hoxd11* provoque des anomalies rénales allant parfois jusqu'à l'agénésie, et établissant ainsi de façon précise le rôle primordial des facteurs HOX dans l'initiation et le maintien des processus d'organogénèse.

Gènes Hox et développement postnatal

Alors qu'il est bien établi que les gènes *Hox* jouent un rôle prépondérant lors de l'embryogenèse, leurs fonctions après la naissance et à l'âge adulte demeurent moins bien caractérisées. Plusieurs gènes *Hox* sont exprimés chez l'adulte selon un profil spécifique à chaque organe. Ainsi, les gènes *Hox* sont impliqués dans les hémopathies malignes et sont également actifs au cours de l'hématopoïèse. L'analyse des souris déficientes pour *Hoxa9* a d'ailleurs clairement établi que l'inactivation de ce gène affecte l'ontogénèse des lignées myéloïdes et lymphoïdes, suggérant un rôle des gènes *Hox* dans le devenir de ces lignages cellulaires [38].

L'analyse de modèles animaux déficients pour les gènes *Hox* a également révélé des phénotypes inattendus. Ainsi, la triple mutation des gènes *Hoxa9*, *Hoxb9* et *Hoxd9* provoque une hypoplasie de la glande mammaire, l'absence de production de lait chez les femelles, incapables de nourrir leurs petits [39]. Chez ces

femelles mutantes, alors que la morphogenèse de la glande s'effectue normalement lors de la gestation, la ramification des canaux lactifères est déficiente lors de la lactation, en raison d'une anomalie de croissance et de différenciation. Les gènes *Hoxa9*, *Hoxb9* et *Hoxd9* sont exprimés dans le mésenchyme, ce qui suggère ainsi leur participation au contrôle des interactions épithélio-mésenchymateuses [39].

A l'instar des gènes du groupe paralogue 9, *Hoxc13* semble impliqué dans des fonctions autres qu'embryonnaires [40]. L'inactivation du gène *Hoxc13* entraîne une diminution de la survie des animaux, seulement 10 % des individus *Hoxc13*^{-/-} atteignant l'âge adulte. La cause de la mortalité n'est pas connue, mais les animaux périssent entre 7 et 14 jours après la naissance, probablement en raison d'un déficit métabolique ou nutritionnel. Au cours de l'embryogenèse, *Hoxc13* s'exprime dans les follicules pileux et dans ceux des vibrisses, dans les papilles filiformes de la langue et dans les ongles. Or, chez les souris *Hoxc13*^{-/-}, l'absence complète de poils, de vibrisses, et de papilles filiformes de la langue constitue le phénotype le plus marquant. Il est possible que la production de protéines structurales, requises pour la formation des poils et de l'épine des papilles filiformes, soit placée sous le contrôle de *Hoxc13*. Il reste à définir si *Hoxc13* est nécessaire à l'expression des protéines structurales ou s'il agit sur la prolifération des cellules précurseurs [40].

Conclusions

L'analyse des souris déficientes pour les gènes *Hox* a révélé que la fonction de ces différents gènes est loin d'être limitée à la détermination des squelettes axial et appendiculaire, et qu'elle est essentielle aux processus d'organogenèse. De façon générale, au cours de l'embryogenèse, le lien de co-linéarité entre la position d'un gène à l'intérieur des complexes *Hox* et son site d'action est respecté lors de la morphogenèse de divers organes. En ce qui concerne le développement postnatal, des études complémentaires sont nécessaires afin de définir s'il existe une relation

entre l'organisation structurale des complexes *Hox* et l'expression dans le temps et/ou l'espace. Les mécanismes d'action des gènes *Hox*, ainsi que les cascades moléculaires dans lesquels ils interviennent lors de l'organogenèse sont encore mal identifiés, même si certaines données suggèrent l'existence de voies communes. L'élucidation de ces questions en suspens constitue un défi pour l'avenir ■

RÉFÉRENCES

- McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992; 68: 283-302.
- Greer JM, Puetz J, Thomas KR, Capecchi MC. Maintenance of functional equivalence during paralogous *Hox* gene evolution. *Nature* 2000; 403: 661-5.
- Krumlauf R. *Hox* genes in vertebrate development. *Cell* 1994; 78: 191-201.
- Duboule D. Vertebrate *Hox* gene regulation: clustering and/or colinearity? *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 514-8.
- Kessel M, Gruss P. Murine developmental control genes. *Science* 1990; 249: 374-9.
- Hunt P, Gulisano M, Cook M, et al. A distinct *Hox* code for the branchial region of the head. *Nature* 1991; 353: 861-4.
- Charité J, de Graaff W, Shen S, Deschamps J. Ectopic expression of *Hoxb-8* causes duplication of the ZPA in the forelimb and homeotic transformation of the axial structures. *Cell* 1994; 78: 598-601.
- Pollock RA, Jay G, Bieberich CJ. Altering the boundaries of *Hox3.1* expression: evidence for antipodal gene regulation. *Cell* 1992; 71: 911-23.
- Stein S, Fritsch R, Lemaire L, Kessel M. Checklist: vertebrate homeobox genes. *Mech Dev* 1996; 55: 91-108.
- Jeannotte L, Lemieux M, Charron J, Poirier F, Robertson EJ. Specification of axial identity in the mouse: role of the *Hoxa-5* (*Hox1.3*) gene. *Genes Dev* 1993; 7: 2085-96.
- Rijli F, Chambon P. Genetic interactions of *Hox* genes in limb development from compound mutants. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 481-7.
- Aubin J, Lemieux M, Tremblay M, Behringer R, Jeannotte L. Transcriptional interferences at the *Hoxa4/Hoxa5* locus: importance of correct *Hoxa5* expression for the proper specification of the axial skeleton. *Dev Dyn* 1998; 212: 141-56.
- Rancourt DE, Tsuzuki T, Capecchi MR. Genetic interaction between *hoxb-5* and *hoxb-6* is revealed by nonallelic noncomplementation. *Genes Dev* 1995; 9: 108-22.
- Oliver G, De Robertis EM, Wolpert L, Tickle C. Expression of a homeobox gene in the chick wing bud following application of retinoic acid and grafts of polarizing region tissue. *EMBO J* 1990; 9: 3093-9.
- Cohn MJ, Tickle C. Developmental basis of limbless and axial patterning in snakes. *Nature* 1999; 399: 474-9.
- Aubin J, Lemieux M, Tremblay M, Bérard J, Jeannotte L. Early postnatal lethality in *Hoxa-5* mutant mice is attributable to respiratory tract defects. *Dev Biol* 1997; 192: 432-45.
- Aubin J, Chailier P, Ménard D, Jeannotte L. Loss of *Hoxa5* gene function in mice perturbs intestinal maturation. *Am J Physiol* 1999; 277: 965-73.
- Manley NR, Capecchi MR. *Hox* group 3 paralogous genes regulate the development and migration of the thymus, thyroid and parathyroid glands. *Dev Biol* 1998; 195: 274-88.
- Rossel M, Capecchi MR. Mice mutant for both *Hoxa1* and *Hoxb1* show extensive remodeling of the hindbrain and defects in craniofacial development. *Development* 1999; 126: 5027-40.
- Cardoso WV. Transcription factors and pattern formation in the developing lung. *Am J Physiol* 1995; 13: 429-42.
- Lufkin T, Dierich A, LeMeur M, Mark M, Chambon P. Disruption of the *Hox-1.6* homeobox gene results in defects in a region corresponding to its rostral domain of expression. *Cell* 1991; 66: 1105-19.
- Bienz M. Homeotic genes and positional signalling in the Drosophila. *Trends Genet* 1994; 10: 22-6.
- Roberts DJ, Johnson RL, Burke AC, Nelson CE, Morgan BA, Tabin C. Sonic hedgehog is an endodermal signal inducing *Bmp-4* and *Hox* genes during induction and regionalization of the chick hindgut. *Development* 1995; 121: 3163-74.
- Boulet AM, Capecchi MR. Targeted disruption of *Hoxc-4* causes esophageal defects and vertebral transformations. *Dev Biol* 1996; 177: 232-49.
- Kondo T, Dollé P, Zakany J, Duboule D. Function of posterior *HoxD* genes in the morphogenesis of the anal sphincter. *Development* 1996; 122: 2651-9.
- Warot X, Fromental-Ramain C, Fraulob V, Chambon P, Dollé P. Gene-dosage-dependent effects of the *Hoxa-13* and *Hoxd-13* mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts. *Development* 1997; 124: 4781-91.
- Tennyson VM, Gershon MD, Wade PR, Crotty DA, Wolgemuth DJ. Fetal development of the enteric nervous system of transgenic mice that overexpress the *Hoxa-4* gene. *Dev Dyn* 1998; 211: 269-91.

RÉFÉRENCES

28. Reuter R, Scott MP. Expression and function of the homeotic genes *Antennapedia* and *Sex combs reduced* in the embryonic midgut of *Drosophila*. *Development* 1990; 109: 289-303.
29. Rijli FM, Matyas R, Pellegrini M, et al. Cryptorchidism and homeotic transformations of spinal nerves and vertebrae in *Hoxa-10* mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8185-9.
30. Dollé P, Dierich A, LeMeur M, et al. Disruption of the *Hoxd-13* gene induces localized heterochrony leading to mice with neonatal limbs. *Cell* 1993; 75: 431-41.
31. Favier B, LeMeur M, Chambon P, Dollé P. Axial skeleton homeosis and forelimb malformations in *Hoxd-11* mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 310-4.
32. Hsieh-Li H, Witte DP, Weinstein M, et al. *Hoxa 11* structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility. *Development* 1995; 121: 1373-85.
33. Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK, Maas R. Mechanisms of reduced fertility in *Hoxa-10* mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal *Hoxa-10* expression. *Development* 1996; 122: 2687-96.
34. Podlasek CA, Duboule D, Bushman W. Male accessory sex organ morphogenesis is altered by loss of function of *Hoxd-13*. *Dev Dyn* 1997; 208: 454-65.
35. Kondo T, Zakany J, Innis J, Duboule D. Of fingers, toes and penises. *Nature* 1997; 390: 29.
36. Mortlock DP, Post LC, Innis JW. The molecular basis of hypodactyly (*Hd*): a deletion in *Hoxa13* leads to arrest of digital arch formation. *Nat Genet* 1996; 13: 284-9.
37. Davis AP, Witte DP, Hsieh-Li HM, Potter SS, Capecchi MR. Absence of radius and ulna in mice lacking *hoxa-11* and *hoxd-11*. *Nature* 1995; 375: 791-5.
38. Lawrence HJ, Helgason CD, Sauvageau G, et al. Mice bearing a targeted interruption of the homeobox gene HOXA9 have defects in myeloid, erythroid, and lymphoid hematopoiesis. *Blood* 1997; 89: 1922-30.
39. Chen F, Capecchi MR. Paralogous mouse *Hox* genes, *Hoxa9*, *Hoxb9*, and *Hoxd9*, function together to control development of the mammary gland in response to pregnancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 541-6.
40. Godwin AR, Capecchi MR. *Hoxc13* mutant mice lack external hair. *Genes Dev* 1998; 12: 11-20.

Summary

The role of *Hox* genes during organogenesis in mammals

The *Hox* gene family of transcription factors plays a critical role in the hierarchy of developmental processes. Gene targeting experiments have clearly demonstrated the importance of *Hox* genes in the correct patterning of axial and appendicular skeletons. Moreover, *Hox* genes are involved in several organogenesis processes. Nearly one third of the *Hox* mutations result in a lethal phenotype, but in most cases, skeletal transformations cannot account for the lethality. In this article, we review the implication of *Hox* genes in organogenesis with a particular attention to the *Hoxa5* gene.

TIRÉS À PART

L. Jeannotte.