

Développement et fonction musculaires

Muscles de la tête, muscles des jambes et muscles du tronc, demandez le programme myogénique !

Chez l'homme environ 450 paires de muscles striés squelettiques nous permettent de rire et de grimacer, de manger, de marcher ou de respirer.

Somites*

Les muscles squelettiques chez les vertébrés sont issus du mésoderme paraxial, qui se segmente en somites, sphères épithéliales qui s'alignent de part et d'autre du tube neural. Les somites donneront naissance aux muscles des membres et du tronc. Les muscles de la tête, quant à eux, proviennent du mésoderme paraxial crânien non segmenté, du mésoderme préchordal et des somites les plus rostraux (antérieurs). Si les cellules du somite nouvellement formé sont encore pluripotentes [1], elles vont acquérir des propriétés distinctes sous l'influence de signaux inducteurs émanant des tissus adjacents (tube neural, notochorde, ectoderme dorsal et mésoderme latéral) (figure 1). Dans sa partie ventrale, le somite va donner naissance au sclérotome qui est à l'origine des côtes et des vertèbres. La partie dorsale du somite constituera le dermomyotome à l'origine du derme, et donnera deux populations de cellules myogéniques. L'une de ces populations, issue de la partie médiane du dermomyotome, donnera naissance aux muscles du dos ; l'autre, issue de sa partie latérale, sera à l'origine des muscles des membres et des muscles de la paroi

abdominale suivant la position du somite le long de l'axe rostro-caudal (antéro-postérieur) [2, 3].

Myf5 et MyoD

La myogenèse est contrôlée par une série de facteurs de différenciation et

de transcription, dont les premiers étudiés ont été ceux de la famille MyoD : des protéines à domaine de liaison à l'ADN et de dimérisation de type bHLH (*basic helix-loop-helix*) [4]. À ce jour, le marqueur musculaire le plus précocement détectable chez la souris est Myf5, une protéine de cette

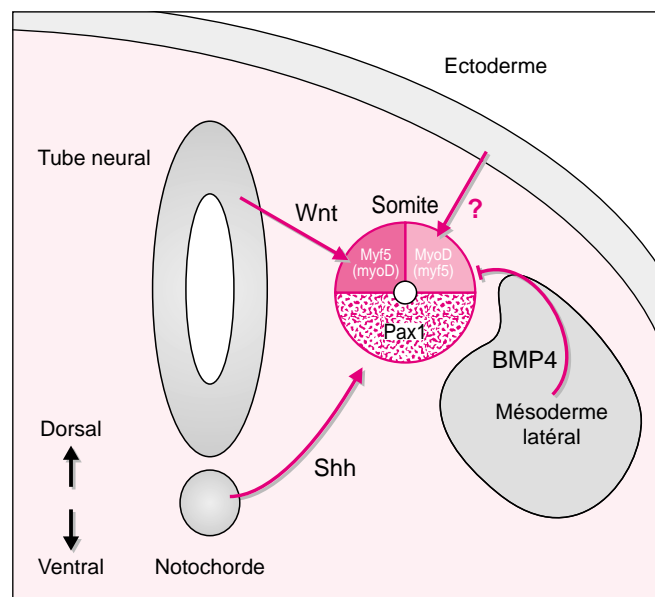


Figure 1. **Modèle montrant l'influence sur le somite des différentes structures avoisinantes.** L'induction de Myf5 requiert des signaux de la notochorde et du tube neural. Elle serait mise en jeu par les protéines Wnt issues du tube neural. L'induction de MyoD requiert des signaux de l'ectoderme dorsal, dont on ne connaît pas la protéine effectrice ; elle est capable à elle seule de mettre en route la myogenèse, indépendamment de signaux axiaux. La protéine Sonic hedgehog (Shh), sécrétée par la notochorde, induit l'expression de Pax1 dans le sclérotome. On décrit, en outre, un signal négatif produit par le mésoderme latéral : la protéine BMP4 qui en est issue inhibe transitoirement l'expression de MyoD dans les cellules du somite proches de cette structure. Ce signal négatif issu du mésoderme latéral empêche, par conséquent, l'expression trop précoce de MyoD et la différenciation des cellules. (D'après Cossu et al. [8].)

* Voir aussi l'article de O. Pourquieu, p. 1145 de ce numéro.

famille qui est le premier déterminant myogénique à être exprimé dans la partie médiane du somite vers 8,5 jours de développement embryonnaire (E8,5) [5]. Dans les expériences élégantes de S. Tajbakhsh et D. Rocancourt dans le laboratoire de M. Buckingham (Institut Pasteur de Paris), le devenir des cellules exprimant *Myf5* a pu être suivi grâce à l'invalidation du gène *Myf5* par insertion du gène de la β -galactosidase qui se trouve, de ce fait, sous le contrôle des régions régulatrices du gène *Myf5*. La révélation de l'activité β -galactosidase permet ainsi de visualiser les cellules qui auraient activé leur gène *Myf5*. Chez les souris homozygotes *Myf5^{-/-}* on retrouve des cellules marquées, entre autres, au niveau du sclérotome où elles s'engagent dans une voie de différenciation cartilagineuse: elles synthétisent le facteur de transcription scleraxis, normalement détecté dans les cellules du sclérotome, et s'incorporent dans les côtes (*m/s n° 3, vol. 13, p. 401*) [6]. D'autres cellules positives pour la β -galactosidase vont s'incorporer dans le derme. En l'absence de *Myf5* ces cellules restent pluripotentes et adoptent des chemins de différenciation au gré de leur environnement dans le somite, montrant clairement que *Myf5* est le facteur de détermination myogénique pour ces cellules (*Tableau I*).

Alors que les perturbations au niveau du muscle sont importantes chez les souris *Myf5^{-/-}* jusqu'au stade E14, l'activation du gène *MyoD* permet de rétablir la mise en place des principales masses musculaires. En effet, les souris dont le gène *Myf5* a été invalidé meurent à la naissance du fait d'une hypoplasie costale, mais ont une musculature quasi normale, ce qui suggère qu'un autre gène que *Myf5* est capable d'assurer lui aussi toute la mise en place de la myogenèse.

MyoD est détectable dans le somite vers 10 jours de vie fœtale, soit 36 heures après *Myf5*. Les cellules qui synthétisent *MyoD* sont d'abord localisées dans la partie latérale du somite et non dans sa partie médiane. L'origine différente des cellules qui vont dans un premier temps synthétiser préférentiellement *Myf5* ou *MyoD* (cette synthèse exclusive de l'une ou l'autre de ces deux protéines étant

Tableau I	
PHÉNOTYPE MUSCULAIRE DES SOURIS DONT DIFFÉRENTS GÈNES DE DÉTERMINATION MYOGÉNIQUES ONT ÉTÉ INVALIDÉS	
Gènes invalidés	Phénotype musculaire
<i>Myf5^{-/-}</i>	muscles présents
<i>MyoD^{-/-}</i>	muscles présents
<i>Myf5^{-/-}; MyoD^{-/-}</i>	pas de cellule musculaire
<i>Pax3^{-/-} (splotch)</i>	défaut de migration: les cellules musculaires ne migrent pas dans les membres, le diaphragme, etc.
<i>Myf5^{-/-}; splotch</i>	pas de muscles dans le tronc et les membres. Muscles de la tête présents

rapidement perdue au profit d'une co-synthèse) a aussi été observée dans un système *ex vivo* où les cellules ayant à un moment donné activé leur gène *Myf5* sont condamnées à mourir en présence de ganciclovir (car elles expriment le gène *thymidine kinase* du virus herpès placé sous le contrôle des régions régulatrices du gène *Myf5* par recombinaison homologue*). L'obtention dans ce modèle de cellules myogéniques qui expriment *MyoD* montre que ce dernier a été transcrit dans une cellule qui n'a jamais transcrit *Myf5* [7].

Alors que l'induction de *Myf5* dans la partie médiane du somite requiert des signaux de la notochorde et du tube neural, l'induction de *MyoD* dans la partie latérale requiert, quant à elle, des signaux positifs de l'ectoderme dorsal [8]. Le délai observé entre l'activation de *MyoD* et celle de *Myf5*, serait dû à un effet négatif du mésoderme latéral adjacent [9]. Néanmoins, cette activation de *MyoD* dépendrait directement ou indirectement de l'expression correcte de *Myf5* car, chez les souris *Myf5^{-/-}*, l'expression de *MyoD* est retardée (*voir ci-après*). L'invalidation du gène *MyoD* ne conduit à aucun phénotype important (*Tableau I*); un défaut

majeur des souris *MyoD^{-/-}* est la mauvaise régénération des fibres musculaires mise en évidence par croisement de souris *MyoD^{-/-}* et de souris *mdx*, un modèle murin de la myopathie de Duchenne [10].

Il semble donc que ces deux protéines, *MyoD* et *Myf5*, qui sont synthétisées toutes deux assez précocement, mais avec un délai d'environ deux jours dans leur allumage respectif à des endroits distincts du somite, aient des propriétés analogues. La double invalidation des gènes *Myf5* et *MyoD* aboutit à l'absence de toute cellule musculaire. En dépit, et de leur asynchronie, et de leur territoire d'expression différent, *MyoD* et *Myf5* apparaissent donc être fonctionnellement redondants [11].

Pax3/c-Met/HGF

Les gènes *Pax* codent pour des facteurs de transcription qui interviennent au cours du développement [12]. Les protéines *Pax* contiennent deux motifs de liaison à l'ADN: une homéoboîte et un domaine paired [13]. Le gène *Pax3* s'exprime dans le tube neural, le mésoderme paraxial, puis dans le somite en formation. Quand les cellules de la partie ventrale du somite perdent leur arrangement épithélial pour donner le sclérotome, l'expression de *Pax3* se restreint au dermomyotome et s'accroît dans sa partie latérale [14-16]. C'est à partir de cette région

* La thymidine kinase du virus HSV, de faible spécificité, intègre des analogues de nucléotides tels que le ganciclovir dans l'ADN, provoquant le blocage de la répllication et la mort de la cellule (*m/s n° 7, vol. 5, p. 517*).

latérale, qu'au niveau des somites situés près des bourgeons de membres, certaines cellules exprimant *Pax3* vont migrer pour coloniser les membres. Dans la partie ventrale du somite, *Pax3* cède la place à une autre protéine de la famille homéopaire, *Pax1*, qui est un marqueur du sclérotome. Le mutant du gène *Pax3* chez la souris (mutant *splotch*) présente des défauts dans les tissus dérivés de la crête neurale, un spina bifida, et l'absence de myoblastes au niveau des membres et du diaphragme chez l'embryon à E10-E13 (Tableau 1). Chez ces mutants *splotch*, les gènes *Myf5* et *MyoD* sont cependant transcrits au bon moment [17], suggérant que *Pax3* n'est pas requis pour la mise en place de l'expression de ces deux gènes. Néanmoins l'expression de *MyoD* à E10 est détectée dans un nombre plus restreint de cellules, en particulier dans la partie ventro-latérale du somite où les cellules exprimant normalement *Pax3* s'accumulent, *MyoD* n'est plus transcrit. En outre, les cellules du somite qui auraient dû migrer ont conservé leur potentiel myogénique: si l'on greffe dans les membres les cellules de la partie dorso latérale du somite au jour E9, elles sont capables de former du muscle [18]. Par conséquent, c'est essentiellement un défaut de migration des cellules qui caractérise ce mutant.

Un des gènes contrôlés par la protéine *Pax3* est le gène *c-Met*, codant pour le récepteur membranaire de l'HGF (*hepatocyte growth factor*) [19]. Les cellules des somites des souris dont le gène *c-Met* a été invalidé ont également un défaut de migration qui conduit à une absence de colonisation des membres, du diaphragme et du bout de la langue [20]. Chez les souris *c-Met*^{-/-} les cellules exprimant *Pax3* ne sont pas détectées dans les membres et, chez les embryons *splotch*, aucune cellule exprimant *c-Met* n'est détectée dans les membres [21]. Une hypothèse séduisante serait donc qu'une partie des cellules du somite exprimant *Pax3* et *c-Met* migreraient et coloniseraient certains territoires éloignés du somite, attirées par l'HGF présent dans ces territoires. Une fois arrivées, ces cellules perdraient l'expression de *Pax3*, acti-

veraient *Myf5* ou *MyoD*, et se différencieraient en cellules musculaires.

Source des signaux inducteurs

Quelles sont les tissus autour du somite qui induisent les cellules de ce dernier à se différencier? Pour répondre à cette question, des expériences de greffe, de culture d'explants, d'amputation du tube neural ou de la notochorde ont été pratiquées chez l'embryon de poulet ou de souris.

En l'absence de tube neural et de notochorde, l'activation de *Myf5* dans la partie médiane du somite de souris n'a pas lieu, alors que l'activation de *MyoD* dans la partie latérale peut avoir lieu. L'activation de *Myf5* est possible lorsque des explants de mésoderme paraxial sont cultivés en présence de tube neural et de la notochorde; dans ces expériences, l'activation de *MyoD* est obtenue en présence de l'ectoderme dorsal [8]. Les protéines Wnt (équivalent chez les mammifères de la protéine *Wingless* de drosophile) [22, 23], sécrétées par le tube neural, et la protéine *Shh* (*Sonic hedgehog*) (*m/s n° 4, vol. 12, p. 514*) [24] sont de bons candidats pour être les molécules effectrices. En effet, séparément, ces protéines n'ont pas d'effet activateur sur la mise en route de l'expression de *Myf5*, mais les deux protéines, ensemble, peuvent induire cette expression dans des explants maintenus en culture [25]. Isolément, la protéine *Shh* a un effet ventralisant et induit l'expression de *Pax1* dans le sclérotome. Les souris chez lesquelles le gène *Shh* a été invalidé montrent une expansion du domaine d'expression de *Pax3* dans la partie ventrale du somite et, à l'inverse, une expression réduite de *Pax1* qui devient transitoire et faible dans certains somites [26]. L'expression de *Myf5* à E9,5 chez ces souris montre que *Shh* n'est pas indispensable à l'activation précoce de *Myf5*.

Indépendamment des signaux provenant des structures axiales, l'ectoderme dorsal est capable d'activer l'expression de *MyoD* et d'induire la myogenèse, comme le montrent les expériences de co-culture de parties latérales du somite maintenues au

contact de l'ectoderme dorsal [8]. Les signaux positifs émis par l'ectoderme dorsal n'ont pas été caractérisés. L'activation tardive de *MyoD* observée *in vivo* dans la partie latérale du somite résulterait de l'action négative du mésoderme latéral adjacent. En effet, l'amputation de cette structure dans des expériences de microchirurgie permet une activation plus précoce de *MyoD* [9]. La protéine *BMP4* (*bone morphogenic protein*, de la famille du TGF β) [27] est une des protéines produites par le mésoderme latéral qui pourrait participer, transitoirement, à l'inhibition de l'expression de *MyoD* dans les cellules du somite proches de cette structure [28]. Ce signal négatif issu du mésoderme latéral empêche, par conséquent, l'expression trop précoce de *MyoD* et la différenciation des cellules, et active l'expression de *Pax3*, permettant à ces cellules de poursuivre leur division et, pour une partie d'entre elles, leur migration.

Double invalidation des gènes *Pax3* et *Myf5*

Alors que normalement *MyoD* s'exprime vers E10, ce démarrage de l'expression de *MyoD* est retardé d'environ 24 heures chez les souris *Myf5*^{-/-}, démontrant que le facteur *Myf5* est important pour l'initiation de l'expression de *MyoD* [17]. Néanmoins, *MyoD* finit par être activé, plus tardivement. Pour tester l'hypothèse selon laquelle *Pax3* pourrait être responsable de cette activation tardive de *MyoD*, des explants de mésoderme paraxial non segmenté de souris *splotch* ou de souris témoin ont été mis en culture en présence de l'ectoderme dorsal et en présence ou en absence de la structure axiale (l'absence de notochorde et du tube neural empêchent l'activation de *Myf5*). Le défaut d'activation de *MyoD* dans les explants *splotch*, et sa présence dans des explants témoins, est en faveur de l'importance de *Pax3* pour le contrôle positif de *MyoD*, et suggère que, dans certaines conditions, *Pax3* pourrait directement contrôler l'activation du gène *MyoD* [17]. La question se posait donc de savoir si *Pax3* pouvait activer la myogenèse.

Pour y répondre, on a infecté du mésoderme paraxial de poulet par un virus recombinant codant pour la protéine Pax3, et les explants ont été maintenus en absence de tube neural et d'ectoderme dorsal. Cinq jours après l'infection, 90 % des cellules infectées ont un phénotype musculaire et expriment *MyoD*, alors que *MyoD* est indétectable dans le mésoderme paraxial témoin, infecté par un virus dépourvu du transgène *Pax3* [25]. De plus, la surexpression de *Pax3* est capable de convertir en cellules myogéniques certains types cellulaires embryonnaires autres que ceux présents dans le mésoderme paraxial, en particulier des cellules du tube neural. Cela suggère que l'expression normale de *Pax3* observée dans certaines cellules du tube neural, par exemple, est, soit trop faible, soit soumise à un contrôle négatif qui permet d'éviter l'activation de *MyoD* et la myogenèse. Dans d'autres contextes, la surexpression de *Pax3* peut mener à des tumeurs chez la souris [29], et inhiber la différenciation de certaines lignées de cellules myogéniques [30]. La même situation est observée pour les cellules myogéniques qui migrent dans les membres, où *Pax3* est présent alors que *MyoD* et *Myf5* sont indétectables. Le contexte cellulaire, l'environnement et le niveau d'expression semblent par conséquent régler finement l'action de *Pax3* sur la myogenèse.

Puisque l'expression de *MyoD* semble contrôlée positivement à la fois par *Myf5* et par *Pax3* dans les cellules qui sont à l'origine du tissu musculaire, comment la différenciation des somites s'opère-t-elle chez les souris dont les deux gènes *Myf5* et *Pax3* sont invalidés ?

L'invalidation du gène *Myf5* chez les souris *splotch* conduit à l'absence totale de muscle dans le tronc et les membres [17], vraisemblablement parce que *MyoD* n'a pas pu déclencher la mise en route de la myogenèse au niveau des somites, n'étant activé ni par *Myf5* ni par *Pax3*. Ce résultat illustre de manière spectaculaire le rôle très important de *Pax3* dans le contrôle de l'expression de *MyoD* dans la partie latérale du somite. En revanche, chez ces ani-

maux qui n'expriment plus ni *Myf5* ni *Pax3*, les muscles de la tête sont présents [17]. Ce résultat montre que l'activation de *MyoD* dans les cellules précurseur du muscle au niveau du mésoderme paraxial cranien et du mésoderme préchordal ne dépend pas de *Pax3* (d'ailleurs aucune expression de l'ARNm codant pour cette protéine n'a pu être détectée à ce niveau); elle ne dépend peut-être pas non plus de *Myf5*, mais les expériences n'ont pas été réalisées pour éclairer ce dernier point. Ces résultats mettent en lumière l'hétérogénéité des programmes qui président à l'activation du lignage myogénique. Le fait que le gène *MyoD* ne soit pas activé par les mêmes effecteurs suivant la position des cellules et leur origine avait été illustré par l'étude en transgénèse des séquences régulatrices du gène *MyoD* (de - 6000 jusqu'à + 85 par rapport au site de début de la transcription) couplées au gène rapporteur *LacZ* codant pour la β -galactosidase. La synthèse de β -galactosidase a été comparée au profil d'accumulation de l'ARNm *MyoD* endogène. Alors que le transgène s'exprime avec la même cinétique que l'ARNm endogène au niveau des somites, un délai de 24 heures dans l'activation du transgène a été observé au niveau des membres, de 36 heures dans le mésoderme paraxial cranien et même de 3 jours dans la langue [31]. Ce résultat suggère que des séquences régulatrices distinctes de celles présentes dans le transgène étudié sont la cible de signaux qui permettent l'expression spatio-temporelle de *MyoD* ailleurs que dans les somites.

L'ensemble de ces résultats montre la grande diversité des signaux de régulation qui vont conduire à l'activation de la myogenèse, et reflète la diversité de l'origine des cellules musculaires ■

Remerciements

Les auteurs remercient S. Tajbakhsh, D. Daegelen, J. Demignon C. Moch et J.-P. Concordet pour leur lecture critique du manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Christ B, Ordahl CP. Early stages of chick somite development. *Anat Embryol* 1995; 191: 381-96.
- Ordahl CP, Le Douarin N. Two myogenic lineages within the developing somite. *Development* 1992; 114: 339-53.
- Ott MO, Robert B, Buckingham M. Le muscle, d'où vient-il ? *Med Sci* 1990; 6: 653-63.
- Alonso S. Des facteurs de régulation spécifiques de la myogenèse. *Med Sci* 1990; 6: 635-44.
- Ott MO, Bober E, Lyons G, Arnold H, Buckingham M. Early expression of the myogenic regulatory gene, *Myf-5*, in precursor cells of skeletal muscle in the mouse embryo. *Development* 1991; 111: 1097-107.
- Tajbakhsh S, Rocancourt D, Buckingham M. Muscle progenitor cells failing to respond to positional cues adopt non myogenic fates in *Myf-5* null mice. *Nature* 1996; 384: 266-70.
- Braun T, Arnold H-H. *Myf-5* and *MyoD* genes are activated in distinct mesenchymal stem cells and determine different skeletal muscle cell lineages. *EMBO J* 1996; 15: 310-8.
- Cossu G, Kelly R, Tajbakhsh S, Di Donna S, Vivarelli E, Buckingham M. Activation of different myogenic pathways: *Myf5* is induced by the neural tube and *MyoD* by the dorsal ectoderm in mouse paraxial mesoderm. *Development* 1996; 122: 429-37.
- Pourquie O, Coltey M, Bréant C, Le Douarin N. Control of somite patterning by signals from the lateral plate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3219-23.
- Megeney LA, Kablar B, Garrett K, Anderson JE, Rudnicki MA. *MyoD* is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes Dev* 1996; 10: 1173-83.
- Rudnicki MA, Schneglesberg PNJ, Stead RH, Braun T, Arnold HH, Jaenisch R. *MyoD* or *Myf5* is required for the formation of skeletal muscle. *Cell* 1993; 75: 1351-9.
- Gruss P, Wahler C. Pax in development. *Cell* 1992; 69: 719-22.
- Desplan C. Fonction des gènes *Pax*: synergie de liaison à l'ADN entre le domaine paired et l'homéodomaine. *Med Sci* 1997; 13: 147-55.
- Goulding M, Lumsden A, Paquette AJ. Regulation of Pax-3 expression in the dermomyotome and its role in muscle development. *Development* 1994; 120: 957-71.
- Williams BA, Ordahl CP. Pax3 expression in segmental mesoderm marks early stages in myogenic cell specification. *Development* 1994; 120: 785-96.
- Bober E, Franz T, Arnold HH, Gruss P, Tremblay P. Pax-3 is required for the development of limb muscles: a possible role for the migration of dermomyotomal muscle progenitor cells. *Development* 1994; 120: 603-12.

RÉFÉRENCES

17. Tajbakhsh S, Rocancourt D, Cossu G, Buckingham M. Redefining the genetic hierarchies controlling skeletal myogenesis: Pax-3 and Myf-5 act upstream of MyoD. *Cell* 1997; 89: 127-38.
18. Daston G, Lamar E, Olivier M, Goulding M. Pax-3 is necessary for migration but not differentiation of limb muscle precursors in the mouse. *Development* 1996; 122: 1017-27.
19. Epstein JA, Shapiro DN, Cheng J, Lam PYP, Maas RL. Pax3 modulates expression of the c-Met receptor during limb muscle development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4213-8.
20. Bladt F, Riethmacher D, Isenmann S, Aguzzi A, Birchmeier C. Essential role for the c-Met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 1995; 376: 768-77.
21. Yang XM, Vogan K, Gros P, Park M. Expression of the c-Met receptor tyrosine kinase in muscle progenitor cells in somites and limbs is absent in *shotch* mice. *Development* 1996; 122: 2163-71.
22. Bellaïche Y, Perrimon N. La voie de signalisation Wingless chez la drosophile. *Med Sci* 1997; 13: 166-74.
23. Deutsch J, Busson D. Des récepteurs pour les protéines de la famille Wnt, enfin? *Med Sci* 1997; 13: 222-4.
24. Concordet J. Morphogenèse, acide rétinique... et Sonic Hedgehog. *Med Sci* 1994; 10: 570-3.
25. Maroto M, Reshef R, Munsterberg AE, Koester S, Goulding M, Lassar AB. Ectopic Pax-3 activates *MyoD* and *Myf-5* expression in embryonic mesoderm and neural tissue. *Cell* 1997; 89: 139-48.
26. Chiang C, Litingtung Y, Lee E, Young KE, Corden JL, Westphal H, Beachy PA. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking *Sonic hedgehog* gene function. *Nature* 1996; 383: 407-13.
27. Hogan BLM, Blessing M, Winnier GE, Suzuki N, Jones CM. Growth factors in development: the role of TGF- β related polypeptide signalling molecules in embryogenesis. *Development* 1994; 120: 53-60.
28. Pourquoié O, Fan CM, Coltey M, Hirsinger E, Watanabe Y, Bréant C, Francis-West P, Brickell P, Tessier-Lavigne M, Le Douarin N. Lateral and axial signals involved in avian somite patterning. *Cell* 1996; 84: 461-71.
29. Maulbecker CC, Gruss P. The oncogenic potential of *Pax* genes. *EMBO J* 1993; 12: 2361-7.
30. Epstein JA, Lam P, Jepeal L, Maas RL, Shapiro DN. Pax3 inhibits myogenic differentiation of cultured myoblast cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 11719-22.
31. Asakura A, Lyons GE, Tapscott SJ. The regulation of *MyoD* gene expression: conserved elements mediate expression in embryonic axial muscle. *Development* 1995; 171: 386-98.

Pascal Maire
François Spitz

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014, Paris, France.

TIRÉS À PART

P. Maire.