

Le développement embryonnaire du système mélanocytaire et sa pathologie

Les mélanocytes de la peau constituent l'un des nombreux dérivés de la crête neurale. L'apparition de la pigmentation cutanée résulte donc d'une séquence complexe d'événements cellulaires comprenant l'individualisation des cellules de la crête neurale, la migration des précurseurs mélanocytaires depuis le primordium neural jusqu'à l'épiderme, leur multiplication cellulaire et leur différenciation en cellules productrices de mélanine. Plusieurs découvertes récentes permettent aujourd'hui de mieux comprendre certains mécanismes moléculaires et cellulaires liés au développement normal du précurseur mélanocytaire. Ces données, obtenues par des travaux de recherche fondamentale effectués essentiellement sur des embryons d'oiseau et de souris, éclairent d'un jour nouveau certaines anomalies complexes de la pigmentation cutanée chez l'homme.

Catherine Dulac

La couleur de la peau, de même que celle des poils des mammifères ou des plumes des oiseaux, résulte de l'activité sécrétrice de cellules très spécialisées de l'épiderme, des follicules pileux ou plumaires : les mélanocytes. Ces cellules synthétisent en effet des pigments particuliers, les mélanines, qui, transférées aux cellules épidermiques environnantes, les kératinocytes, confèrent une couleur rousse, brune ou noire selon la nature chimique et la quantité de mélanine formée. Cependant, et contrairement aux autres cellules de l'épiderme, les cellules mélanocytaires ne sont pas produites par l'épiderme lui-même mais résultent de la migration, à un stade très précoce du développement embryonnaire, de certaines cellules de la crête neurale. La crête

neurale des vertébrés est une structure embryonnaire transitoire dérivée de l'ébauche neurale primitive et qui se forme selon un gradient rostro-caudal lors de la fermeture du tube neural (*figure 1*). Peu après sa formation, les cellules de la crête neurale se dissocient les unes des autres et entreprennent une migration sur des distances parfois très grandes en empruntant des voies bien définies à travers les tissus embryonnaires. Elles stoppent leur migration en des sites précis de l'embryon où elles vont achever leur processus de différenciation cellulaire pour donner naissance à des types cellulaires extrêmement variés tels que la plupart des composants du système nerveux périphérique, des cellules pigmentaires et plusieurs catégories de dérivés non neuraux ([1] et références incluses).

ADRESSE

C. Dulac : maître de conférences au Collège de France. Institut d'embryologie cellulaire et moléculaire, 49 bis, avenue de la Belle-Gabrielle, 94736 Nogent-sur-Marne, France.

m/s n° 4 vol. 9, avril 93

RÉFÉRENCES

1. Le Douarin NM. *The Neural Crest*. Cambridge : Cambridge University Press, 1992.
2. Le Douarin NM. Particularités du noyau interphasique chez la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*). Utilisation de ces particularités comme marquage biologique. *Bull Biol Fr Belg* 1969 ; 103 : 435-52.
3. Le Douarin NM, Teillet MA, Couly G. Chimères embryonnaires et développement du système nerveux. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 228-44.
4. Cohen AM, Konigsberg IR. A clonal approach to the problem of neural crest determination. *Dev Biol* 1975 ; 46 : 262-80.
5. Sieber-Blum M, Cohen AM. Clonal analysis of quail neural crest cells are pluripotent and differentiate *in vitro* the absence of non-crest cells. *Dev Biol* 1980 ; 80 : 96-106.
6. Baroffio A, Dupin E, Le Douarin NM. Clone-forming ability and differentiation potential of migratory neural crest cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 5325-9.
7. Dupin E, Baroffio A, Dulac C, Cameron-Curry P, Le Douarin NM. Schwann-cell differentiation in clonal cultures of the neural crest, as evidenced by the anti-Schwann cell myelin protein monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1119-23.
8. Baroffio A, Dupin E, Le Douarin NM. Common precursors for neural and mesectodermal derivatives in the cephalic neural crest. *Development* 1991 ; 112 : 301-5.
9. Teillet MA. Recherches sur le mode de migration et la différenciation des mélanoblastes cutanés chez l'embryon d'oiseau : étude expérimentale par la méthode des greffes hétérospécifiques entre embryons de caille et de poulet. *Ann Embryol Morphogen* 1971 ; 4 : 95-109.
10. Serbedzija G, Fraser SE, Bronner-Fraser M. Pathways of trunk neural crest cell migration in the mouse embryo revealed by vital dye analysis. *Development* 1990 ; 108 : 605-12.
11. Hirobe T. Control of melanocyte proliferation and differentiation in the mouse epidermis. *Pigment Cell Res* 1992 ; 5 : 1-11.
12. Mintz B. Gene control of mammalian pigmentary differentiation. I. Clonal origin of melanocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1967 ; 58 : 344-51.



Figure 1. **Formation de la crête neurale au niveau mésencéphalique d'un embryon de caille âgé d'un jour et demi (stade 7 somites).** Les cellules de la crête neurale s'individualisent lors de la fermeture de la gouttière neurale forment une structure embryonnaire transitoire située entre l'ectoderme superficiel et le tube neural. Les cellules de la crête neurale vont ensuite poursuivre leur migration à travers les tissus embryonnaires jusqu'à des sites précis où elles vont achever leur processus de différenciation.

L'analyse de l'émergence des différents lignages cellulaires issus de la crête neurale a permis d'établir, pour chaque niveau de l'axe neural, l'origine embryonnaire commune des cellules pigmentaires et de certains autres dérivés de la crête, ainsi que l'existence, dans la crête en migration, de précurseurs pluripotents. Ces données permettent de mieux comprendre des maladies complexes, telles que la neurofibromatose de von Recklinghausen ou le syndrome de Waardenburg, dans lesquelles des anomalies de la pigmentation sont associées à des désordres touchant certains autres dérivés de la crête neurale. L'identification récente de gènes dont l'altération est à l'origine de ces maladies révèle certains mécanismes moléculaires communs au développement des mélanocytes et d'autres dérivés de la crête neurale. D'autres gènes participant plus spécifiquement au contrôle de la prolifération et/ou de la différenciation des mélanoblastes ont été récemment isolés. L'altération de l'un d'entre eux au moins, le proto-oncogène *c-kit*, a été directement corrélée à l'hypomélanose de certains patients atteints de piebaldisme* (*m/s* n° 2, vol. 8, p. 185).

Crête neurale et ses dérivés

Il a été démontré dès les années 1930, par des expériences d'extirpation ou de transplantation de crêtes neurales d'embryons de vertébrés appartenant à différentes espèces, que cette structure embryonnaire est à l'origine de l'ensemble des cellules pigmentaires du corps, à l'exception de celles de la rétine, qui dérivent de la cupule optique.

La plupart des travaux récents concernant la crête neurale ont été réalisés sur l'embryon d'oiseau. En effet, l'embryon d'oiseau présente l'énorme avantage d'avoir un développement embryonnaire très proche de celui des mammifères tout en restant accessible à l'expérimentation dans l'œuf durant toute l'ontogenèse. De plus des progrès considérables ont pu être réalisés grâce à la mise au point, par Nicole Le Douarin, d'une technique de marquage cellulaire stable fondée sur une différence de structure du noyau de deux espèces d'oiseaux taxinomiquement proches : le poulet et la

* Piebaldisme : anomalie de la pigmentation des zones ventrales et des extrémités des membres.

caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) [2, 3]. Il a été alors possible, par association de cellules des deux espèces, de construire des embryons chimeres dont le développement est normal et dans lesquels les cellules d'origine caille ou poulet pourront être distinguées tout au long de l'ontogenèse, voire après l'éclosion et au cours de la vie adulte. Ainsi, le remplacement d'un segment de tube neural d'un embryon de poulet par un fragment équivalent prélevé chez un embryon de caille (figure 2) a permis non seulement d'identifier l'ensemble des structures dérivées de la crête neurale, mais également d'établir avec précision leurs niveaux d'origine le long du névraxe et les voies de migration des cellules précurseurs.

La liste des dérivés de la crête neurale ainsi établie révèle une extrême diversité de types cellulaires (Tableau I). La cartographie, grâce à l'utilisation du système caille/poulet, des niveaux d'origine de ces dérivés le long de l'axe neural montre que la crête neurale est divisée en régions qui ne fournissent qu'un nombre limité de types cellulaires. Ainsi, seule la région céphalique de la crête neurale donne naissance à la fois à des dérivés de types méséctodermique, neural et pigmentaire. La région troncale est à l'origine de la formation des ganglions nerveux sensoriels et sympathiques mais ne participe pas au développement du système nerveux entérique, qui provient de la zone vagale. Les cellules pigmentaires sont produites par la crête neurale à tous les niveaux du névraxe.

Émergence de la lignée mélanocytaire

La compréhension du processus de détermination et de différenciation des cellules pigmentaires a récemment progressé dans deux directions : (1) l'analyse des potentialités individuelles des cellules de la crête neurale, permettant d'identifier la nature des précurseurs des mélanocytes ; (2) la découverte de nouveaux facteurs synthétisés par le microenvironnement du mélanoblaste et indispensables à son développement.

La détermination, grâce à l'utilisation du système de greffes caille/poulet, des territoires présumptifs des dérivés

Tableau I DÉRIVÉS DE LA CRÊTE NEURALE	
Neurones	<ul style="list-style-type: none"> • Ganglions sensoriels de certains nerfs crâniens • Ganglions spinaux • Ganglions des systèmes nerveux autonomes sympathiques, parasymphatiques et entériques
Cellules non neuronales du système nerveux périphérique	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules de Schwann • Cellules satellites des ganglions nerveux • Cellules gliales entériques
Cellules endocrines ou para-endocrines	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules médullaires de la surrenale • Paraganglions adrénériques • Cellules à calcitonine • Cellules de type I du corps carotidien
Cellules pigmentaires	
Méninges	<ul style="list-style-type: none"> • Hémisphères cérébraux
Méséctoderme	<ul style="list-style-type: none"> • Squelette viscéral et facial et partie du squelette crânial • Odontoblastes • Tissu conjonctif et musculaire de la paroi des gros vaisseaux dérivés des arcs aortiques • Tissu conjonctif des glandes pituitaires, lacrymales, salivaires, thyroïde, parathyroïdes et du thymus • Contribution aux muscles striés de la face et du cou

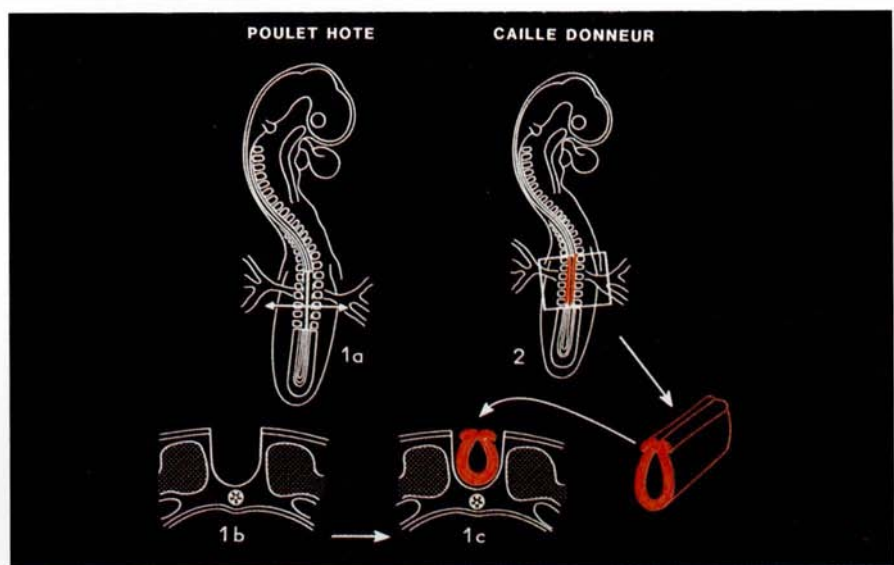


Figure 2. **Réalisation de chimères de tube neural.** Un fragment de tube neural est excisé chez un embryon de poulet à un niveau où les cellules de crête neurale n'ont pas encore commencé leur migration. Un fragment équivalent est prélevé chez un embryon de caille de même stade et greffé chez le poulet. Dans l'exemple montré ici, l'âge des embryons de caille et de poulet ainsi que la position du greffon chez le donneur et l'hôte sont identiques. Ce type de greffe permet d'identifier l'ensemble des structures dérivées de la crête neurale à ce niveau précis de l'axe neural et de suivre leurs différentes voies de migration.

RÉFÉRENCES

13. Couly G, Le Douarin NM. Mapping of the early neural primordium in quail-chick chimeras. II. The prosencephalic neural plate and neural folds : implications for the genesis of cephalic human congenital abnormalities. *Dev Biol* 1987 ; 120 : 198-214.
14. Ota M. Naevus fusco-caeruleus ophtalmo-maxillaris. *Tokyo Med J* 1939 ; 62 : 1243-5.
15. Enjolras O, Riche MC, Merland JJ. Facial portwine stains and Sturge-Weber syndrome. *Pediatrics* 1985 ; 76 : 48-51.
16. Bolande RP. The neurochristopathies. A unifying concept of disease arising in neural crest maldevelopment. *Hum Pathol* 1974 ; 5 : 409-29.
17. Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis. *N Engl J Med* 1981 ; 305 : 1617-27.
18. Viskochil D, Buchberg AM, Xu G, et al.. Deletions and a translocation interrupt a clone gene at the neurofibromatosis type I locus. *Cell* 1990 ; 62 : 187-92.
19. Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, et al. Type I neurofibromatosis gene ; identification of a large transcript disrupted in three FI patients. *Science* 1990 ; 249 : 181-6.
20. Ballester R, Marchuk D, Boguski M, et al. The NFI locus encodes a protein functionally related to mammalian GAP and yeast IRA proteins. *Cell* 1990 ; 63 : 851-9.
21. Xu G, Lin B, Tanaka K, Dunn D, Wood D, Gesteland R, White R, Weiss R, Tamanoi F. The catalytic domain of the neurofibromatosis type I gene product stimulates Ras GTPase and complements ira mutants of *S. cerevisiae*. *Cell* 1990 ; 63 : 835-41.
22. Martin GA, Viskochil D, Bollag G, et al. The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with Ras p21. *Cell* 1990 ; 63 : 843-9.
23. De Cluc JE, Papageorge AG, Fletcher JA, et al. Abnormal regulation of mammalian p21 ras contributes to malignant tumor growth in von Recklinghausen (type 1) neurofibromatosis. *Cell* 1992 ; 69 : 265-73.
24. Basu TN, Gutman DH, Fletcher JA, et al. Aberrant regulation of ras proteins in malignant tumor cells from type 1 neurofibromatosis patients. *Nature* 1992 ; 356 : 713-5.

de la crête neurale a montré que, selon leur niveau d'origine le long de l'axe neural, la destinée des cellules de crête est restreinte à un certain nombre de phénotypes. Cependant, cette régionalisation de la crête neurale en territoires présomptifs distincts ne correspond pas à une détermination rigide de ces zones vers un type particulier de différenciation. En effet, il a été montré que lorsque la position des cellules de la crête neurale est modifiée avant le début de leur migration, leur différenciation cellulaire s'effectue en accord avec le nouveau microenvironnement rencontré et non selon leur niveau d'origine. Ainsi, chaque niveau de l'axe neural peut fournir l'ensemble des dérivés de la crête neurale si ses cellules sont transplantées dans la zone adéquate de l'embryon. Cette pluripotentialité globale de la crête neurale peut résulter d'une pluripotence individuelle de chaque cellule de crête neurale ou bien de la présence d'un répertoire complet de cellules déjà déterminées. La compréhension des mécanismes permettant l'émergence des différents lignages issus de la crête neurale est donc directement liée à la possibilité de connaître les potentialités de différenciation d'une cellule unique. Les premiers travaux en ce sens ont été réalisés par Cohen et Konigsberg [4] et Sieber-Blum et Cohen [5], qui ont cultivé des cellules de crête neurale troncale à de très faibles densités cellulaires. Dans ces conditions, la descendance de chaque cellule forme une colonie distincte. Leur analyse a permis d'identifier trois types de précurseurs au sein de la crête neurale : selon qu'ils engendrent des clones entièrement pigmentés, non pigmentés et mixtes. Cette étude démontra pour la première fois l'hétérogénéité des cellules de la crête neurale en ce qui concerne leur potentialité de différenciation mélanocytaire.

Une approche similaire a récemment été développée à l'Institut d'embryologie cellulaire et moléculaire qui a permis de suivre l'émergence d'un répertoire phénotypique étendu à partir de cultures de cellules uniques [6-8]. Cette technique a consisté à prélever une cellule unique à partir d'une suspension cellulaire de crête neurale mésencéphalique, à l'aide d'une micropipette et sous le

contrôle du microscope. Cette cellule est ensuite déposée dans un milieu de culture complexe, sur une couche nourricière de fibroblastes de souris dont la croissance a été arrêtée par un traitement à la mitomycine. Ces conditions se sont montrées particulièrement favorables pour la prolifération cellulaire et l'émergence des principaux lignages issus de la crête neurale : diverses catégories de neurones, cellules gliales, cellules pigmentaires, dérivés méséctodermiques.

L'analyse de plus de 500 cultures clonales a montré que les cellules de crête neurale en migration possèdent des potentialités de différenciation extrêmement hétérogènes (figure 3). La présence de cellules pigmentaires a été trouvée associée à celle de cellules gliales, de neurones, de cartilage (identifiant la voie de différenciation méséctodermique), voire à la combinaison de plusieurs de ces dérivés, démontrant clairement qu'au stade de la migration des cellules de crête neurale le lignage des cellules pigmentaires n'est pas encore ségrégué des lignages neuraux et méséctodermiques. Par ailleurs, l'extrême variété des combinaisons de phénotypes obtenues suggère qu'au cours de leur migration les cellules de la crête neurale subissent une restriction de leurs potentialités selon un mécanisme stochastique et asynchrone plutôt que séquentiellement ordonné. Ainsi, les cellules de la crête neurale n'atteignent pas leur site d'arrêt de migration dans un état identique de détermination, et le microenvironnement va donc jouer un rôle crucial en dirigeant les précurseurs multipotentiels vers un phénotype précis et en permettant la survie et la maturation de certaines sous-populations déjà déterminées.

Migration des cellules pigmentaires présomptives

Il a pu être établi chez l'oiseau grâce au système caille/poulet [9], et récemment confirmé chez les mammifères après coloration des cellules de crête avec un colorant vital, le DiI [10], que la migration des futures cellules pigmentaires s'effectuait selon une voie bien particulière. En effet, une sous-population de cellules de crête neurale migre entre le dermomyo-

tome et l'ectoderme selon un trajet dorso-latéral (figure 4). Après une phase de prolifération cellulaire intense dans le mésoderme sous-épidermique, les mélanoblastes franchissent la lame basale sous-épidermique pour coloniser l'épiderme. Ce passage du derme à l'épiderme intervient plusieurs jours après le début de la migration des précurseurs de la crête neurale [11], entre le 11^e et le 12^e jour de développement chez l'embryon de souris et à la 8^e semaine de vie intra-utérine chez l'homme, puis est rapidement suivi de la différenciation cellulaire des mélanoblastes en mélanocytes mûrs avec formation de dendrites et synthèse de pigments. L'étendue de la zone cutanée pigmentée consécutive à la greffe d'un fragment transversal de tube neural de caille chez un embryon de poulet de souche albinos à un niveau défini

de l'axe neural a montré que les précurseurs des cellules pigmentaires migrent en nappe pour coloniser une zone cutanée transversale débordant largement les limites antérieure et postérieure du greffon. Une autre expérience, réalisée par agrégation de blastocystes provenant de souches de souris pigmentées et albinos [12], a permis de démontrer de façon élégante qu'un nombre limité de précurseurs suffisaient à engendrer l'ensemble de la pigmentation cutanée de la souris, chaque cellule progénitrice étant responsable d'un clone de mélanocytes disposés en une bande perpendiculaire à l'axe du corps. La pigmentation d'un segment particulier du corps résulte donc de la différenciation d'un nombre restreint de cellules précurseurs ayant quitté l'axe neural à un niveau défini et qui partagent une origine embryonnaire commune avec des dérivés de la crête

neurale appartenant à d'autres lignages cellulaires. Une mutation somatique affectant un territoire précis du primordium neural est donc susceptible d'affecter la différenciation, à ce niveau du corps, de plusieurs dérivés de nature différente. Ce mécanisme a été proposé [13] pour expliquer les anomalies constatées chez des patients pour lesquels un naevus d'Ota — une hypermélanose de la sclérotique et de la peau du visage innervée par les branches faciales du nerf trijumeau [14] — est associé au syndrome de Sturge-Weber, anomalie de la vascularisation du derme de la même zone du visage [15]. Dans ce cas, deux dérivés de la crête neurale sont affectés : le mésenchyme entourant les vaisseaux sanguins du visage et les cellules pigmentaires de la même région.

Neurofibromatose de von Recklinghausen

L'extrême diversité des dérivés issus de la crête neurale a souvent été corrélée à la multiplicité des catégories cellulaires impliquées dans les neurocristopathies. Le terme de neurocristopathies, proposé par Bolande en 1974 [16], regroupe un certain nombre de désordres apparemment très disparates puisqu'ils touchent des organes et des types cellulaires très variés (la peau, certains vaisseaux, des tissus nerveux, les méninges, des tissus endocrines...). Ces maladies ont cependant une pathogénie commune puisqu'elles résultent de lésions atteignant principalement des dérivés de la crête neurale.

L'exemple le plus frappant de ce type d'affections est la maladie de von Recklinghausen ou neurofibromatose de type 1 (NF1), une anomalie génétique à transmission autosomique dominante dont le *locus* est situé sur le chromosome 17 et dont l'incidence très élevée (une naissance sur 3 500) en fait une des affections génétiques les plus fréquentes chez l'homme [17]. La NF1 est une maladie extrêmement polymorphe, caractérisée, dans la plupart des cas, par une pigmentation anormale de la peau (taches « café au lait »), des neurofibromes (tumeurs bénignes des nerfs périphériques), des tumeurs de l'iris dues à des amas de mélanocytes

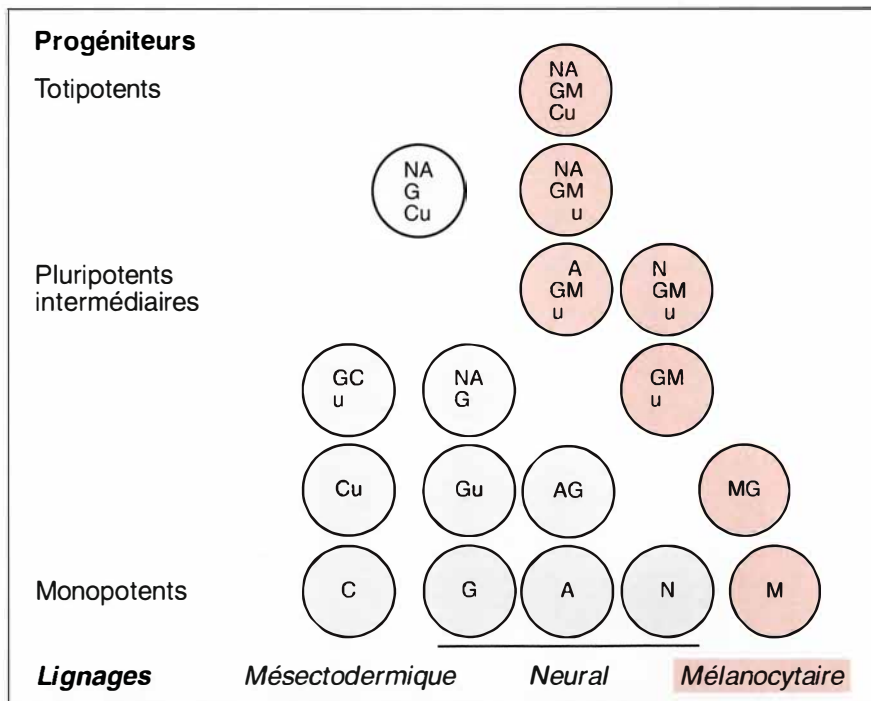


Figure 3. Schéma illustrant les différents types de progéniteurs présents dans la crête mésencéphalique en cours de migration et identifiés par l'analyse des phénotypes exprimés en cultures clonales. Chaque cercle correspond à un type de progéniteur défini et classé selon les combinaisons de types cellulaires qu'il engendre in vitro. N : neurones exprimant des protéines de neurofilaments, A : cellules adrénérgiques identifiées par la présence de tyrosine hydroxylase, M : mélanocytes identifiés par la présence de pigment, G : cellules gliales, C : cellules cartilagineuses ; u : lignage non identifié. Les cellules de crête neurale dont la descendance contient des mélanocytes sont indiquées en rose. L'extrême diversité de phénotypes et de combinaisons de phénotypes trouvés dans les clones contenant des cellules pigmentaires démontre qu'au stade de la migration des cellules de la crête neurale le lignage mélanocytaire ne s'est pas encore individualisé des lignages neuraux et mésectodermiques.

RÉFÉRENCES

25. Ly Y, Bollag G, Clark R, *et al.* Somatic mutations in the neurofibromatosis gene in human tumors. *Cell* 1992 ; 69 : 275-81.
26. Daston MM, Scrabble H, Nordlund M, *et al.* The protein product of the neurofibromatosis type 1 gene is expressed at highest abundance in neurons, Schwann cells, and oligodendrocytes. *Neuron* 1992 ; 8 : 415-28.
27. Ortonne JP. Picbaldism, Waardenburg's syndrome and related disorders neural crest depigmentation syndromes ? *Dermatol Clin* 1988 ; 6 : 205-16.
28. Epstein DJ, Vekemans M, Gros P. *Splotch* (Sp2h), a mutation affecting development of the mouse neural tube, shows a deletion within the paired homeodomain of *Pax-3*. *Cell* 1991 ; 67 : 767-74.
29. Baldwin T, Hoth C, Amos J, *et al.* An exonic mutation in the HuP2 paired domain gene causes Waardenburg's syndrome. *Nature* 1992 ; 355 : 637-9.
30. Tassabehji M, Read A, Newton V, *et al.* Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the *Pax-3* paired box gene. *Nature* 1992 ; 355 : 635-6.
31. Goulding M, Chalpakakis G, Deutsh U, *et al.* *Pax-3*, a novel murin DNA binding protein expressed during early neurogenesis. *EMBO J* 1991 ; 10 : 1135-47.
32. Moase CE, Trasler DG. Spinal ganglia reduction in the *Splotch*-delayed mouse neural tube defect mutant. *Teratology* 1990 ; 40 : 67-75.
33. Moase CE, Trasler DG. Delayed neural crest cell emigration from Sp and Spd mouse neural tube explants. *Teratology* 1990 ; 42 : 171-82.
34. Goridis C, Brunet JF. N-CAM : structural diversity, function and regulation of expression. *Semin Cell Biol* 1992 ; 3 : 189-97.
35. Moase CE, Trasler DG. N-CAM alterations in *Splotch* neural tube defect mouse embryos. *Development* 1991 ; 113 : 1049-58.
36. Chabot B, Stephenson D, Chapman V, *et al.* The proto-oncogene *c-kit* encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse *W* locus. *Nature* 1988 ; 335 : 88-9.
37. Geissler E, Ryan M, Housman D. The dominant-white spotting (*W*) locus of the mouse encodes the *c-kit* proto-oncogene. *Cell* 1988 ; 55 : 185-92.

(nodules de Lisch), parfois associés à des gliomes optiques, un handicap intellectuel, des lésions osseuses et vasculaires, et à une incidence élevée de tumeurs malignes particulières telles que les neurofibrosarcomes, les phéochromocytomes, les astrocytomes et les rhabdomyosarcomes embryonnaires.

La prédisposition à la NF1 est la conséquence d'une altération du gène *NF1* par translocation, délétion et mutation ponctuelle qui interrompent la séquence codante [18, 19]. La séquence en acides aminés correspondant à ce gène prédit une protéine hydrophile de grande taille appelée neurofibromine. Une portion de cette séquence montre une identité de 25 % avec la protéine de levure IRA

et une homologie plus faible avec la protéine p21^{ras} *GTPase activating protein* (GAP) de mammifère [20-22]. Ces deux molécules sont des protéines inactivant le produit du gène *ras* en catalysant sa conversion de la forme active, liée au GTP, à la forme inactive après hydrolyse du GTP. Il a été montré que ce domaine de la neurofibromine pouvait inhiber l'activité du gène humain *H-ras* et activer *in vitro* l'activité GTPase de la protéine p21^{ras}. Des régulations anormales de Ras ont effectivement été constatées dans des tumeurs associées ou non à la NF1 [23-25]. Le produit du gène *ras* jouant un rôle très important dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaires, on peut émettre l'hypothèse que la

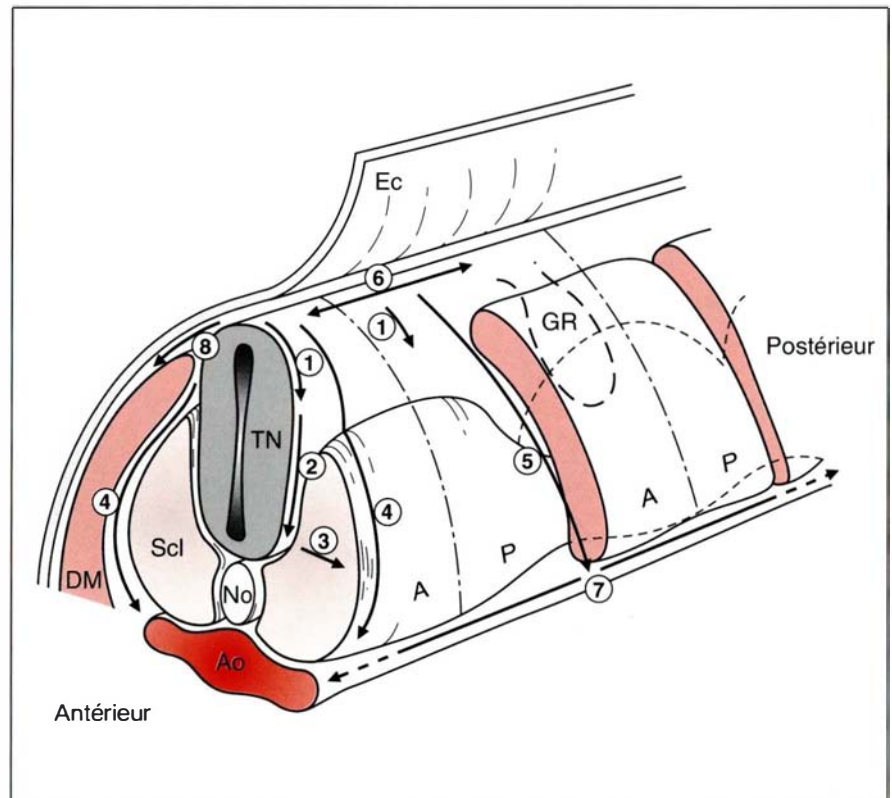


Figure 4. **Représentation schématique des différentes voies de migration des cellules de la crête neurale au niveau tronc d'un embryon de 3 jours.** Après avoir quitté le tube neural (TN) (1), les cellules de la crête neurale migrent selon un trajet dorso-ventral entre le tube neural et le sclérotome (Scl) (2), ou bien dans la partie antérieure (A) du somite pour participer à la formation du ganglion rachidien (GR) (3). D'autres cellules migrent entre le sclérotome et le dermomyotome (DM) (4) ou entre deux somites consécutifs (5) pour atteindre l'aorte dorsale (Ao) au niveau de laquelle se forment les chaînes sympathiques primaires. Les cellules de la crête neurale peuvent aussi suivre une voie longitudinale sous l'ectoderme (Ec) (6) ou le long de l'aorte dorsale (7). Enfin, les futures cellules pigmentaires suivent une voie de migration particulière entre l'ectoderme et le dermomyotome (8). No : notochorde.

neurofibromine normale serait impliquée dans la régulation de la multiplication et de l'état de différenciation des cellules dans lesquelles elle est exprimée (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 471). De premières études montrent une forte expression de la neurofibromine par les cellules de Schwann et certains neurones du système nerveux périphérique, dérivés de la crête neurale, mais également par certaines cellules du système nerveux central, issues du tube neural [26]. Ces premiers résultats montrent une bonne corrélation avec les proliférations cellulaires anormales et les problèmes neurologiques constatés dans la neurofibromatose de type 1. La maladie apparaît cependant liée à l'ensemble des dérivés neuro-ectodermiques plutôt que des seuls dérivés de la crête neurale. Des travaux plus approfondis sont encore nécessaires pour comprendre comment les mutations du gène *NFI* prédisposent les patients à des manifestations cliniques aussi diverses.

Gène *pax-3* et le syndrome de Waardenburg

Le syndrome de Waardenburg de type 1 est une anomalie génétique humaine à transmission autosomale dominante dont le *locus* est situé sur le chromosome 2 [27]. Cette maladie se traduit essentiellement par des zones d'hypopigmentation de la peau et de l'iris très souvent associées à une surdité uni- ou bilatérale et pouvant s'expliquer par une anomalie du développement de la crête neurale touchant à la fois les cellules pigmentaires et les ganglions nerveux associés à l'oreille interne.

Des publications récentes montrent que le syndrome de Waardenburg, de même qu'une lignée de souris mutante, la souris *Spotch*, résultent d'une anomalie dans le gène *pax-3* [28-30] (*m/s* n° 4, vol. 8, p. 303). Ce gène fait partie de la famille des gènes *pax* exprimés chez les mammifères et homologues des gènes de drosophile *paired* qui codent pour des facteurs de transcription contenant deux motifs se liant à l'ADN, un domaine *paired* et un domaine à *homeobox*, et impliqués dans le contrôle du développement

embryonnaire. Le gène *pax-3* est exprimé dans la zone dorsale du tube neural, incluant la région de l'épithélium neural d'où est originaire la crête neurale [31]. Les souris *Spotch* hétérozygotes ont des anomalies pigmentaires et auditives très comparables à celles observées chez les patients atteints de syndrome de Waardenburg, alors que les souris homozygotes ont des défauts touchant un nombre beaucoup plus élevé de dérivés de la crête neurale avec, en particulier, une réduction de la taille des ganglions rachidiens et des anomalies des nerfs périphériques. Ces souris présentent également des anomalies du système nerveux central telles que des anomalies de la fermeture du tube (*spina bifida*). Des expériences réalisées *in vitro* montrent que les cellules de la crête neurale de ces souris mutantes sont en nombre réduit et ont une migration retardée [32, 33]. Ces données suggèrent un rôle de *pax-3* dans le contrôle très précoce du développement de la crête neurale et, plus généralement, des cellules dérivées de la zone dorsale du tube neural. Des travaux récents impliquent que les gènes de certaines molécules d'adhésion cellulaire sont des candidats intéressants comme cibles de l'action de facteurs de transcription tels que *pax-3*. En effet, les promoteurs de plusieurs molécules d'adhérence, telles N-CAM et la cytotactine, contiennent une séquence pouvant se lier aux homéodomains et une expression anormale de N-CAM a par ailleurs été reportée chez le mutant *Spotch* [34, 35]. L'analyse de différentes mutations touchant le gène *pax-3* permettra peut-être de mieux comprendre la grande variabilité des désordres associés au syndrome de Waardenburg.

Facteurs du développement des mélanoblastes

Si, comme nous l'avons vu précédemment, il existe de très nombreuses étapes de développement communes aux précurseurs de mélanocytes et des autres dérivés de la crête neurale, la maturation des mélanoblastes en mélanocytes implique des mécanismes spécifiques à ce lignage particulier de la crête. En particulier, les

facteurs du microenvironnement cellulaire rencontré par le mélanoblaste jouent un rôle crucial pour stimuler sa prolifération et sa différenciation. L'hormone α MSH stimule la différenciation des mélanocytes de souris *in vitro* par induction de l'activité tyrosinase, translocation des mélanosomes et augmentation de la dendritogenèse. Cette action se ferait, en partie du moins, par l'intermédiaire de l'AMPc. Cependant, si l' α MSH semble être impliquée *in vivo* dans la variation saisonnière de la couleur du pelage de certains animaux, son action chez l'homme et son implication dans les stades embryonnaires de la mélanogenèse restent à démontrer. Le bFGF semble également intervenir dans le contrôle de la mélanogenèse en favorisant le taux de prolifération des mélanocytes de peau de souris et d'homme. Cependant, ces deux facteurs sont insuffisants pour assurer à eux seuls la mélanogenèse. En effet, leur action ne peut s'effectuer *in vitro* en l'absence de kératinocytes, suggérant l'existence d'autres facteurs importants produits par l'environnement des mélanocytes. Certaines de ces molécules ont pu être identifiées très récemment grâce à l'analyse de certaines souches de souris, espèce pour laquelle on connaît plus de 150 allèles représentant 60 *loci* affectant la couleur du pelage. En particulier, les mutations sur le *locus* W (*white spotting*) affectent, durant l'embryogenèse, le développement des mélanoblastes ainsi que, chez l'homozygote, celui des cellules souches hématopoïétiques et des cellules germinales. Les souris homozygotes sont caractérisées par une absence de pigmentation et souffrent d'anémie macrocytaire, le plus souvent létale, ainsi que de stérilité complète. L'identification du proto-oncogène *c-kit* comme gène du *locus* W a permis de mieux comprendre les effets pléiotropiques de cette mutation [36, 37]. En effet, *c-kit* code pour un récepteur transmembranaire comprenant un domaine à activité tyrosine kinase et représente l'homologue cellulaire de *v-kit*. *v-kit* est l'oncogène d'un rétrovirus félin responsable de sarcomes chez le chat, et dont le caractère transformant résulte d'une délétion du domaine extracellulaire de la molécule rendant constitutive l'acti-

RÉFÉRENCES

38. Fleischman RA, Saltman D, Stastny V, Zncimer S. Deletion of the c-kit proto-oncogene in the human developmental defect piebald trait. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 10885-9.
39. Giebel L, Spritz R. Mutation of the *kit* (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogene in human piebaldism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 8696-9.
40. Copeland N, Gilbert D, Donovan TO, et al. Mast cell growth factor maps near the steel locus on chromosome 10 and is deleted in a number of steel alleles. *Cell* 1990 ; 63 : 175-83.
41. Zsebo K, Wypych J, Mc Niece I, et al. Identification, purification and biological characterisation of hemopoietic stem cell factor from Buffalo rat liver-conditioned medium. *Cell* 1990 ; 63 : 195-201.
42. Huang E, Noika K, Beier D, et al. The hematopoietic growth factor KL is encoded by the SI locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 1990 ; 63 : 225-33.
43. Williams DE, Eisenman J, Baird A, et al. Identification of a ligand for the c-kit protooncogene. *Cell* 1990 ; 63 : 167-74.
44. Motro B, Van der Kooy D, Rossant J, Reich A, Bernstein A. Contiguous pattern of c-kit and steel expression : analysis of mutations at the W and SI loci. *Development* 1991 ; 113 : 1207-21.
45. Nishikawa S, Kusakabe M, Yoshinoga K, et al. *In utero* manipulation of coat color formation by a monoclonal anti-c-kit antibody : two distinct waves of c-kit dependency during melanocyte development. *EMBO* 1991 ; 10 : 211-8.

vité tyrosine kinase. Ainsi, *c-kit* pourrait être impliqué dans le contrôle de la prolifération et/ou de la différenciation cellulaire normale des cellules dans lesquelles il est exprimé. Le phénotype de la souris mutante hétérozygote étant très semblable à celui de patients atteints de piébaldisme, une anomalie de la pigmentation caractérisée par une dépigmentation des zones ventrales et des extrémités des membres, l'ADN de plusieurs patients a été analysé. Dans un petit nombre de cas, le gène *c-kit* apparaît effectivement anormal [38, 39] (*m/s* n° 2, vol. 8, p. 185).

Les mutations sur un autre locus, le locus *Steel*, causent des anomalies dans les trois mêmes lignées — mélanocytaire, hématopoïétique et germinale — que les mutations du locus W. Il existe cependant une différence fondamentale entre les deux types de mutations : les mutations du locus W affectent directement les cellules souches mélanocytaires, hématopoïétiques et germinales et le déficit dans l'un de ces lignages peut être corrigé par un apport de cellules souches d'une souris normale. Au contraire, la greffe de cellules souches d'une souris normale chez une souris mutée sur le locus *Steel* ne corrige pas la mutation, alors que les cellules souches des souris mutées transplantées dans une souris normale se développent normalement. Ainsi, les mutations du locus *Steel* atteignent le microenvironnement des cellules souches et non les cellules souches elles-mêmes (*m/s* n° 10, vol. 6, p. 1016). Il a été montré que le produit du gène *Steel* appelé SCF (*stem cell growth factor*), MGF (*mast cell growth factor*), KL (*kit-ligand*) ou Sf (*Steel factor*) est en fait le ligand de la molécule codée par *c-kit*. Le gène *Steel* pourrait donc représenter un autre candidat pour expliquer les cas de piébaldisme où le gène *c-kit* est normal [40-43]. L'identification du couple de gènes *c-kit/Steel* ouvre des perspectives extrêmement intéressantes pour mieux comprendre la biologie des trois types de cellules souches associées. Ainsi, les gènes *Steel* et *c-kit* sont exprimés sur les lieux de prolifération et de migration des mélanoblastes. De plus, l'injection *in utero* d'anticorps bloquant la fonction du récepteur codé par le gène *c-kit* au stade de la proli-

fération intradermique des mélanoblastes et de leur pénétration dans l'épiderme engendre des souris nouveau-nées totalement dépigmentées alors que des injections à des stades antérieurs ou ultérieurs n'altèrent la coloration du pelage que de façon mineure. Cela suggère un rôle crucial du couple de gènes *c-kit/Steel* lors d'une étape très particulière du développement des mélanoblastes. De plus, l'expression des transcrits de ces deux gènes dans des zones inattendues, telles que certaines zones très particulières du cerveau, font soupçonner un rôle beaucoup plus large au cours du développement et éventuellement des aspects pathologiques passés jusqu'à présent inaperçus [44, 45] ■

Remerciements

L'auteur remercie Madame le professeur Nicole Le Douarin et Anne Baroffio pour leur lecture critique de ce manuscrit.

TIRÉS A PART

C. Dulac.

Summary

The embryonic development of melanocytes and its pathology

Melanocytes of the skin do not originate from the epidermis but from a transient embryonic structure called the neural crest, which derives from the neuroectoderm. The skin pigmentation involves a set of complex developmental mechanisms occurring outside as well as inside the embryonic skin, such as the emergence of the melanocyte cell lineage among neural crest cells, the migration of melanocyte precursors from the neural primordium to the epidermis, cell proliferation and final maturation of melanoblasts into melanin producing cells. Recently published data on avian and rodent neural crest cell and melanocyte development lead to a better understanding of normal melanogenesis and of complex abnormalities of human skin pigmentation.