

La segmentation du mésoderme chez les vertébrés

Contrairement aux apparences, les vertébrés sont des organismes segmentés tout comme les vers et les insectes. L'idée de l'existence d'une segmentation chez les vertébrés n'est pas nouvelle, cependant. Goethe lui-même, en 1820, avait déjà pressenti que le squelette avait une origine segmentaire, mais ce n'est que près d'un demi-siècle plus tard que la démonstration en a été apportée, grâce au développement de l'embryologie. Chez les vertébrés, la segmentation se manifeste en premier lieu au niveau du mésoderme, mais aussi dans le système nerveux. Elle est totalement différente, dans son mode d'organisation et dans sa mise en place, de celle que l'on retrouve chez les invertébrés, et ce n'est pas le moindre des paradoxes de l'évolution que d'avoir sélectionné des voies très diverses pour mener à un même phénomène. Toutefois, comme nous le verrons par la suite, ce sont les mêmes gènes de contrôle qui sont rencontrés lors de la segmentation chez les vertébrés et les invertébrés ; autre paradoxe de l'évolution.

Chez les vertébrés, le segment de base du mésoderme est constitué par le somite (*figure 1*). C'est un tissu sphérique, pair, c'est-à-dire situé de part et d'autre du tube neural, et répété le long de l'axe rostrocaudal dans la partie troncale de l'animal. Les premiers somites apparaissent assez tôt au cours du développement embryonnaire, juste après la gastrulation ; entre le premier et le deuxième jour du développement chez le poulet, durant le huitième jour chez la souris et au cours de la quatrième semaine de gestation chez l'homme. Les somites se forment de façon régulière de l'avant vers l'arrière, à raison d'une paire toutes les une à deux heures chez le poulet, à partir d'une région du mésoderme située dans la moitié postérieure de l'animal, la plaque segmen-

taire, et ce jusqu'à un nombre de paires de somites bien défini et caractéristique de chaque espèce (plus d'une quarantaine chez le poulet). Ainsi les somites les plus rostraux sont les premiers formés, et les plus caudaux sont les derniers apparus. Cette apparition séquentielle des somites est très appréciée des embryologistes car elle permet de déterminer avec une grande précision le stade du développement de chaque individu au cours des premiers jours de l'embryogenèse.

Le somite est typiquement un exemple de tissu embryonnaire transitoire. Peu de temps après sa formation (une dizaine d'heures chez le poulet), il subit une succession très rapide de réorganisations qui vont donner naissance à deux tissus aux caractéristiques structurales et aux potentialités de différenciation très différentes, le dermomyotome et le sclérotome. A partir de ces deux tissus vont se développer le derme, tous les muscles squelettiques axiaux, ceux des membres, et la colonne vertébrale, côtes et disques intervertébraux compris. Chez l'adulte, la segmentation issue des somites ne reste donc apparente que dans les vertèbres. A une différence notable près, toutefois ; chaque vertèbre ne provient pas d'un somite donné, mais de la fusion d'une moitié caudale et d'une moitié rostrale de deux somites consécutifs. Une deuxième segmentation se greffe donc sur la première au cours du développement.

Malgré leur relative simplicité structurale, une sphère !, les somites posent un très grand nombre de problèmes aux différentes familles de biologistes du développement. Leur formation, tout d'abord : comment passe-t-on d'un tissu apparemment homogène et linéaire, la plaque segmentaire, à une structure sphérique et répétée ? Quelle est l'horloge biologique qui permet l'émergence régu-

lière de paires de somites ? Leur devenir ensuite : comment les somites parviennent-ils à se transformer pour donner les muscles squelettiques, le derme et les vertèbres ? Comment et pourquoi la segmentation initiale est-elle remaniée en une segmentation secondaire ? La détermination des différentes populations de cellules qui les composent ou qui en découlent : quand et comment se met-elle en place ? Leur spécificité, aussi : qu'est-ce qui distingue un somite d'un niveau axial donné des autres somites de telle sorte que, par exemple, il n'y ait des côtes que dans la région thoracique ? Enfin, quelle est l'influence des somites sur le développement des autres tissus embryonnaires ?

La plupart des études que nous décrirons par la suite ont trait aux oiseaux (poulet, caille) et à la souris car, du fait des avantages respectifs qu'ils présentent (possibilité d'expérimentation directe sur l'animal et études génétiques), ils ont fait l'objet d'analyses très poussées. D'autres modèles, cependant, ont apporté et continuent d'apporter des informations précieuses sur la question ; c'est le cas, notamment, de certains amphibiens et d'un poisson, le poisson zèbre.

Morphogenèse des somites : pourquoi une telle forme redondante ?

Chez la plupart des vertébrés, la formation et le devenir des somites peut s'apparenter à une succession complexe de transformations de mésenchymes en épithéliums et inversement. En effet, la plaque segmentaire se présente sous la forme d'un cordon cellulaire uniforme, sans polarité définie où les cellules n'ont pas d'orientation préférentielle et offrent des contacts intercellulaires occasionnels (c'est-à-dire un mésenchyme). Le somite, en revanche, se compose d'une couche compacte de cellules

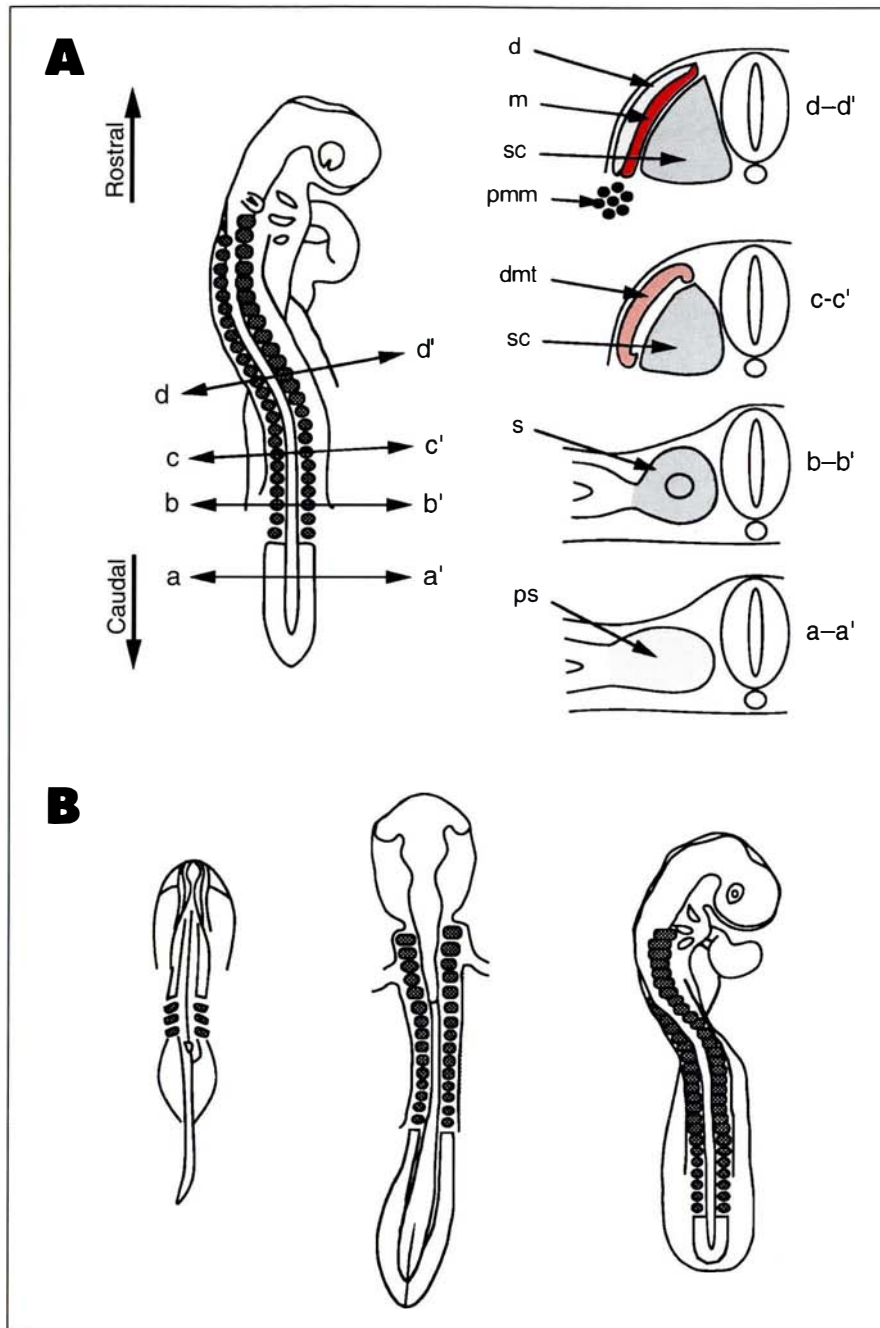


Figure 1. **Structure et organisation des somites.** (A) Schéma d'un embryon de poulet de 25 somites (2,5 jours d'incubation) montrant différents niveaux de coupes au travers de la plaque segmentaire (ps ; a-a'), des derniers somites (s ; b-b'), des somites divisés en dermomyotome (dmt) et sclérotome (sc ; c-c') et enfin dans des régions plus rostrales (d-d') où les différents types cellulaires issus du somite, dermatome (d), myotome (m), sclérotome (sc) et pré-curseurs des muscles des membres (pmm), sont ségrégués. (B) Schémas d'un embryon de poulet à trois stades différents du développement (3, 15 et 30 somites, soit 1,2 et 3 jours d'incubation), illustrant la formation progressive des somites le long de l'axe rostrocaudal au cours des premiers jours de l'embryogenèse. Les structures en grisé représentent les somites.

épithéliales polarisées entourant un amas dense de cellules non épithéliales. A peine formé, le somite subit une première transformation. La région ventromédiane de l'épithélium se dissocie en un mésenchyme, le sclérotome. C'est à partir de lui uniquement que se formera la colonne vertébrale. Le reste du somite, la région dorsolatérale, reste un temps intacte sous sa forme épithéliale, le dermomyotome. Elle va ensuite se dédoubler en deux épithéliums apposés dont l'un donnera le myotome et l'autre, le dermatome. Le myotome pourvoira uniquement à la musculature axiale et le dermatome, au derme. Ce dédoublement s'effectue grâce à un mouvement d'invagination des cellules situées, tout d'abord, à l'extrémité dorsomédiane du dermomyotome puis à son extrémité ventrolatérale. De cette même extrémité, cependant, certaines cellules vont aussi se disséminer dans les régions latérales de l'animal pour donner les muscles des membres, notamment. L'ensemble de ces événements est extrêmement rapide (moins de 48 heures chez l'oiseau) et il est remarquable que peu de tissus offrent dans un laps de temps aussi réduit un tel enchaînement de remaniements structuraux.

L'organisation spatiale d'un tissu est régie par diverses contraintes imposées, pour partie, par le nombre et la forme des cellules qui le composent et par les relations qu'elles entretiennent avec leurs voisines et, pour partie, par l'organisation des tissus avoisinants. Ces divers paramètres ont été analysés en détail chez l'embryon d'oiseau (figure 2).

Les interactions cellulaires, tout d'abord. Les connaissances acquises depuis plusieurs années sur les familles de molécules responsables de l'adhérence cellulaire [1, 2] ont permis de suivre précisément comment elles s'organisent au cours de la somitogenèse et de déterminer quels en sont les acteurs [3]. Dans la région médiane de la plaque segmentaire, les cellules se regroupent en deux feuillets compacts, séparés par un amas de cellules apparemment non organisé ; cette compaction s'accompagne à la surface des cellules d'une forte

augmentation de molécules d'adhérence intercellulaire comme la N-cadhérine (figure 2). Cette étape est aussitôt suivie de l'apparition d'une polarité cellulaire marquée qui caractérise les cellules épithéliales et de la formation de diverses jonctions qui permettent, entre autres, les communications intercellulaires. Inversement, la rupture de l'épithélium somitique en sclérotome est précédée par la disparition quasi totale de la N-cadhérine de la surface des cellules qui vont donner naissance au sclérotome, cela bien avant que l'on puisse déceler une quelconque séparation des cellules. Par ailleurs, des anticorps dirigés contre la N-cadhérine peuvent totalement dissocier des explants de plaque segmentaire ou de somite. Ces résultats suggèrent donc que les molécules d'adhérence intercellulaire jouent un rôle capital dans la compaction des cellules de la plaque segmentaire et, plus tard, dans le maintien de l'état cohésif des somites. En outre, leur apparition à la surface des cellules ou leur disparition entraînent une cascade d'événements cellulaires qui vont influencer directement la forme de chaque cellule et son comportement vis-à-vis de ses voisins.

Cependant, il faut bien avouer que ces études sont loin d'apporter une réponse satisfaisante à toutes les questions posées. En particulier, la formation de sphères à partir d'un cordon linéaire ne peut s'expliquer par les changements d'adhérence cellulaire seuls. C'est là que peut intervenir le deuxième paramètre, la prolifération des cellules au sein du tissu. Grâce à l'injection de traceurs fluorescents à l'intérieur d'une seule cellule et à des marquages de l'ADN par la thymidine tritiée, on a pu estimer le temps de doublement des cellules de la plaque segmentaire et du somite à une dizaine d'heures environ [4, 5]. On peut en déduire qu'une cellule située dans la partie caudale de la plaque segmentaire accomplit deux cycles cellulaires avant d'être incorporée dans le somite et un cycle supplémentaire avant la dissociation du somite en dermomyotome et sclérotome. Le nombre total de cellules est donc multiplié par huit durant

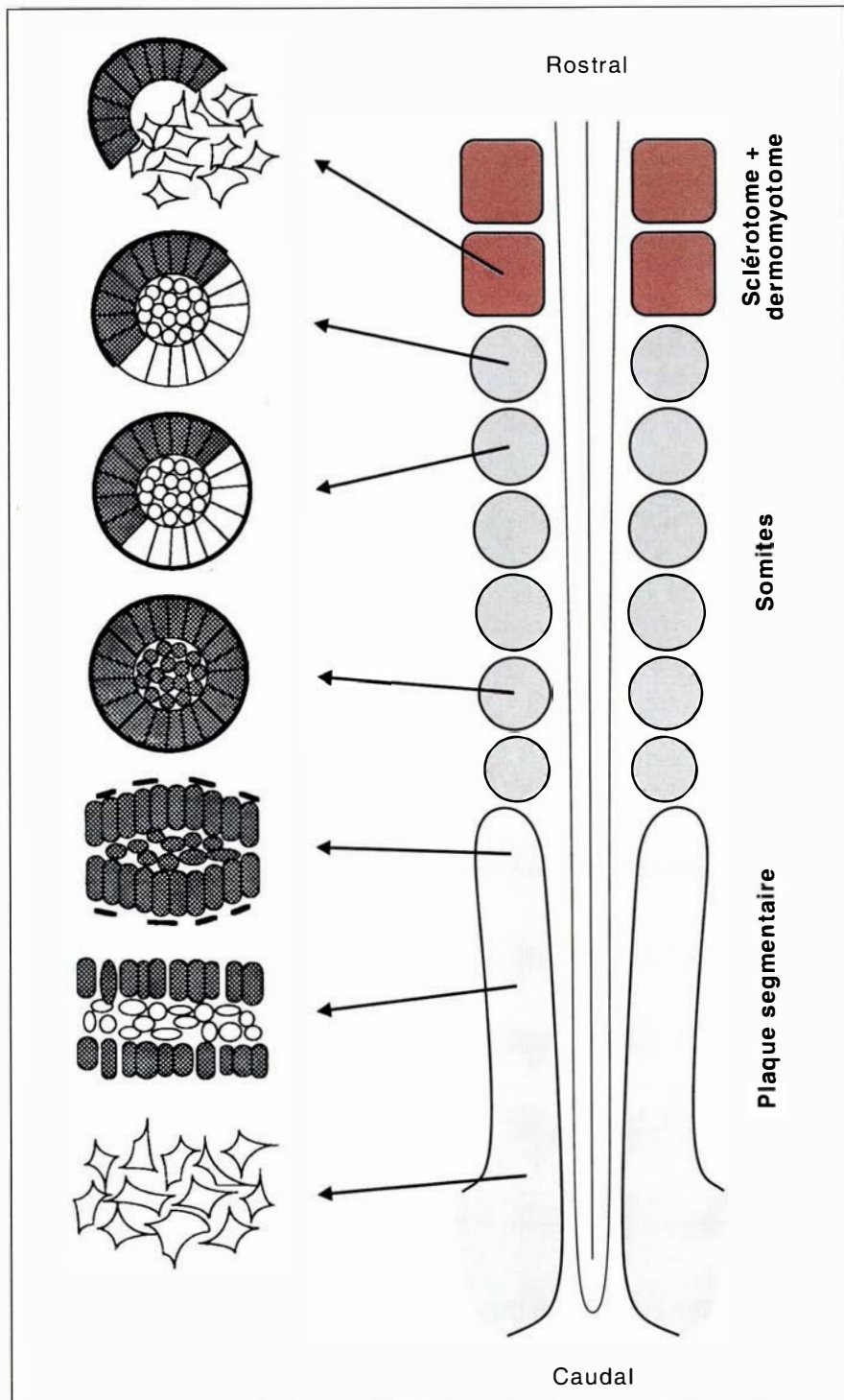


Figure 2. **Morphogenèse somitique.** A droite de la figure sont représentés schématiquement, de part et d'autre du tube neural, la plaque segmentaire, les somites et les somites divisés en dermomyotome et sclérotome. A gauche sont représentées les différentes étapes de la morphogenèse du somite et sa dissociation en dermomyotome et sclérotome. Les parties grisées correspondent aux cellules exprimant la N-cadhérine et les traits gras représentent la lame basale entourant l'épithélium somitique.

l'ensemble de la somitogenèse, et, comme l'espace disponible n'augmente pas entre-temps, il en résulte des changements importants dans les relations entre cellules voisines. Mais ce n'est pas tout ! Les cellules en phase de prolifération ne sont pas réparties uniformément le long de la plaque segmentaire et des somites mais sont regroupées dans des zones restreintes, ce qui indique que les divisions cellulaires sont synchrones. Ces zones d'intense prolifération sont situées dans la partie la plus caudale de la plaque segmentaire, dans sa partie médiane et dans sa partie rostrale extrême où est en train de se former le somite, ainsi que dans les somites qui se dissocient en sclérotome et dermomyotome. Ces observations concordent avec les résultats obtenus avec des agents divers (drogues ou choc thermique) qui perturbent le cycle cellulaire en bloquant la mitose [5]. Tous ces agents affectent, en effet, la segmentation du mésoderme en provoquant localement la fusion de somites consécutifs ; le plus étonnant est que ces anomalies sont répétées tout au long de l'axe embryonnaire, avec invariablement un intervalle de 6 à 7 somites intacts entre chacune d'elles. Cet intervalle correspond très précisément à la durée d'un cycle cellulaire. Ces résultats indiquent que les cellules destinées à se regrouper au sein d'un même somite sont synchrones pendant plusieurs cycles cellulaires et qu'elles accomplissent un nombre constant de cycles durant l'ensemble du processus conduisant à la formation et à la dissociation du somite ; les phases de divisions cellulaires correspondent aux phases de profonds remaniements dans la structure du tissu. Dès lors, la prolifération cellulaire locale peut expliquer pourquoi, lors de la compaction cellulaire, il se forme des boules de cellules au lieu d'un cordon uniformément dense. Ainsi, le cycle cellulaire jouerait un rôle d'horloge qui permettrait une certaine cohérence parmi les cellules. Restent à déterminer, maintenant, les raisons de ces divisions synchrones. Quant aux tissus avoisinants, on sait qu'ils ont une influence importante sur la morphogenèse somitique dans

la mesure où il est quasiment impossible d'obtenir plus d'un somite à partir d'une plaque segmentaire quand celle-ci est transférée *in vitro* hors de son environnement ; mais on ne sait pas encore très précisément à quelles étapes ils interviennent et par quels biais ils opèrent. Parmi les différents tissus à proximité des somites, le tube neural et la notochorde jouent un rôle primordial. En effet, chez l'oiseau, l'excision de ces deux tissus provoque de profondes anomalies du mésoderme somitique [6]. Toutefois, ce n'est pas la formation des somites en elle-même qui est affectée, mais la survie cellulaire. D'autres études, cependant, suggèrent que le tube neural pourrait intervenir directement dans la segmentation. Ainsi, un fragment de tube neural implanté dans le mésoderme latéral normalement non segmenté provoque l'apparition de structures apparentées à des somites au sein de ce tissu [7].

Lignages cellulaires

Y a-t-il détermination des cellules à l'origine des somites au sein de la plaque segmentaire et, si oui, quand s'instaure-t-elle ? De même, quand sont déterminés les différents lignages cellulaires (derme, muscles et vertèbres) issus du somite ?

La possibilité d'injecter des traceurs fluorescents dans une seule cellule a apporté des réponses précieuses sur la détermination des cellules du mésoderme chez l'embryon de poulet [4]. Les cellules situées dans la partie la plus caudale de la plaque segmentaire pourvoient à toutes les cellules du somite mais aussi à un nombre non négligeable de cellules du mésoderme latéral. En revanche, les cellules des parties médiale et rostrale de la plaque segmentaire ne donnent naissance qu'à des cellules somitiques. Le lignage somitique n'est donc déterminé et fixé que relativement tard dans la plaque segmentaire et on peut estimer qu'il diverge du lignage non somitique une vingtaine d'heures (soit deux cycles cellulaires) avant la segmentation.

Une question d'importance est de savoir si une cellule et sa descendance respectent les frontières spatiales qui s'instaurent durant la segmentation.

En d'autres termes, peut-on retrouver dans des somites différents les cellules issues d'un même progéniteur ? La même technique de marquage cellulaire démontre qu'une cellule de la plaque segmentaire peut engendrer des cellules qui se retrouvent dans deux somites consécutifs mais jamais plus de deux [4]. Ces résultats démontrent que, chez l'oiseau, chaque somite ne provient pas d'une cellule souche unique ou d'un groupe de cellules prédéterminées et confirment ainsi des études similaires réalisées sur le poisson-zèbre. Cependant, ils indiquent aussi que la position relative d'une cellule et de sa descendance dans la plaque segmentaire est relativement conservée du début à la fin de la somitogenèse.

En ce qui concerne le déterminisme des cellules à l'origine des muscles, du derme et des vertèbres, plusieurs études récentes ont révélé au sein même du somite des spécificités régionales jusque-là insoupçonnées [4, 8-10]. En effet, selon leur position dans le somite, les cellules vont donner des dérivés différents (figure 3A). Le sclérotome provient des cellules situées exclusivement dans le quartier ventromédian tandis que le quartier dorsomédian donne le dermatome et le myotome proprement dit, qui sera à l'origine des muscles squelettiques axiaux. Quant à la moitié latérale, elle fournira essentiellement la musculature des membres. Contrairement à ce que les études morphologiques laissaient penser, c'est donc une part très importante du somite, la moitié !, qui va se disséminer dans les régions latérales pour donner en particulier les muscles des membres [10]. La séparation du somite en moitiés latérale et médiane est apparemment établie très précocement puisqu'elles proviennent de cellules différentes, ségréguées dès la gastrulation [9]. Cependant, bien que séparés géographiquement, ces différents lignages ne sont pas déterminés de façon irréversible dans la plaque segmentaire ou même dans les somites, dans la mesure où on ne modifie en rien le plan d'organisation des muscles et des vertèbres quand on effectue une rotation médiolaterale des somites [10]. L'engagement des cellules vers une

voie de différenciation donnée semble donc dépendre de leur position finale dans le somite et non de leur position initiale, et ce serait l'environnement proche (tube neural, ectoderme et endoderme) qui, en dernier ressort, déciderait de leur sort.

La mise en place, dans le somite, du lignage myoblastique se vérifie dans l'expression de certains gènes regroupés sous la dénomination de famille

MyoD/myf. Ces gènes codent pour des facteurs nucléaires connus pour activer l'expression des gènes des protéines de structure (cytosquelette, notamment), spécifiques de la différenciation musculaire ; ils sont donc considérés comme les principaux éléments de contrôle du déterminisme des cellules myogéniques [11]. Chez la souris, l'un de ces gènes, *myf-5*, est exprimé pour la première fois dans la

partie dorsomédiane du somite avant la formation du dermomyotome [12] et, chez l'oiseau, on le retrouve au même endroit mais légèrement plus tard, une fois le dermomyotome formé [13]. Le gène *myf-5* permet donc d'identifier très précocement les précurseurs myotomiaux. En revanche, la moitié latérale du somite n'exprime pas le gène *myf-5*, qui ne deviendra actif dans les précurseurs des muscles des membres que bien après qu'ils ont quitté le somite. Le profil d'expression de *myf-5* confirme donc les données obtenues par les techniques d'embryologie dite classique ; il apparaît précisément dans les cellules au moment où elles sont irréversiblement engagées dans la voie de différenciation myogénique.

Informations de position

Nous venons de le voir, les études sur l'établissement des lignages cellulaires ont révélé l'existence de trois compartiments (médiodorsal, médioventral et latéral) à l'intérieur même de chaque somite. Il est apparu récemment que le somite était aussi subdivisé suivant l'axe rostrocaudal [14]. Cette division ne concerne que le sclérotome et on la retrouve ultérieurement dans les vertèbres (figure 3B). Elle était pressentie de longue date car von Ebner avait décrit, en 1988, une fissure séparant les moitiés rostrale et caudale du sclérotome, mais, jusqu'à présent, on était loin d'en estimer toutes les conséquences. Contrairement aux deux autres subdivisions qui reflètent la mise en place des lignages cellulaires distincts, la subdivision rostrocaudale du somite ne résulte pas d'une quelconque ségrégation de lignages différents ; ce qui ne veut pas dire pour autant qu'elle n'a pas d'influence sur le devenir ultérieur des cellules.

Le problème, maintenant, est de savoir quand sont instaurés ces compartiments somitiques. La division du somite selon l'axe médiolatéral, nous l'avons vu, est mise en place très tôt, mais elle ne devient effective qu'à la formation du sclérotome et du dermomyotome [4, 9, 10]. On sait peu de choses sur la division du somite selon l'axe dorsoventral, probablement à cause de la grande difficulté

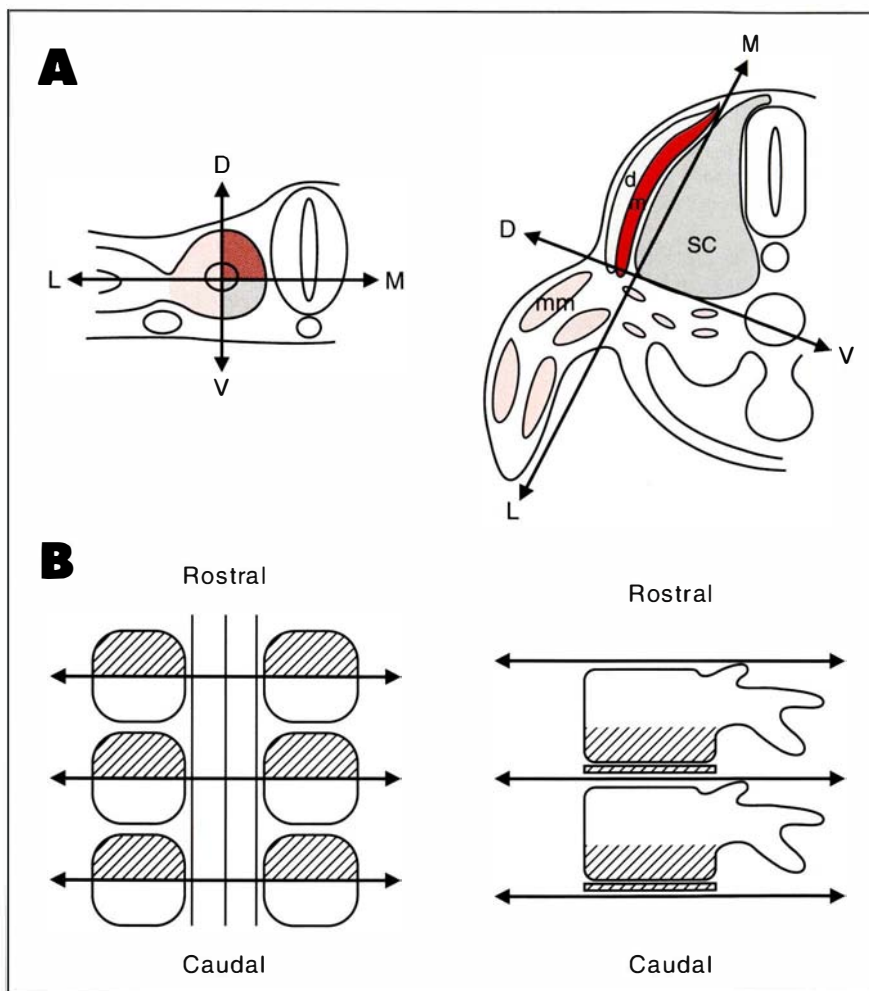


Figure 3. **Compartiments somitiques.** (A) A gauche : représentation schématique des compartiments dorsomédian (en bistre), ventromédian (en gris) et latéral (en rose) suivant les axes dorsoventral (D-V) et médiolatéral (M-L) dans un embryon de deux jours d'incubation ; à droite : représentation des tissus issus de ces compartiments dans un embryon à 6 jours de développement : dermatome (d), myotome (m), sclérotome (sc) et muscles des membres (mm). On pourra noter que les axes D-V et M-L ont subi une rotation d'un quart de tour. (D'après [10].) (B) Représentation schématique des compartiments rostraux (en hachuré) et caudaux (en blanc) des somites (à gauche) et de leurs dérivés dans les vertèbres (à droite). Chaque vertèbre est issue de la moitié caudale d'un somite fusionnée avec la moitié rostrale du somite suivant.

E N O I X E 7

à les séparer expérimentalement. La séparation du sclérotome en moitiés rostrale et caudale, quant à elle, s'établit de manière irréversible au moment précis de la formation du somite, même si elle n'est apparente qu'une fois le sclérotome formé [15]. En plus du problème de régionalisation à l'intérieur du somite même, se pose le problème de l'identité des somites les uns par rapport aux autres, qui va définir la spécificité des différents muscles et des vertèbres. Divers travaux chez l'embryon d'oiseau ont clairement établi qu'il existe une relation topologique entre la position des somites et celle des muscles, des vertèbres et des tissus du derme. Cependant, il apparaît que les dérivés squelettiques et dermiques, mais pas les dérivés musculaires, sont déterminés précocement, peut-être dans la plaque segmentaire. Si un fragment de plaque segmentaire correspondant à la région thoracique est greffé dans la région cervicale, il se forme des côtes dans le cou et le plumage sera celui de la région thoracique [16, 17]. En revanche, des somites provenant de régions ne correspondant pas aux membres sont tout à fait capables de donner tous les muscles des membres [18]. Ainsi, si la destinée myogénique des cellules du somite est déterminée, leur capacité à donner un muscle précis ne l'est pas.

Qu'en est-il des gènes qui contrôlent l'identité des somites et celle des différents domaines de chaque somite ? C'est là que le parallèle entre la segmentation chez les vertébrés et chez les insectes s'est avéré le plus fructueux. Chez la drosophile, la spécification de chacun des segments est contrôlée par un ensemble de gènes regroupés en un complexe, le complexe homéotique ou HOM-C [19, 20]. Chacun de ces gènes code pour un facteur de transcription qui va avoir pour mission de contrôler l'expression spatiale et temporelle correcte de nombreux gènes dans chaque segment. Le plus fascinant est que l'ordre des gènes à l'intérieur du complexe reflète leur expression spatiotemporelle le long de l'axe rostrocaudal de l'animal, c'est-à-dire que le gène à l'extrémité 3' du complexe est

exprimé en premier et est requis pour la formation des structures les plus rostrales de la tête alors que celui de l'extrémité 5' est exprimé en dernier et sert au développement des segments abdominaux caudaux. C'est le principe de la colinéarité (figure 4A). Chez la souris et divers autres vertébrés, on retrouve ces mêmes gènes, essentiellement dans le même ordre

mais sous la forme de quatre complexes sur quatre chromosomes différents (Hox-A, B, C et D, figure 4A, [19, 20]). Ainsi, à chacun des gènes homéotiques de la drosophile correspondent quatre gènes chez les vertébrés. L'étude du profil d'expression de ces gènes chez l'embryon de souris a établi la conservation du principe de colinéarité, notamment dans

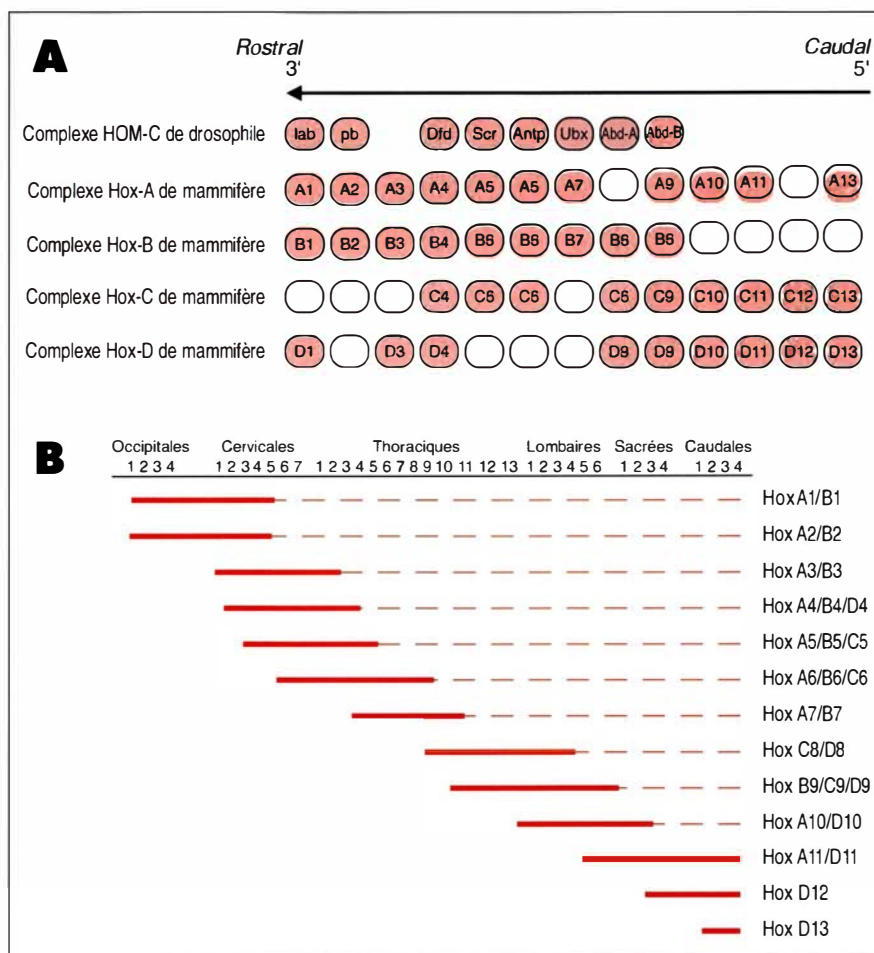


Figure 4. **Gènes homéotiques et somitogénèse.** (A) Organisation des complexes multigéniques HOM-C de la drosophile et Hox-A, B, C et D des mammifères. La nouvelle nomenclature des complexes Hox est utilisée (voir [20]). A chaque gène HOM correspondent au plus quatre gènes Hox. Les boîtes vides indiquent les gènes qui n'ont pas encore été identifiés. Sont indiqués en haut de la figure l'axe de l'embryon et la position des gènes le long du chromosome. (B) Profil d'expression très simplifié des gènes Hox de la souris le long des somites ou des vertèbres. La limite rostrale d'expression des différents gènes est indiquée par une barre rouge ; la limite caudale d'expression est moins bien définie et est représentée par une ligne discontinue. Le principe de colinéarité est respecté : les gènes du côté 3' de chaque complexe Hox sont exprimés dans les somites correspondant aux vertèbres occipitales tandis que les gènes du côté 5' ne sont retrouvés que dans les vertèbres sacrées et caudales. (D'après [19] et [20].)

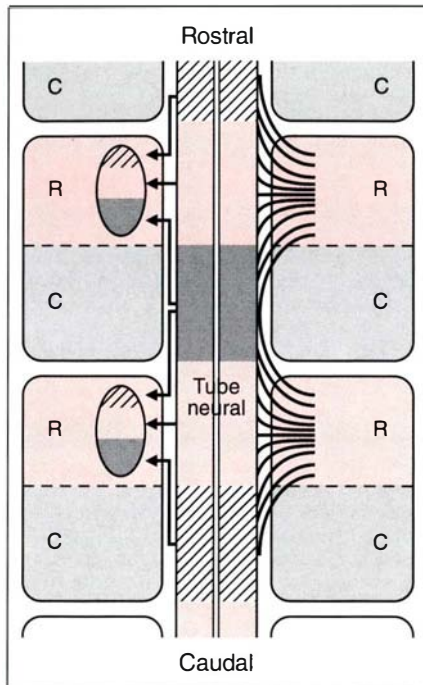


Figure 5. **Influence de la somitogenèse sur la formation du système nerveux périphérique et la croissance des nerfs moteurs.** A gauche, les ganglions sensoriels spinaux et à droite, les nerfs moteurs. On peut voir que ceux-ci sont toujours restreints à la partie rostrale des sclérotomes et qu'ils se forment à partir d'une région du tube neural correspondant à une région rostrale et deux régions caudales adjacentes et représentées par des hachures et des pointillés. R et C indiquent les régions rostrale et caudale de chaque somite. (D'après [26] et [28].)

le système nerveux et dans le mésoderme axial (figure 4B, [19]). Avec une différence importante, cependant ; à chaque gène homéotique Hox correspond non pas un somite donné mais un ensemble de somites. Il existe donc une combinatoire des gènes Hox qui constituerait l'information de position de populations de cellules à l'origine des vertèbres le long de l'axe rostrocaudal. Cette hypothèse a pu être vérifiée dans des expériences où un gène Hox est exprimé de manière ectopique dans des souris transgéniques ou dans des embryons d'amphibien [21, 22].

m/s n° 6-7 vol. 9, juin-juillet 93

Dans le premier cas, il en résulte des changements dans l'identité de certaines vertèbres (appelés transformations homéotiques) et, dans le deuxième cas, des aberrations dans le déroulement de la segmentation.

Les gènes contrôlant l'identité de groupes de cellules à l'intérieur de chaque somite sont moins bien caractérisés. Il ne fait aucun doute que les gènes de la famille *MyoD/myf* précédemment mentionnés peuvent être classés dans cette catégorie car ils caractérisent très précocement les cellules de la lignée myogénique. D'autres gènes, pense-t-on, sont aussi impliqués, mais leur profil d'expression ne rend pas totalement compte des différents compartiments du somite et leur fonction précise dans la segmentation n'est pas encore établie. Il s'agit des gènes *Pax* qui codent aussi pour des facteurs de transcription, et dont les équivalents chez la drosophile participent au déterminisme des différentes parties de chaque segment [23, 24]. L'un d'entre eux, *Pax-1*, est initialement exprimé après la segmentation, dans les cellules ventrales du sclérotome, le long du tube neural et, ultérieurement, dans les disques intervertébraux. Une mutation de ce gène chez la souris (la mutation *undulated*) conduit à une malformation générale de la colonne vertébrale. La découverte d'autres gènes *Pax* et l'analyse de leur profil d'expression permettront peut-être de rendre compte plus en détail des différents aspects de la compartimentation du somite.

Impact de la somitogenèse sur le développement des autres tissus embryonnaires

Si les subdivisions du somite selon les axes médiolatéral et dorsoventral ont une influence en grande partie restreinte au somite même, en mettant en place les différentes sous-populations de cellules destinées à devenir des muscles ou des vertèbres, en revanche, la subdivision du somite en moitiés rostrale et caudale a un impact considérable sur le développement des tissus voisins, notamment le tube neural et les crêtes neurales. C'est d'ailleurs en analysant ces tissus que la polarité rostrocaudale du

sclérotome a pu être démontrée.

Les nerfs émergeant des motoneurons dans la région ventrale du tube neural ainsi que les cellules des crêtes neurales issues, elles, de la région dorsale colonisent le sclérotome durant leur migration mais restent toujours confinés dans sa moitié rostrale. Il en résulte que les nerfs moteurs et les cellules des crêtes neurales à l'origine des ganglions sensoriels spinaux et des ganglions sympathiques se retrouvent segmentés alors qu'ils étaient initialement distribués uniformément le long de l'axe rostrocaudal [14, 25, 26]. On a pu estimer que chaque ganglion sensoriel spinal se forme à partir des cellules de crêtes neurales issues de la portion du tube neural attendant à la moitié rostrale du sclérotome ainsi qu'aux deux moitiés caudales adjacentes (figure 5). Il en est de même pour chaque nerf moteur. Cette segmentation n'est pas due aux motoneurons eux-mêmes ou aux cellules des crêtes neurales mais est imposée par l'environnement sclérotomal auquel ils sont confrontés [27, 28].

La polarité rostrocaudale du sclérotome se manifeste par la distribution asymétrique de certaines molécules de surface. Il faut avant tout insister sur le fait que ces molécules ne sont pas responsables de l'établissement de la polarité rostrocaudale du sclérotome mais n'en sont qu'une manifestation. Ce sont ces molécules qui vont agir sur la croissance des nerfs moteurs et le déplacement des cellules des crêtes neurales. Plusieurs d'entre elles sont concentrées dans la moitié caudale du sclérotome et ont pour effet de bloquer la migration. C'est le cas, par exemple, d'une molécule de 48 à 50 kDa qui lie l'agglutinine d'arachide et qui est capable de provoquer la rétraction de nerfs en culture *in vitro* [29]. C'est aussi le cas d'une molécule d'adhérence intercellulaire, la T-cadhérine, qui pourrait constituer une barrière infranchissable pour les nerfs et les cellules des crêtes neurales en maintenant cohésives les cellules du sclérotome [30]. Inversement, il se pourrait que certaines molécules dans la partie rostrale du sclérotome stimulent la migration cellulaire. La plupart des molécules des

E N O I X E 7

matrices extracellulaires supports de la migration sont distribuées de manière uniforme à travers le sclérotome ; elles ne peuvent donc prétendre jouer un tel rôle. La ténascine, par contre, une autre molécule des matrices, est un candidat potentiel, mais sa fonction exacte dans la compartimentation des crêtes neurales est encore très controversée [31, 32].

L'autre conséquence majeure de la segmentation du mésoderme est la ségrégation des différents lignages issus des crêtes neurales. Séparation spatiale avant tout : les futurs mélanocytes occupent l'espace latéral entre le dermomyotome et l'ectoderme, alors que les futurs éléments des ganglions périphériques se retrouvent dans le sclérotome. Il en résulte que les différentes populations cellulaires vont recevoir des signaux différents qui vont orienter leur différenciation vers certains phénotypes. Les travaux récents du groupe de Kalcheim vont en ce sens. Le tube neural relarguerait dans sa périphérie des facteurs de croissance neurotrophes et leur action sur les cellules des crêtes neurales serait potentialisée par les cellules de la moitié rostrale du sclérotome.

Des somites dans la tête ?

Contrairement au tronc, le mésoderme céphalique n'est apparemment pas segmenté. Les seuls indices de segmentation pourraient résider dans les arcs branchiaux. Il y a quelques années, cependant, Meier a pu, par microscopie électronique à balayage, révéler l'existence de structures répétées dans le mésoderme crânien, qu'il a appelées somitomères, par analogie aux somites du tronc [33]. Cependant, plusieurs considérations remettent en question le concept de somitomère en tant que véritable segment du mésoderme crânien. En particulier, leur nombre et leur position ne correspondent pas parfaitement aux segments du cerveau postérieur (appelés rhombomères), qui sont, eux, de véritables segments dans la mesure où ils présentent des limites définies et où leur identité est parfaitement déterminée par une combinaison précise de gènes homéotiques [19]. L'autre raison majeure est que ce ne sont pas les somitomères qui

sont responsables de la mise en place de la plupart des éléments du derme, des muscles et du cartilage dans la tête, mais les crêtes neurales [34, 35]. Il est d'ailleurs remarquable que ce soient les crêtes neurales dans la tête qui expriment une batterie précise de gènes homéotiques et non le mésoderme [19]. Si une quelconque segmentation existe dans la tête en dehors du cerveau, c'est très certainement parmi les crêtes neurales qu'il faut la rechercher et non pas dans le mésoderme.

Conclusion

De par leur structure et leurs propriétés, les somites peuvent être sans conteste considérés comme des unités de segmentation chez les vertébrés. Peut-on, pour autant, les assimiler aux segments des insectes ? La plupart des auteurs s'accordent à dire que le somite n'est pas l'équivalent du segment des insectes pour plusieurs raisons. Ils n'ont pas une origine clonale ; ils se forment relativement tard durant l'embryogenèse et ils ne sont constitués que par un des trois feuillet primordiaux de l'embryon, le mésoderme. La segmentation s'est donc développée de manière indépendante chez les vertébrés et les insectes, en utilisant toutefois certains gènes de régulation communs ■

Jean-Loup Duband

Laboratoire de biologie cellulaire du développement, Institut Jacques-Monod, université Paris VII, tour 43, 2, place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05, France.

RÉFÉRENCES

- Hynes RO, Lander AD. Contact and adhesive specificities in the associations, migrations and targeting of cells and axons. *Cell* 1992 ; 68 : 303-22.
- Peyriéras N. Les mécanismes moléculaires de l'adhérence cellulaire. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 591-6.
- Duband JL, Dufour S, Hatta K, Takeichi M, Edelman G, Thiery JP. Adhesion molecules during somitogenesis in the avian embryo. *J Cell Biol* 1987 ; 104 : 1361-74.

- Stern CD, Fraser SE, Keynes RJ, Primm DRN. A cell lineage analysis of segmentation in the chick embryo. *Development* 1988 ; 104 (suppl) : 231-44.
- Primm DRN, Norris WE, Carlson GJ, Keynes RJ, Stern CD. Periodic segmental anomalies induced by heat shock in the chick embryo are associated with the cell cycle. *Development* 1989 ; 105 : 119-30.
- Teillet MA, Le Douarin NM. Consequence of neural tube and notochord excision on the development of the peripheral nervous system in the chick embryo. *Dev Biol* 1983 ; 98 : 192-211.
- Fraser RC. Somitogenesis in the chick. III. The role of induction. *J Exp Zool* 1960 ; 145 : 151-67.
- Christ B, Jacob M, Jacob HJ, Brand B, Wachtler F. Myogenesis : a problem of cell distribution and cell interactions. In : Belair R, Ede DA, Lash JW, eds. *Somites in Developing Embryos*. NATO ASI Series. New York : Plenum Press, 1986 ; 118 : 261-75.
- Selleck M, Stern CD. Fate mapping and cell lineage analysis of Hensen's node in the chick embryo. *Development* 1991 ; 112 : 615-26.
- Ordahl CP, Le Douarin NM. Two myogenic lineages within the developing somite. *Development* 1992 ; 114 : 339-53.
- Weintraub H, Davis R, Tapscoff S, Thayer M, Krause M, Benzra R, Blackwell T, Turner D, Rupp R, Hollenberg S, Zhuang Y, Lassar A. The myoD gene family : nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science* 1991 ; 251 : 761-6.
- Ott MO, Bober E, Lyons G, Arnold H, Buckingham M. Early expression of the myogenic regulatory gene, myf-5, in the precursor cells of skeletal muscle in the mouse embryo. *Development* 1991 ; 111 : 1097-107.
- De La Brousse C, Emerson C. Localized expression of a myogenic regulatory gene, qmf1, in the somite dermatome of avian embryos. *Genes Dev* 1990 ; 4 : 567-81.
- Keynes RJ, Stern CD. Segmentation in the vertebrate nervous system. *Nature* 1984 ; 310 : 786-9.
- Stern CD, Keynes RJ. Interactions between somite cells : the formation and maintenance of segment boundaries in the chick embryo. *Development* 1987 ; 99 : 261-72.
- Kieny M, Mauger A, Sengel P. Early regionalization of the somitic mesoderm as studied by the development of the axial skeleton of the chick embryo. *Dev Biol* 1972 ; 28 : 142-61.
- Mauger A. Rôle du mésoderme somitique dans le développement du plumage dorsal chez l'embryon de poulet. II. Régionalisation du mésoderme plumigène. *J Embryol Exp Morphol* 1972 ; 28 : 343-66.
- Chevallier A, Kieny M, Mauger A. Limb-somite relationships : origin of the limb musculature. *J Embryol Exp Morphol* 1977 ; 41 : 245-58.
- Hunt P, Krumlauf R. Hox codes and positional specification in vertebrate embryonic axes. *Ann Rev Cell Biol* 1992 ; 8 : 227-56.
- Scott MP. Vertebrate homeobox gene nomenclature. *Cell* 1992 ; 71 : 551-3.

-
21. Harvey RP, Melton DA. Microinjection of synthetic Xhox-1A homeobox mRNA disrupts somite formation in developing xenopus embryos. *Cell* 1988 ; 53 : 687-97.
 22. Kessel M, Balling R, Gruss P. Variations of cervical vertebrae after expression of a Hox 1.1 transgene in mice. *Cell* 1990 ; 61 : 301-8.
 23. Gruss P, Walther C. Pax in development. *Cell* 1992 ; 69 : 719-22.
 24. Babinet C. Une famille de gènes du développement : les gènes Pax. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 87-91.
 25. Rickman M, Fawcett JW, Keynes RJ. The migration of neural crest cells and the growth of motor axons through the rostral half of the chick somite. *J Embryol Exp Morphol* 1985 ; 90 : 437-55.
 26. Theillet MA, Kalchicim C, Le Douarin NM. Formation of the dorsal root ganglion in the avian embryo : segmental origin and migratory behavior of neural crest progenitor cells. *Dev Biol* 1987 ; 120 : 329-47.
 27. Kalchicim C, Teillet MA. Consequence of somite manipulation on the pattern of dorsal root ganglion development. *Development* 1989 ; 106 : 85-93.
 28. Stern CD, Jaques KF, Lim TM, Fraser SE, Keynes RJ. Segmental lineage restrictions in the chick embryo spinal cord depend on the adjacent somites. *Development* 1991 ; 113 : 329-44.
 29. Davies JA, Cook GMW, Stern CD, Keynes RJ. Isolation from chick somites of a glycoprotein fraction that causes collapse of dorsal root ganglion growth cones. *Neuron* 1990 ; 2 : 11-20.
 30. Ranscht B, Bronner-Fraser M. T-cadherin expression alternates with migrating neural crest cells in the trunk of the avian embryo. *Development* 1991 ; 111 : 15-22.
 31. Stern CD, Norris WE, Bronner-Fraser M, Carlson GJ, Faissner A, Keynes RJ, Schachner M. J1/tenascin-related molecules are not responsible for the segmented pattern of neural crest cells or motor axons in chick embryo. *Development* 1989 ; 107 : 309-20.
 32. Tan SS, Prieto AL, Newgreen DF, Crossin KL, Edelman GM. Cytotactin expression in somites after dorsal neural tube and neural crest ablation in chicken embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 6398-402.
 33. Meier S. Development of the chick mesoblast. Formation of the embryonic axis and establishment of the metamereric pattern. *Dev Biol* 1979 ; 73 : 25-45.
 34. Noden DM. Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development* 1988 ; 103 (suppl) : 121-40.
 35. Couly G, Coltey P, Le Douarin NM. The developmental fate of the cephalic mesoderm in quail-chick chimeras. *Development* 1992 ; 114 : 1-15.

TIRÉS A PART

J.-L. Duband.

m/s n° 6-7 vol. 9, juin-juillet 93

E

U

O

I

X

E

L