

Implication de la plectine dans des maladies du cytosquelette

La résistance mécanique des cellules est liée à l'intégrité moléculaire des filaments intermédiaires et des jonctions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire qui permettent aux filaments intermédiaires d'interagir avec les membranes cellulaires et de constituer ainsi un réseau continu d'ancrage. Ce réseau transmet et dissipe dans le tissu environnant les *stress* mécaniques subis par la cellule. L'analyse des syndromes de fragilité épidermique, en particulier des épidermolyses bulleuses épidermolytiques, génodermatoses induites par des mutations des gènes des cytokératines K5 et K14, protéines majoritaires du cytosquelette des kératinocytes de l'assise basale de l'épiderme, a montré le rôle prépondérant des protéines des filaments intermédiaires dans la résistance des cellules épithéliales au *stress* mécanique. Les altérations moléculaires de ces cytokératines entraînent la formation d'un clivage intracytoplasmique déterminant la lyse des kératinocytes, puis la formation d'une bulle intraépidermique [1].

Dans l'épiderme, les desmosomes et les hémidesmosomes assurent, respectivement, les jonctions interkératinocytaires et la cohésion entre les kératinocytes de l'assise basale épidermique et le derme sous-jacent. Les constituants qui assurent la connexion des filaments intermédiaires intracytoplasmiques de cytokératines à ces structures d'ancrage ont été décrits [2-3]. Très récemment a été mis en évidence le rôle des molécules des hémidesmosomes, et notamment celui de la plectine, dans le maintien de l'échafaudage moléculaire qui assure l'architecture épidermique.

La plectine, protéine multifonctionnelle associée au cytosquelette

La plectine est une protéine de haut poids moléculaire qui a été isolée par co-purification avec la vimentine, un constituant des filaments intermédiaires de type III [4]. Il a été montré que la plectine s'associe également à d'autres protéines des filaments intermédiaires, y compris les cytokératines et les lamines nucléaires, et qu'elle est synthétisée dans une grande variété d'épithéliums, de tissus mésenchymateux, y compris le muscle, et le tissu nerveux [5-6]. Dans les cellules en culture, la plectine est localisée sur les sites de fixation des filaments intermédiaires aux membranes cellulaires et s'associe aux microtubules, aux membranes cellulaires et aux complexes jonctionnels [7]. La plectine est également présente aux sites de fixation des fibres de *stress* d'actine et est enrichie dans les contacts focaux [8]. Dans de très nombreux types cellulaires, cette protéine interagit donc avec au moins trois réseaux du cytosquelette [9-10] : les microfilaments, les filaments intermédiaires et les microtubules. L'interaction des filaments intermédiaires avec le cytosquelette d'actine serait relayée par l'association de la plectine à la myosine II ou un composant associé [7].

La plectine présente des ressemblances structurales et immunologiques mais également des différences avec IFAP 300, une protéine de 300 kDa associée aux filaments intermédiaires, aux hémidesmosomes et aux desmosomes, faisant évoquer la possibilité que la plectine et IFAP 300 soient des isoformes

[11]. Le séquençage d'un fragment d'ADN complémentaire de la plectine, cloné à partir de cellules C6 de gliomes de rat, a révélé de fortes similitudes entre cette protéine et la desmoplakine, une protéine des desmosomes, et l'antigène BP230 de la pemphigoïde bulleuse, un constituant de la plaque interne des hémidesmosomes [12]. Récemment, l'analyse des ADN complémentaires de la plectine humaine isolés de placenta et de kératinocytes humains a révélé l'existence de deux variants de 4684 acides aminés (527 kDa) et de 4574 acides aminés (518 kDa) qui diffèrent par la taille de l'extrémité amino-terminale [13, 14]. Près de cette extrémité, la plectine présente un domaine de liaison à l'actine analogue à celui de la spectrine, ce qui explique que la plectine et l'actine soient souvent co-purifiées. Le domaine globulaire situé en aval de ce domaine présente des analogies de séquence avec les domaines globulaires analogues de la desmoplakine, de l'envoplakine et de l'antigène BP230 de la pemphigoïde bulleuse. Le domaine central linéaire est une alternance d'acides aminés chargés positivement et négativement qui lui confèrent une structure rigide de type *coiled-coil*, en bâtonnet. Ce type de domaine en bâtonnet, est très conservé dans la famille des plakines. Étant donné que les anticorps dirigés contre des épitopes du domaine central linéaire de la plectine entravent l'auto-association de la molécule [6], il est vraisemblable que la protéine forme des dimères grâce à des interactions impliquant directement ce domaine. Comme les autres membres de la famille des plakines, la plectine possède un domaine car-

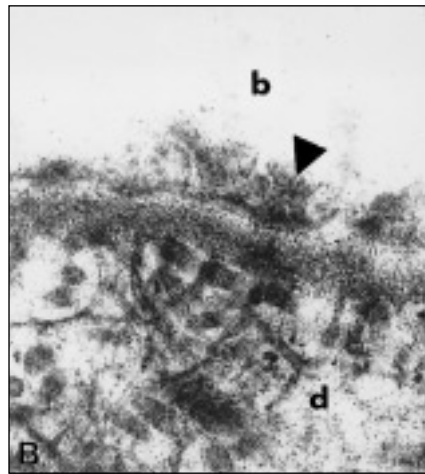


Figure 1. **Aspect ultrastructural de l'assise basale de l'épiderme de patients atteints d'épidermolyse bulleuse héréditaire récessive associée à une dystrophie musculaire.** **A.** Le clivage entre l'épiderme (e) et le derme (d) se produit dans le cytoplasme des kératinocytes, immédiatement au dessus des hémidesmosomes. **b** = lumière de la bulle. **B.** Fort grossissement du plancher de la bulle, montrant que les hémidesmosomes restent attachés à la jonction dermoépidermique (tête de flèche). **b** = lumière de la bulle.

boxy-terminal formé de motifs répétés de 300 acides aminés. Le sixième motif, à l'extrémité carboxy-terminale de la molécule, constitue le site d'interaction avec les filaments intermédiaires [15]. Durant la mitose, cette association dépend d'une phosphorylation impliquant la kinase p34cdc2 [16], dont le site – la thréonine 4542 – réside dans le sixième motif répétitif du globule carboxy-terminal [17]. Les sites de phosphorylation de la plectine par la protéine kinase A résident également dans ce domaine [17]. Des études ultrastructurales en ombrage rotatoire ont confirmé cette organisation en quatre domaines qui donnent de la plectine une image caractéristique en battant de cloche.

Les deux isoformes de plectine identifiées à ce jour sont codées par le même gène *PLEC1*, très compact, localisé sur le génome humain en 8q24. L'isoforme placentaire est codée par 32 exons (32 kb), tandis que l'isoforme épidermique est codée par 33 exons (26 kb) : les deux premiers exons de celle-ci ne sont pas présents dans l'isoforme placentaire, qui, pour sa part, a un premier exon en 5' qui lui est spécifique. L'organisation du gène *PLEC1* est similaire à celle du gène *BPAG1* qui code pour

BP230, localisé sur le chromosome 6, ce qui indiquerait une origine phylogénétique commune.

Des mutations de la plectine induisent l'épidermolyse bulleuse simple associée à une dystrophie musculaire

La localisation de la plectine dans les hémidesmosomes et son implication dans une forme rare d'épidermolyse bulleuse héréditaire récessive associée à une dystrophie musculaire (EBS-DM) ont été montrées tout récemment [18-19]. L'EBS-DM est une affection autosomique récessive se caractérisant par une fragilité cutanée présente dès la naissance, à laquelle s'associe une dystrophie musculaire qui apparaît généralement au cours de la deuxième ou de la troisième décennie. Les décollements épidermiques se produisent dans le cytoplasme des kératinocytes de l'assise basale, immédiatement au-dessus des hémidesmosomes. La morphologie des hémidesmosomes est peu modifiée à l'exception d'une absence ou d'une atrophie de leur plaque dense interne qui fait contact avec les filaments de cytokératines [19-20]. Il a été montré que la plaque intracytoplasmique des hémidesmo-

somes est constituée de BP230, et d'une protéine de haut poids moléculaire, appelée initialement HD1, localisée dans la région la plus interne de la plaque intracytoplasmique [21-22]. Étant donné que l'anticorps HD121, qui reconnaît HD1, identifie aussi une protéine de taille identique à celle détectée par les anticorps monoclonaux antipectine, il est maintenant admis que HD1 est une isoforme épidermique de la plectine [18]. La survenue du clivage de l'EBS-DM dans la plaque intracytoplasmique des hémidesmosomes a conduit à considérer les gènes codant pour BP230 (*BPAG1*) et la plectine comme des candidats pour cette affection. Cette hypothèse était vraisemblable puisque l'inactivation de *BPAG1* chez la souris entraîne une dermatose bulleuse ayant la caractéristique d'une EBS [23]. De plus, l'immunomarquage des tissus de patients atteints d'EBS-DM avec les anticorps monoclonaux dirigés contre la plectine montre une absence d'immunoréactivité de la jonction dermoépidermique et du sarcolemme des fibres musculaires [18].

Le clonage du gène *PLEC-1* humain a permis la mise au point d'une stratégie de recherche des mutations de ce gène et leur détection dans plusieurs familles atteintes d'EBS-DM, conduisant ainsi à la compréhension des bases moléculaires de la maladie. En effet, chez les patients atteints d'EBS-DM, l'absence d'immunomarquage du muscle par des anticorps antipectine est corrélée à la désorganisation du réseau de desmine dans les myofibrilles [15]. Il est donc très vraisemblable que la perturbation des interactions moléculaires normales dans le sarcolemme causée par l'absence de molécules fonctionnelles de plectine entraîne les altérations musculaires observées au cours de la maladie. Certaines dystrophies musculaires sont dues à des anomalies du complexe dystrophine-glycoprotéines de la membrane basale musculaire. Ainsi l'absence de dystrophine, qui lie le cytosquelette d'actine de la région sous-sarcolemmale au complexe glycoprotéinique de la membrane entraîne la dystrophie musculaire de Duchenne

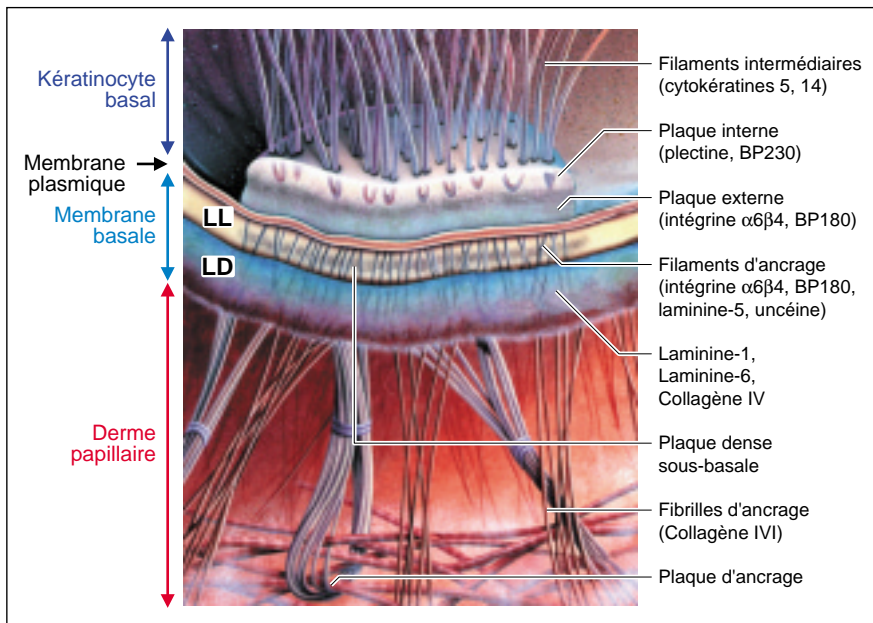


Figure 2. **Représentation schématique du complexe hémidesmosomes-filaments d'ancrage.** (Modifié d'après *Dermatology, a medical artist's interpretation*, Audra J. Geras, monographie Sandoz Pharma Ltd, 1990).

(*m/s* n° 12, vol. 11, p. 1732). Par analogie, l'absence d'une protéine multifonctionnelle d'adhérence comme la plectine peut expliquer l'atteinte

cutanée et musculaire au cours de l'EBS-DM. Le faible nombre de familles étudiées ne permet pas d'établir des corrélations entre géno-

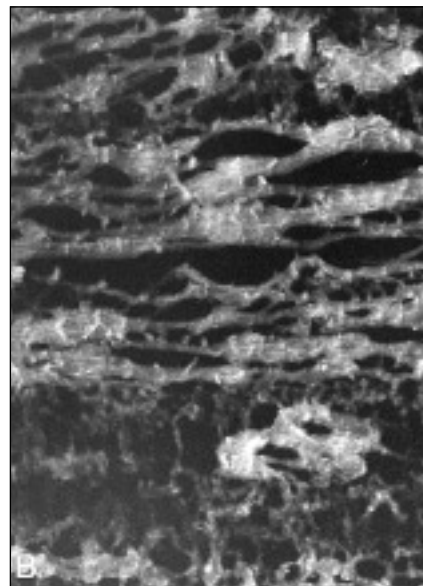
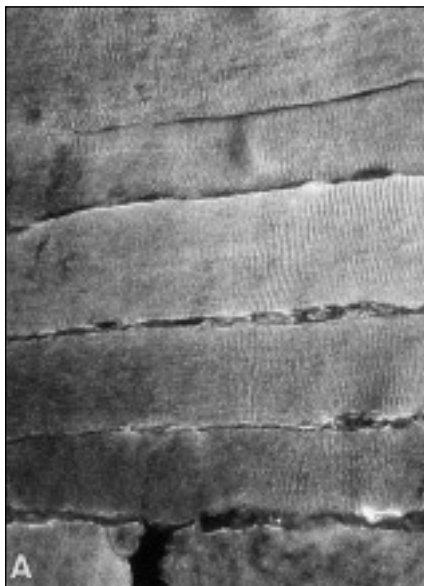


Figure 3. **Immunomarquage du muscle strié d'un sujet sain (A) et d'un patient atteint d'EBS-DM (épidermolyse bulleuse héréditaire récessive associée à une dystrophie musculaire) avec un anticorps antidesmine.** Le marquage régulier est détecté sur les bandes Z du muscle normal (A). Dans le muscle EBS-DM (B), le marquage diffus, irrégulier traduit la désorganisation du cytosquelette musculaire.

type et phénotype clinique [19-20]. L'atteinte musculaire est très variable chez les patients EBS-DM, puisque chez certains elle peut se manifester très précocement vers l'âge de deux ans et, dans d'autres cas, beaucoup plus tardivement, chez l'adulte. Les raisons de cette variabilité clinique ne sont pas connues, mais le début précoce de la dystrophie musculaire a été observé chez un patient EBS-DM porteur de mutations entraînant l'apparition d'un codon non-sens en position 5' du message qui cause une absence totale de plectine dans le muscle (*figure 2*).

Une autre forme d'EBS, appelée forme de Ogna, pourrait également être liée à des mutations dans *PLEC-1*. Cette affection autosomique dominante associe une éruption bulleuse des mains et des pieds et une tendance aux ecchymoses [25]. Le clivage se produit dans les kératinocytes de l'assise basale de l'épiderme, au-dessus des hémidesmosomes. Le gène en cause dans cette affection a été localisé dans la même région du chromosome 8 que *PLEC-1*. L'absence d'immunoréactivité de la peau de ces patients vis-à-vis de deux anticorps monoclonaux antipectine renforce l'hypothèse d'une implication de *PLEC-1*. Toutefois, la persistance de l'immunoréactivité avec d'autres anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes différents de la plectine suggère l'existence d'une altération localisée de cette molécule dans cette forme d'EBS.

Des autoanticorps circulants antipectine ont été détectés chez un patient présentant une dermatose bulleuse acquise ressemblant à la pemphigoïde bulleuse [26-28]. Le criblage d'une banque d'ADNc de kératinocytes épidermiques à l'aide de ces auto-anticorps a permis l'isolement de clones dont le séquençage montre qu'ils correspondent à un variant épidermique de la plectine [28].

La plectine est donc un élément essentiel de l'organisation tridimensionnelle du cytosquelette cellulaire qui assure la liaison entre les trois réseaux principaux de filaments cytoplasmiques: les filaments intermédiaires, les microfilaments et les microtubules [7]. L'importance de cette protéine multifonctionnelle est

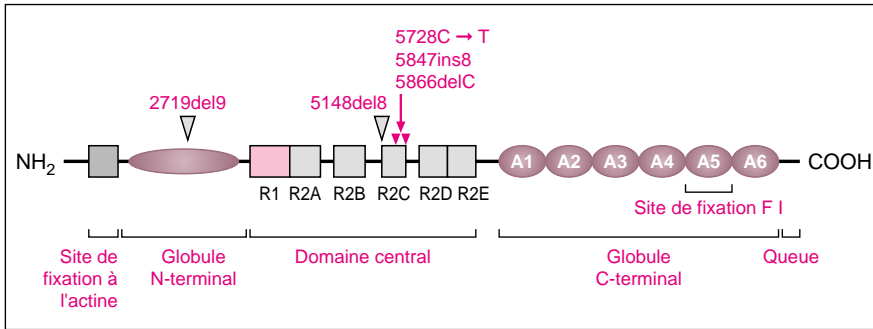


Figure 4. **Réprésentation schématique de la molécule de plectine.** Les différents domaines de la protéine sont désignés selon la nomenclature définie par Wiche et al. [9, 19]. Les emplacements des mutations identifiées à ce jour chez des patients homozygotes pour l'EBS-MD (épidermolyse bulleuse héréditaire récessive associée à une dystrophie musculaire) sont indiqués. Les mutations affectant le sous-domaine R2D du domaine central aboutissent à des terminaisons prématurées de la traduction des messages plectine. Les tissus du patient porteur de la mutation 2717 del 19, responsable d'une délétion en phase du tripeptide QEA (Gln-Glu-Ala) du globule amino-terminal, demeurent faiblement réactifs avec l'anticorps HD-121 [24]. Cette faible réactivité est à rapprocher de la manifestation tardive de la dystrophie musculaire (35 ans) observée chez ce patient.

attestée par la sévérité des maladies liées aux mutations de *PLEC-1*. BP230, un autre constituant des hémidesmosomes joue vraisemblablement un rôle comparable à celui de la plectine, car son inactivation induit, chez la souris, le développement d'une dystonie musculaire associée à une dermatose bulleuse congénitale [23]. A ce jour, aucune maladie humaine héréditaire, cutanée, musculaire ou neurologique n'a encore été attribuée à *BPAG1* [29], mais l'implication de ce gène dans des affections multissistémiques caractérisées par une désorganisation du cytosquelette cellulaire est très vraisemblable ■

Note ajoutée aux épreuves

Depuis la rédaction de cet article, quatre isoformes de plectine d'expression tissulaire variées ont été récemment identifiées (C.E. Elliot *et al.* Plectin transcript diversity : identification and tissue distribution of variants with distinct first coding exons and rodless isoforms. *Genomics* 1997; 42: 115-25.

RÉFÉRENCES

1. Bruckner-Tuderman L. Epidermolysis bullosa. In: Royce P, Steinmann B, eds. *Connective tissue and its heritable disorders. Molecular, genetic and medical aspects*. New York: Wiley-Liss, 1993: 507-32.
2. Green KJ, Jones JCR. Desmosomes and hemidesmosomes: structure and function of molecular components. *FASEB J* 1996; 10: 871-81.
3. Borradori L, Sonnenberg A. Hemidesmosomes: roles in adhesion, signaling and human diseases. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8: 647-56.
4. Wiche G, Hermann H, Leichfried F, Pytela T. Plectin a high-molecular-weight cytoskeletal polypeptide component that copurifies with intermediate filaments of the vimentin type. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory 1981; 46: 475-82.
5. Foisner R, Leichfried FE, Herrmann H, Small JV, Lawson D, Wiche G. Cytoskeleton-associated plectin - *in situ* localization, *in vitro* reconstitution, and binding to immobilized intermediate filament proteins. *J Cell Biol* 1988; 106: 723-33.
6. Foisner R, Feldman B, Sander I, Wiche G. Monoclonal-antibody mapping of structural and functional plectin epitopes. *J Cell Biol* 1991; 112: 397-405.
7. Svitkina TM, Verkhovskiy AB, Borisy GG. Plectin sidearms mediate interaction of intermediate filaments with microtubules and other components of the cytoskeleton. *J Cell Biol* 1996; 135: 991-1007.
8. Seifert GJ, Lawson D, Wiche G. Immunolocalization of the intermediate filament-

associated protein plectin at focal contacts and actin fibers. *Eur J Cell Biol* 1992; 59: 138-47.

9. Foisner R, Bohn W, Mannweiler K, Wiche G. Distribution and ultrastructure of plectin arrays in subclones of rat glioma C-6 cells differing in intermediate filament protein (vimentin) expression. *J Struct Biol* 1995; 115: 304-17.

10. Wiche G, Krepler R, Artlieb U, Pytela R, Aberer W. Identification of plectin in different human cell-types and immunolocalization at epithelial basal-cell surface-membranes. *Exp Cell Res* 1984; 155: 43-9.

11. Skalli O, Jones JCR, Gageslu R, Goldman RD. IFAP 300 is common to hemidesmosomes and desmosomes and is a possible linker of intermediate filaments to these junctions. *J Cell Biol* 1994; 125: 159-70.

12. Wiche G, Becker B, Lubert K, Weitzer G, Castanon MJ, Hauptmann R, Stratowa C, Stewart MT. Cloning and sequencing of rat plectin indicates a 466-kd polypeptide-chain with a 3-domain structure based on a central alpha-helical coiled coil. *J Cell Biol* 1991; 114: 83-99.

13. Liu CG, Maercker C, Castanon MJ, Hauptmann R, Wiche G. Human plectin: organization of the gene sequence analysis, and chromosome localization (Bq24). *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4278-83.

14. McLean WHI, Pulkkinen L, Smith FJD, Rugg EL, Lane EB, Bullrich F, Burgesson RE, Amato S, Hudson DL, Owaribe K, *et al.* Loss of plectin causes epidermolysis bullosa with muscular dystrophy: cDNA cloning and genomic organization. *Genes Dev* 1996; 10: 1724-35.

15. Wiche G, Gromov D, Donovan A, Castanon MJ, Fuchs E. Expression of plectin mutant cDNA in cultured cells indicates a role of COOH-terminal domain in intermediate filaments association. *J Cell Biol* 1993; 121: 607-19.

16. Foisner R, Malecz N, Dressel N, Stadler Ch, Wiche G. M-phase specific phosphorylation and structural rearrangement of the cytoplasmic cross-linking protein plectin involves p34cdc2 kinase. *Mol Biol Cell* 1996; 7: 273-88.

17. Malecz N, Foisner R, Stadler Ch, Wiche G. Identification of plectin as a substrate of p34cdc2 kinase and mapping of a single phosphorylation site. *J Biol Chem* 1996; 271: 8203-8.

18. Gache Y, Chavanas S, Lacour JP, Wiche G, Owaribe K, Meneguzzi G, Ortonne JP. Defective expression of plectin in epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy. *J Clin Invest* 1996; 97: 2289-98.

19. Chavanas S, Gache Y, Pulkkinen L, Uitto J, Ortonne JP, Meneguzzi G. A homozygous mutation in the *PLEC1* gene in patients with epidermolysis bullosa simplex with muscular dystrophy. *J Clin Invest* 1996; 98: 2196-200.

20. Smith FJD, Eady RAJ, McMillan JR, Leigh IM, Geddes JF, Kelsell DP, Bryant SP, Spurr NK, Kirtschig G, Milana G, de Bono AG, Owaribe K, Wiche G, Pulkkinen L,

Uitto J, Rugg EL, McLean WHI, Lane EB. Plectin deficiency results in muscular dystrophy with epidermolysis bullosa. *Nature Genet* 1996; 13: 450-7.

21. Tamai K, Sawamura D, Choi Do HY, Li K, Uitto J. Molecular biology of the 230-kD bullous pemphigoid antigen. Cloning of the *BPAG1* gene and its tissue-specific expression. *Dermatology* (suppl) 1994; 189: 27-33.

22. Wiche G. Plectin: general overview and appraisal of its potential role as a subunit of the cytomatrix. *CRC Crit Rev Biochem* 1989; 24: 41-67.

23. Guo L, Degenstein L, Dowling J, Yu QG, Wollmann R, Perman B, Fuchs E. Gene targeting of *BPAG1*: abnormalities in mechanical strength and cell migration in stratified epithelia and neurologic degeneration. *Cell* 1995; 81: 233-43.

24. Pulkkinen L, Smith FJD, Shimizu H, et

al. Homozygous deletion mutations in the plectin gene (*PLEC1*) in patients with epidermolysis bullosa simplex associated with late-onset muscular dystrophy. *Human Molec Genet* 1996; 5: 1539-46.

25. Koss-Harnes D, Jahnsen FL, Wiche G, Soyland E, Brandtzaeg P, Gedde-Dahl T. Plectin abnormality in epidermolysis bullosa simplex Onga: non-responsiveness of basal keratinocytes to some anti-rat plectin antibodies. *Exp Dermatol* 1996; 5: 237-46.

26. Fujiwara S, Shinkai H, Takayasu S, Owari K, Tsukita S, Kageshita T. A cause of subepidermal blister disease associated with autoantibody against 450 kD protein. *J Dermatol* 1992; 19: 610-13.

27. Fujiwara S, Kohno K, Iwamatsu A, Shinkai H. A new bullous pemphigoid antigen. *Dermatology* 1994; 189 (suppl 1): 120-2.

28. Fujiwara S, Kohno K, Iwamatsu A, Naito I, Shinkai H. Identification of a 450-kDa

human epidermal autoantigen as a new member of the plectin family. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1125-30.

29. Bousquet O, Coulombe PA. Cytoskeleton: missing links found? *Current Biol* 1996; 6: 1563-6.

**Jean-Paul Ortonne
Guerrino Meneguzzi**

Insertm U. 385, Faculté de médecine, Université de Nice-Sophia Antipolis, 06107 Nice Cedex 2, France.

TIRÉS À PART

J.-P. Ortonne.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **La choroidéramie: une preuve de plus que l'homme est différent de la souris.** La choroidéramie (CHM) est une maladie récessive liée à l'X caractérisée par une dégénérescence rétinienne progressive (*m/s n° 3, vol. 9, p. 339*). Le gène, *CHM*, localisé en Xq21.2, code pour une protéine ubiquitaire: REP-1 (pour *Rab escort protein*), active dans un système de transfert des protéines à la membrane. Tout n'étant pas pour autant compris dans le mécanisme pathogénique de la choroidéramie, le groupe hollandais ayant isolé le gène *CHM* voulut l'invalider chez la souris [1]. Cette invalidation du gène *chm/rep1* fut réussie mais, comme nous allons le voir, elle ne permit pas d'entreprendre les recherches projetées en raison de l'effet léthal, assez inattendu, qu'elle provoque chez ces souris. Les animaux chimères mâles transmièrent le gène muté à leurs filles. Mais ces femelles hétérozygotes ne produisirent ni mâles affectés ni femelles vectrices. Une sélection avait donc dû se produire, soit pendant la gamétogenèse, soit pendant l'embryogenèse. Pour s'en assurer, des embryons de femelles hétérozygotes

F1 furent prélevés au stade blastocyste. Certains possédaient effectivement le transgène, soit à l'état hémizygotique chez un mâle, soit à l'état hétérozygotique chez deux femelles. Le gène invalidé doit donc être léthal précocement au cours de la vie embryonnaire puisque aucun mort-né ne fut observé dans les portées. Cet effet léthal s'exerce chez le mâle hémizygotique, mais, et cela est plus surprenant, il s'exerce aussi chez la femelle hétérozygotique, uniquement quand le gène muté est d'origine maternelle. Or, chez les souris F2 ayant reçu l'X muté de leur mère et l'X normal de leur père, le gène *Rep-1* est fonctionnellement inactif dans les tissus extra-embryonnaires puisqu'on sait que l'X paternel est préférentiellement inactif dans ces tissus chez la souris (*m/s n° 5, vol. 12, p. 636*). Le gène *rep-1* serait donc nécessaire au développement de ces tissus. Dans l'espèce humaine, il semble que l'X paternel soit, lui aussi, préférentiellement inactif, mais de façon moins systématique. Mais, en admettant même qu'il existe une différence entre le mécanisme d'inactivation des X murin et humain, celle-ci ne peut, à elle

seule, expliquer l'effet léthal de l'invalidation du gène chez la souris. Il semble beaucoup plus probable que le système auquel appartient la protéine REP1 soit différent dans les deux espèces. Faute de mieux, les conséquences oculaires de l'invalidation de *Rep1* furent étudiées chez les chimères mâles et chez les femelles hétérozygotes F1 qui sont, elles aussi, des chimères du fait de l'inactivation au hasard du chromosome X. Dans les deux cas, on trouve à l'électrorétinogramme des modifications caractéristiques d'un dysfonctionnement des photorécepteurs confirmé par l'histologie, la rétine étant composée d'un mélange de plages normales et de plages complètement dépourvues de photorécepteurs. Confirmation est ainsi faite du rôle du gène *REP-1* sur le développement et le maintien des photorécepteurs. Ce travail a un autre mérite: il confirme qu'il peut exister d'importantes différences entre le développement embryonnaire des souris et celui des humains.

[1. Van den Hurk JAJM, et al. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 851-8.]