

Du sang au sexe : GATA2 et le développement urogénital

Les différents membres de la famille GATA ont un rôle majeur dans la prolifération et la différenciation de lignages cellulaires variés. Ces facteurs de transcription ont tous une spécificité tissulaire plus ou moins stricte. GATA-1, le premier décrit dans les cellules érythroïdes, est nécessaire aussi au développement des mégacaryocytes. GATA-3 semble particulièrement important dans la lymphopoïèse, alors que GATA-4, -5 et -6 constituent un sous-groupe majoritairement impliqué dans la régulation des gènes du cœur et la spécification ventrale. Le facteur GATA-2 a été impliqué davantage dans des réponses prolifératives et des voies de développement n'ayant pas entre elles de lien évident. L'invalidation de *Gata2* chez la souris, tout en montrant un rôle majeur dans l'embryogenèse, avait cependant focalisé l'attention sur les premières phases de l'hématopoïèse : les embryons mouraient à mi-course de la gestation par défaut d'érythrocytes primitifs (*m/s* 1994, n° 11, p. 1174).

L'invalidation d'un gène chez la souris, par différents abords, est depuis plus d'une décennie une technique bien rodée. Une limite évidente est, cependant, le cas où une mutation nulle ne permet pas la survie de l'embryon au-delà d'un premier blocage au cours du développement. Une autre fonction du même gène, plus tardive que ce premier événement, peut s'en trouver masquée. On a alors imaginé d'autres outils, gènes chimères, allèles hypomorphes, qui ont l'inconvénient de toujours se focaliser sur la même fonction, et donc de ne pas saisir les détails d'une hiérarchie de régulation transcriptionnelle. Pour comprendre la fonc-

tion d'un gène, l'expression doit pouvoir en être étudiée *in vivo* à ses différentes étapes.

C'est ce type d'étude, révélant une fonction inconnue du gène *GATA-2*, que présente un groupe de deux équipes américaines, celle de J.D. Engel (Evanston, IL) et celle formée de S.H. Orkin (Boston, MA) et de l'équipe japonaise de M. Yamamoto [1]. Pour ce faire, les auteurs ont construit des YAC, de longueurs différentes (250, 200 et 120 kb), mais contenant tous la séquence codante *GATA-2*, leur différence étant la longueur de la région 5' non traduite promotrice (*figure 1*). Ces YAC ont été modifiés par insertion d'un gène rapporteur *LacZ*, isolés par électro-

phorèse en champ pulsé, puis utilisés pour la génération d'animaux transgéniques. Une première étape a été alors le suivi de ces transgènes marqués, colorables spécifiquement par la β -galactosidase, dans le système hématopoïétique. Dans le cas du transgène de 250 kb (d16Z), l'expression de *GATA-2* est forte tant au niveau de la lignée érythropoïétique primitive, détectée au niveau du sac vitellin, qu'à celui du compartiment de l'érythropoïèse définitive ; une coloration précoce, contemporaine de celle du sac vitellin, est observée dès le 9^e jour de la vie embryonnaire (E9,0-9,5) dans la région du mésonephros, puis au niveau du foie fœtal à partir de E10,5, ultérieurement dans

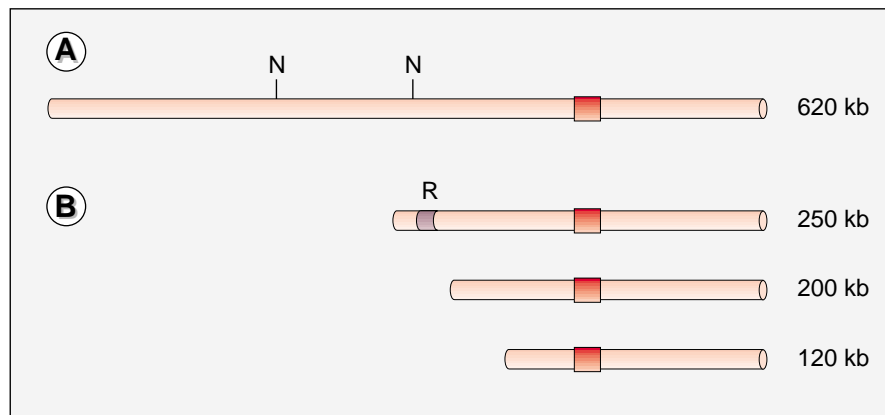


Figure 1. **Les différents YAC employés au cours de l'étude fonctionnelle de GATA-2.** A. Un YAC de 620 kb a été isolé à partir d'une banque de YAC, et son intégrité vérifiée par la carte de restriction. N : sites de clivage de l'enzyme NotI. Le gène de structure *GATA-2* est représenté par le carré rouge. B. Différents YAC ont été ensuite obtenus par des délétions successives en 5', afin d'obtenir des YAC dont la taille permettait une injection à la souris (250, 200 et 120 kb). Seul le premier, d16 de 250 kb s'est avéré capable de corriger le défaut de l'hématopoïèse primitive. L'élément régulateur (R) de cette hématopoïèse se trouve donc localisé dans le segment d'environ 50 kb situé en 5' à plus de 100 kb du gène de structure.

la moelle osseuse et certaines cellules hématopoïétiques de la rate adulte (*m/s* 1998, n° 5, p. 662). A l'examen des souris ayant intégré les deux autres transgènes plus courts, on constate une absence pratiquement totale de l'expression de *lacZ*. Une première conclusion était donc l'existence à plus de 100 kb en 5' du gène *GATA2* de l'élément régulateur permettant éventuellement de compenser le déficit d'une invalidation. Les mêmes animaux transgéniques pour un gène modifié par *lacZ* ont été utilisés pour vérifier que l'expression du transgène, en dehors du système hématopoïétique, coïncidait avec l'expression normale de *GATA-2* dans le placenta, le système nerveux central, le cœur en développement. En fonction de ces premiers résultats, c'est le transgène d16 de 250 kb, soit environ 20 fois la taille du gène de structure, qui a été employé ultérieurement comme élément de correction d'une invalidation du gène.

Si la létalité de l'embryon était due à une carence de la prolifération érythroïde primitive, on devait, en effet, pouvoir la corriger par un YAC comportant l'élément régulateur [2]. Après un marquage neutre du YAC d16 (clone d16B) et l'obtention d'animaux transgéniques, des croisements successifs avec des souris *GATA-2^{+/-}* ont permis d'obtenir des animaux *GATA-2^{+/-}::YACd16B*, puis dans un deuxième temps *GATA-2^{+/-}::YACd16B*. Ces souris se sont avérées viables jusqu'à terme; tous les mutants composites présentaient un sac vitellin normal et bien vascularisé, une expression de *GATA-2* quasiment normale; tous les examens hématologiques, frottis de sang périphérique ou de moelle osseuse, étaient semblables à ceux des animaux témoins.

Le défaut de l'hématopoïèse était donc pleinement compensé.

Ces animaux, nés dans les proportions mendéliennes attendues, sont tous morts en quelques jours. L'examen nécropsique des souriceaux a montré chez tous la même lésion: une hydrourétéronéphrose, avec dilatation liquide des reins et des uretères. L'évolution de la lésion a été explorée à différents stades de l'embryogenèse. A E14,5 le métanéphros des embryons composites est encore normal, la glomérulogenèse n'est donc pas affectée. C'est dans les jours suivants, entre E14,5 et E17,5, qu'apparaissent des kystes, en même temps que commence l'excrétion urinaire; une obstruction urinaire distale a, en effet, été retrouvée après injection d'un colorant. Une étude histologique plus poussée a ensuite révélé de nombreuses lésions dans les systèmes excrétoires et les organes sexuels. On observe dans 50 % des cas une distension du rectum et, très fréquemment, chez les animaux mâles ou femelles, des anomalies évoquant un arrêt prématuré du développement urogénital. Un examen des embryons plus précoces, à E14,5, a confirmé une agénésie des canaux de Müller, et un accolement des uretères et des canaux de Wolff. Encore plus tôt, à E 11,5-12,5, on constate une absence d'expression de *GATA-2* au niveau des bourgeons du système urogénital. Un trouble précoce de la morphogenèse de l'uretère et de la vessie semble au total pouvoir expliquer toutes les anomalies phénotypiques. L'ensemble des résultats montre que le YAC de 250 kb, qui compense le trouble de l'hématopoïèse, est cependant dénué d'un autre élément régulateur majeur, nécessaire pour l'expression normale de *GATA-2*, et dont l'absence

entraîne la pathologie spécifique d'un organe. Le facteur *GATA-2* est finalement indispensable à l'hématopoïèse et à la morphogenèse urogénitale, ce dernier phénotype s'étant trouvé masqué par le déficit de l'hématopoïèse.

Quelle peut être la nature du défaut d'expression de *GATA-2* traduit par un spectre phénotypique aussi vaste? Une fonction de ce facteur lui-même dans les tissus affectés? ou la mise en route d'une voie de signalisation? Les ligands et/ou récepteurs spécifiques répondraient alors par le remodelage ou la différenciation des différents tissus, sans doute à des périodes spécifiques de l'embryogenèse. Les deux hypothèses ne sont pas incompatibles, les ligands et récepteurs sont encore à identifier. Un point intéressant est la similitude entre les phénotypes liés à ce déficit en *GATA-2* et ceux qui ont été décrits au cours de mutations des gènes *hox* distaux chez les souris par le groupe de P. Chambon [3]. Il semblerait que *GATA-2* et ces gènes *hox* soient impliqués dans le même parcours au cours du développement urogénital.

D.L.

1. Zhou Y, Lim KC, Onodera K, Takahashi S, Ohta J, Minegishi N, Tsai FY, Orkin SH, Yamamoto M, Engel JD. Rescue of the embryonic lethal hematopoietic defect reveals a critical role for *GATA-2* in urogenital development. *EMBO J* 1998; 17: 6689-700.

2. Tsai FY, Keller G, Kuo FC, Weiss M, Chen J, Rosenblatt M, Alt FW, Orkin SH. An early haematopoietic defect in mice lacking the transcription factor *GATA-2*. *Nature* 1994; 371: 221-6.

3. Warot X, Fromental-Ramain C, Fraulob V, Chambon P, Dollé P. Gene dosage-dependent effects of the *Hoxa-13* and *Hoxd-13* mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts. *Development* 1997; 124: 4781-91.