

L'organisation de l'embryon d'amphibien

Une des plus célèbres expériences de l'embryologie classique est celle réalisée au début des années 1920 par le biologiste allemand Hans Spemann et sa collaboratrice Hilde Mangold [1]. Elle identifiait dans l'embryon d'amphibien, au stade *gastrula*, un territoire aux propriétés remarquables qui, transféré de sa région dorsale d'origine à la face ventrale d'un embryon receveur, était capable de déclencher l'apparition d'un deuxième axe embryonnaire pleinement constitué, en sorte que l'embryon receveur se développait sous forme de deux embryons accolés par leur face ventrale. A ce territoire, Spemann et Mangold donnèrent le nom d'organisateur et l'interprétèrent comme un inducteur capable d'organiser les tissus environnants en un embryon normal, doté notamment d'un tube neural parfaitement organisé. A l'heure actuelle, l'organisateur conserve son pouvoir de fascination pour les biologistes du développement, même si l'interprétation de ses propriétés a été substantiellement révisée. En outre, des expériences récentes permettent pour la première fois d'entrevoir l'identité de gènes qui jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de l'organisateur.

La gastrulation de l'embryon d'amphibien

A la fin du stade *blastula* [2], l'embryon est une boule de cellules organisées autour d'une cavité, le blastocèle, où l'on peut repérer un pôle animal et un pôle végétatif, une face dorsale et une face ventrale, ainsi qu'une zone marginale, anneau de cellules situées à la frontière entre territoires animal et végétatif, dont l'interaction va permettre à l'induction mésodermique d'avoir lieu. Le

stade suivant aboutit à la constitution d'une *gastrula*. Il est caractérisé par des mouvements cellulaires dont le résultat est de faire s'invaginer à l'intérieur de l'embryon des territoires situés initialement à la surface de la *blastula* (figure 1). Le mouvement d'invagination commence au niveau d'une encoche, l'encoche blastoporale, située sur la face dorsale un peu en dessous de l'équateur, dans une zone végétative dorsale. Au départ, il intéresse essentiellement des cellules situées sur un méridien dorsal, mais les territoires concernés gagnent progressivement tout le tour de l'embryon, en même temps que l'encoche blastoporale, d'abord simple fente dorsale, devient circulaire et constitue le blastopore. A l'intérieur de l'embryon, les cellules invaginées entourent une nouvelle cavité, l'archentéron, dont l'extension repousse au fur et à mesure la cavité

initiale du blastocèle qui finit par devenir virtuelle. Le toit de l'archentéron, situé en position dorsale, formera des dérivés mésodermiques essentiels : matériel précordial, corde dorsale et somites. A partir du plancher, en position ventrale, s'organisera l'endoderme du tube digestif. En outre, à la gastrulation, la polarité antéro-postérieure de l'embryon est clairement définie : les premières cellules à effectuer leur migration à l'intérieur sont aussi celles qui donneront le mésoderme le plus antérieur. A l'inverse, les cellules effectuant une migration tardive donneront les dérivés postérieurs de l'embryon.

Après la gastrulation, l'organisation de l'embryon va se poursuivre par la mise en place du tube neural (phénomène dit de neurulation qui aboutit au stade *neurula*) à partir des territoires ectodermiques qui recouvrent

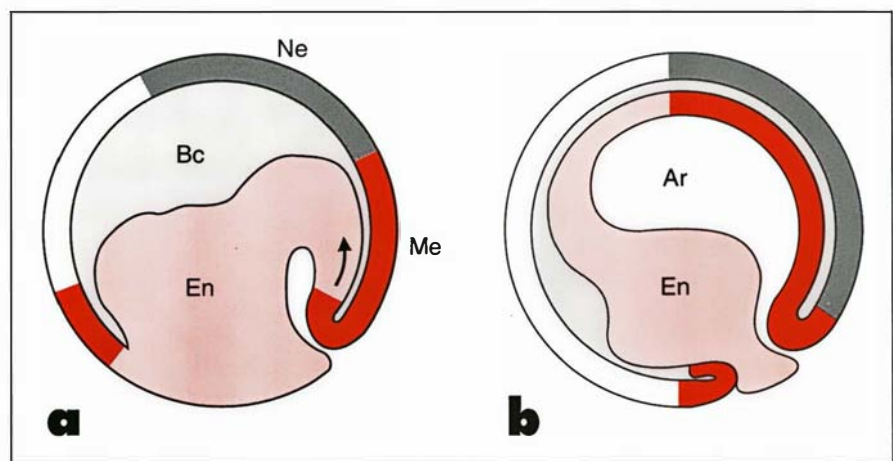


Figure 1. **La gastrulation de l'embryon d'amphibien.** A. Début de l'invagination du mésoderme à l'intérieur de l'embryon, suivant le sens de la flèche. Me : mésoderme ; Ne : neurectoderme (présomptif) ; Bc : Blastocèle ; En : endoderme. B. Stade plus tardif. Le mésoderme invaginé (rouge) est recouvert de neurectoderme (gris foncé) en cours d'induction. Ar : cavité de l'archentéron. En : endoderme. (D'après [11]).

le mésoderme situé au toit de l'archentéron. On assiste à l'apparition d'une plaque neurale dans la région de l'ectoderme dorsal, délimitée par des bourrelets neuraux (*neural folds*) longitudinaux qui convergent rapidement l'un vers l'autre jusqu'à former une gouttière neurale, puis le tube neural clos.

L'expérience de Spemann (1924)

Le protocole mis au point par Spemann et Mangold consiste à prélever la lèvre dorsale du blastopore d'un embryon au stade jeune *gastrula* et à la greffer dans la région ventrale de la zone marginale d'un embryon receveur. Le résultat de l'opération comporte deux aspects remarquables.

- Dans la région du transplant s'organise un deuxième embryon qui, bien souvent, possède des structures (corde, somites, tube neural) indistinguables de celles d'un embryon normal. Ce deuxième embryon apparaît sur la face ventrale du receveur à la manière d'un jumeau siamois (*figure 2*).

- L'utilisation de marqueurs cellulaires appropriés montre que l'embryon surnuméraire se forme à partir du transplant mais recrute aussi des territoires du receveur qui n'auraient pas participé à la construction de dérivés dorsaux en l'absence du transplant. La lèvre dorsale du blastopore apparaît donc capable d'organiser une région quelconque de la *gastrula* en un embryon harmonieusement constitué, d'où le nom d'organisateur donné par Spemann à ce territoire. En outre, la formation d'un tube neural étant un indice frappant du caractère harmonieux de l'embryon formé, l'habitude a été prise, dès les années 1930, de considérer que l'organisateur était tout particulièrement doté des propriétés d'un inducteur neural.

Sur ces deux points : aptitude de l'organisateur à agencer un embryon entier à lui seul et identification de l'organisateur, entre autres, à un inducteur neural, les interprétations classiques de l'expérience de Spemann ont été substantiellement révisées en tenant compte, notamment, des données accumulées depuis les années 1970 sur l'induction mésodermique [2].

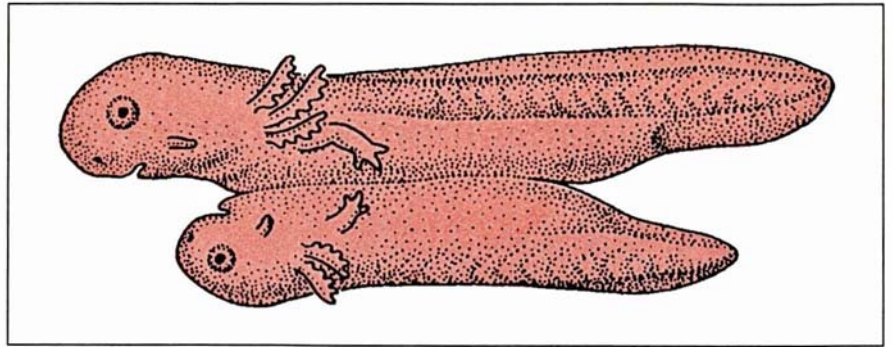


Figure 2. **Larves d'amphibien accolées par la face ventrale, produites par transfert de la lèvre dorsale du blastopore d'un embryon donneur sur la face ventrale d'un receveur.** (Redessiné d'après [12].)

La réinterprétation de l'organisateur

Ces données, dont on a vu ici-même qu'elles avaient permis à Slack de proposer un modèle à trois signaux pour rendre compte de l'induction mésodermique [3], indiquent qu'à la fin du stade *blastula* la région dorsale de la zone marginale, c'est-à-dire la région de l'organisateur, est dotée d'une spécification mésodermique « forte » qui la rend capable de donner des dérivés de type cordal ou somitique. Cette spécification est probablement le résultat de l'action d'un facteur diffusible, sans doute très proche d'une activine, émis à partir de la région végétative de l'embryon. La zone de l'organisateur ainsi spécifiée émet un signal dorsalisant capable de faire se différencier du mésoderme ventral en structures somitiques.

Une fois que le matériel provenant de la lèvre dorsale du blastopore s'est invaginé pour former le toit de l'archentéron, il est généralement admis qu'une séquence antéro-postérieure a été mise en place. Les premières cellules à migrer vers l'intérieur sont aussi celles qui migrent le plus loin à l'avant de l'axe antéro-postérieur où elles donneront des dérivés céphaliques. Les populations de cellules migrant un peu plus tard formeront du mésoderme troncal, alors que celles qui s'invaginent au stade *gastrula* tardive donneront en majorité du matériel caudal. Cette interprétation est fondée essentiellement sur le résultat d'expériences d'embryologie classique où la spécification des différents territoires méso-

dermiques est identifiée par des techniques de greffe. Une question importante, et très incomplètement résolue à l'heure actuelle, est de savoir si cette séquence antéro-postérieure est établie lors de la gastrulation au fur et à mesure de l'invagination du mésoderme ou si elle se forme plus tôt, dans la *blastula*, au moment où l'induction mésodermique dorsale met en place le territoire de l'organisateur. Cette dernière hypothèse paraît peu en accord avec les résultats actuellement disponibles (consulter la revue détaillée et très récente de Slack et Tannahill à ce sujet [4]).

Au fur et à mesure que se déroule la gastrulation, la couche d'ectoderme dorsal se trouve mise en contact avec le mésoderme invaginé (*figure 3*). On admet que l'induction neurale qui en résulte est réglée terme à terme, c'est-à-dire que les régions les plus antérieures du mésoderme induisent des régions antérieures du cerveau, alors que le mésoderme troncal induira des régions plus postérieures du tube neural, etc. Quoi qu'il en soit des mécanismes moléculaires et cellulaires, encore très mal connus, qui règlent ces inductions, on voit que l'organisateur ne doit pas être conçu comme une structure possédant par elle-même tout l'ensemble d'informations nécessaires pour organiser un embryon, mais comme un élément d'un ensemble cellulaire dans lequel une hiérarchie de décisions de développement est progressivement mise en œuvre et aboutit seulement *in fine* à une structure embryonnaire harmonieuse.

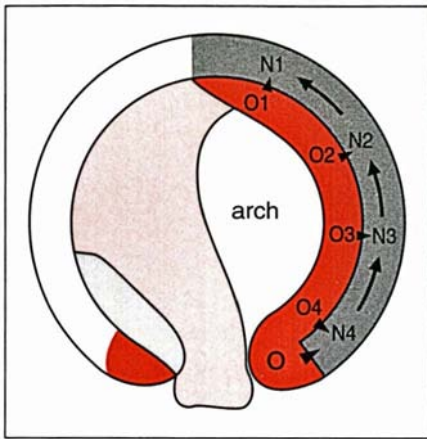


Figure 3. **L'induction neurale.** Les différentes cohortes de cellules (O1-O4), invaginées à partir de l'organisateur (O), sont recouvertes par des territoires ectodermiques (N1-N4) qu'elles induisent à donner des différenciations neurales spécifiques. Arch. : archentéron. (D'après [4].)

Vers une caractérisation moléculaire de l'organisateur

Au cours des dernières années, la génétique du développement des vertébrés a été profondément transformée par la découverte que des motifs structuraux conservés dans les gènes homéotiques de la drosophile (l'homéoboîte) sont conservés au même degré dans le génome des vertébrés [5]. Les gènes à homéoboîte peuvent être rangés en familles distinctes selon le type d'homéoboîte qu'ils possèdent. Ainsi, chez la drosophile, le gène *bicoid* possède une homéoboîte particulière, retrouvée dans un petit nombre d'autres gènes tels que le gène *gooseberry*. Il se trouve que *bicoid* est très important dans le développement précoce de la drosophile. Gène d'expression purement maternelle, la protéine pour laquelle il code est déposée dans l'œuf selon un gradient de concentration dont les travaux du groupe de Nüsslein-Volhardt [6] ont montré qu'il définit l'axe antéro-postérieur de l'embryon. Utilisant l'homéoboîte *bicoid* comme sonde, de Robertis *et al.* [7] ont pu montrer que des transcrits porteurs de cette homéoboîte sont présents, à la fin du stade *blastula* chez le xénope, spécifiquement dans la zone margi-

nale dorsale qui, à ce stade, devient l'organisateur. Le gène correspondant a été baptisé *goosecoid* (en référence aux gènes *gooseberry* et *bicoid*). Ces transcrits s'accumulent très rapidement dans des cellules du pôle animal séparées du reste de la *blastula* et traitées par l'activine, un inducteur mésodermique de type dorsal fort [2]. En revanche, le traitement par le FGF basique, un inducteur mésodermique ventral, est sans effet. En outre, l'injection d'ARN messagers *goosecoid* dans les blastomères ventraux d'un embryon au stade 4 cellules suffit à déclencher, dans 75 % des cas, l'apparition d'un deuxième axe embryonnaire lors de la gastrulation. L'injection d'un message où la boîte *goosecoid* a été délétée, ou d'un message porteur d'une boîte homéotique appartenant à une famille différente est sans effet, ce qui montre le caractère spécifique de l'action des transcrits *goosecoid*.

La mise en activité de *goosecoid* dans le territoire induit à devenir l'organisateur semble bien être un des tout premiers événements moléculaires menant à la mise en place de celui-ci. Il est remarquable que, chez le xénope comme chez la drosophile, un gène doté de la même homéoboîte semble être au sommet de la hiérarchie décisionnelle qui aboutit à la spécification de l'axe antéro-postérieur de l'embryon.

Toutefois, il est essentiel de remarquer que la liste des gènes, en particulier des gènes à homéoboîte, actifs dans le territoire de l'organisateur ou le mésoderme axial s'accroît rapidement (pour un exemple récent, voir [8]), alors que les données sur leurs interactions éventuelles et la hiérarchie de décisions à laquelle ces interactions pourraient donner lieu sont encore très fragmentaires. L'hypothèse que l'expression de *goosecoid* est très près de — voire se confond avec — l'extrémité de la chaîne de décisions initiées dans l'organisateur pourrait donc être sujette à révision.

Une situation plus paradoxale est celle du gène *Xwnt-8*. Ce gène de xénope est homologue de *wingless* chez la drosophile et de *wnt-1* chez la souris, gène d'abord nommé *int-1*, puis rebaptisé *wnt-1* à cause de son homologie avec *wingless*. Ces gènes

codent pour des protéines sécrétées, qui pourraient fonctionner comme des facteurs de croissance, en interagissant avec des récepteurs cellulaires de surface. Lorsque des messagers traductibles *Xwnt-8* sont injectés dans le blastomère ventral d'une jeune *blastula* (stade 16 blastomères), un deuxième axe embryonnaire est mis en place au moment de la gastrulation et le résultat rappelle beaucoup celui obtenu par greffe de l'organisateur sur un territoire ventral ([9], voir aussi [10]). En revanche, la micro-injection des mêmes messagers *Xwnt-8* dans un blastomère dorsal est sans effet. Le paradoxe est que, dans l'embryon de xénope, le gène *Xwnt-8* est exprimé, au stade *blastula* tardive, essentiellement dans les territoires ventraux où pourtant un axe embryonnaire ne va pas se développer. Des modèles faisant appel à une distribution appropriée des récepteurs, encore hypothétiques, de la protéine *Xwnt-8* pourraient être invoqués, en supposant que de tels récepteurs sont exprimés exclusivement dans la région dorsale alors que leur absence dans la région ventrale empêcherait celle-ci d'être compétente pour répondre à la présence de la protéine *Xwnt-8*. Quelle que soit la solution, l'existence même du problème souligne le danger qu'il y aurait à négliger les interactions entre gènes ou entre territoires pour comprendre les mécanismes d'action de l'organisateur ■

Hubert Condamine

Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

RÉFÉRENCES

1. Hamburger V. The heritage of experimental embryology, Hans Spemann and the organizer. Oxford : Oxford University Press, 1988.
2. Condamine H. L'induction mésodermique et la dorsalisation de l'embryon d'amphibien. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 379-81.

RÉFÉRENCES

3. Slack JMW. From egg to embryo, 2nd ed. Cambridge : Cambridge University Press, 1991.
4. Slack JMW, Tannahill D. Mechanism of anteroposterior axis specification in vertebrates. *Development* 1992 ; 114 : 285-302.
5. Kessel M, Gruss P. Murine developmental control genes. *Science* 1990 : 249 : 374-9.
6. Nüsslein-Volhard C, Frohnhöfer HG, Lehmann R. Determination of anterior-posterior polarity in *Drosophila*. *Science* 1987 ; 238 : 1675-81.
7. Cho KWY, Blumberg B, Steinbeisser H, De Robertis EM. Molecular nature of Spemann's organizer : the role of the *Xenopus* homeobox gene *goosecoid*. *Cell* 1991 ; 67 : 1111-20.
8. Taira M, Jamrich M, Good PJ, Dawid IB. The LIM domain-containing homeobox gene *Xlim-1* is expressed specifically in the organizer region of *Xenopus* gastrula embryos. *Genes Dev* 1992 ; 6 : 356-66.
9. Sokol S, Christian JL, Moon RT, Melton DA. Injected Wnt RNA induces a complete body axis in *Xenopus* embryos. *Cell* 1991 ; 67 : 741-52.
10. McMahon AP, Moon RT. Ectopic expression of the proto-oncogene *int-1* in *Xenopus* embryos leads to duplication of the embryonic axis. *Cell* 1989 ; 58 : 1075-84.
11. De Robertis EM, Oliver G, Wright CVE. Determination of axial polarity in the vertebrate embryo : homeodomain proteins and homeogenetic induction. *Cell* 1989 ; 57 : 189-91.
12. Gilbert SF. Developmental biology, 3rd ed. Sunderland, Massachusetts : Sinauer Ass Inc Pub, 1991.

TIRÉS A PART

H. Condamine.