

L « transdifférenciation » du muscle lisse en muscle squelettique dans l'œsophage est dirigée par *Myf5* et *MyoD*

Les facteurs myogéniques *Myf5*, *MyoD*, Myogénine et *Mrf4*, sont des facteurs de transcription à motif bHLH (pour basique Hélice-Boucle-Hélice) et jouent des rôles essentiels dans le développement du muscle squelettique [1, 2]. Ils ont la surprenante capacité d'induire la conversion myogénique de cellules non musculaires en culture lorsqu'ils sont exprimés de façon ectopique. *In vivo*, l'invalidation génique de ces quatre facteurs a permis de mettre en évidence une hiérarchie et une possible redondance au sein du réseau qu'ils forment entre eux, et de les classer en deux groupes fonctionnels : les facteurs myogéniques « primaires », *MyoD* et *Myf5*, sont requis pour la détermination des myoblastes (précurseurs musculaires), alors que les facteurs « secondaires », Myogénine et *Mrf4*, interviennent plus tard, lors de la différenciation. En effet, si le muscle squelettique se forme en l'absence soit de *Myf5* soit de *MyoD*, les souris *Myf5*^{-/-}/*MyoD*^{-/-}, qui n'expriment aucun de ces deux facteurs, sont totalement dépourvues de muscle squelettique et meurent à la naissance. La formation des muscles de la tête, des membres et du corps est donc dépendante des facteurs myogéniques primaires (*m/s* 1997, n° 10, p. 1182). Chez les vertébrés, la plupart des muscles du squelette se forment à partir de cellules provenant des somites, structures mésodermiques métamériques, situées de part et d'autre du tube neural [3]. Seuls les muscles crâniens ne sont pas dérivés des somites mais du mésoderme paraxial céphalique ou du mésoderme préchordal. Il est important de préciser que ces facteurs myogéniques agissent uniquement dans

le muscle squelettique, et pas dans le muscle strié cardiaque ou le muscle lisse.

L'œsophage est un paradigme intéressant. En effet, alors que le reste du tube digestif est composé de muscle lisse, la musculature externe du segment cervical et de la majeure partie du segment thoracique de l'œsophage d'une souris adulte est constituée de muscle squelettique. Cependant, au cours de l'embryogenèse, la musculature externe de l'ensemble de l'œsophage est constituée de muscle lisse différencié, et les premières cellules présentant des striations apparaissent à E15,5 dans les parties les plus crânielles de l'œsophage. Ainsi, la musculature externe de l'œsophage est le siège d'une transition muscle lisse vers muscle squelettique, suivant une direction crânio-caudale. En 1995, Patapoutian *et al.* [4] ont montré que cette transition est le résultat de la transdifférenciation d'une cellule musculaire lisse en cellule musculaire squelettique, en l'absence de toute dédifférenciation.

La transdifférenciation est un phénomène relativement rare et correspond au changement de destin d'une cellule différenciée [5]. Les exemples les plus connus de transdifférenciation sont induits expérimentalement comme les changements des sous-classes neuronales observés après la transplantation des neurones dérivés de la crête neurale, la régénération des membres des amphibiens après une blessure, ou la reconstitution d'un cristallin après son ablation. La transdifférenciation du muscle lisse de l'œsophage en muscle squelettique est observée au cours du développement d'un embryon murin sauvage, et en l'absence de toute

induction expérimentale ou de blessure. Dans ce sens, elle est proche de la transformation des neurones sympathiques en glande sudoripare ou des muscles du sphincter de l'iris chez le poulet (*voir* [5]).

Quels sont les mécanismes qui contrôlent ce changement de phénotype ? Plusieurs facteurs extrinsèques et intrinsèques ont été impliqués dans les processus de transdifférenciation, comme l'acide tricarboxylique dans la rétine de l'embryon de poulet, ou des facteurs de croissance comme le bFGF (*basic fibroblast growth factor*), et des composants de la matrice extracellulaire [5].

Comme les facteurs myogéniques primaires jouent un rôle critique dans la formation de tous les muscles squelettiques, on pouvait penser qu'ils sont aussi impliqués lors de la mise en place du muscle squelettique œsophagien. Curieusement, il avait été suggéré que cette transdifférenciation puisse se faire indépendamment de ces facteurs puisque leur expression n'avait pas été détectée dans l'œsophage avant la naissance [4]. Récemment, l'utilisation de souris génétiquement modifiées nous a permis de déterminer précisément l'expression et le rôle de *Myf5* et de *MyoD* au cours du développement de l'œsophage et de montrer leur implication dans ce processus de transdifférenciation [6].

Plusieurs souches de souris ont été étudiées : les souris *Myf5-nlacZ* sont des souris *knock-in* chez lesquelles le gène *Myf5* est invalidé par insertion du gène rapporteur *nlacZ* (n = signal de localisation nucléaire), dont l'expression mime donc celle de *Myf5* ; les souris transgéniques *MyoD-nlacZ* dont le gène *nlacZ* est sous la

dépendance de différentes séquences régulatrices de *MyoD*, et les souris homozygotes *MyoD*^{-/-} [6]. L'analyse histologique et immunocytochimique de l'œsophage de ces animaux, en utilisant des marqueurs spécifiques du muscle lisse ou du muscle squelettique, nous a permis de montrer que l'expression de *Myf5* et de *MyoD* ne débute qu'à E15,5 et précède celle des autres marqueurs du muscle squelettique. En l'absence de *Myf5*, l'expression de *MyoD* est retardée de trois jours et, de même, la formation du muscle squelettique œsophagien est retardée de trois jours jusqu'à l'activation de *MyoD*. Il est intéressant de noter qu'un retard dans l'activation de *MyoD* a également été observé dans le somite des souris *Myf5*^{-/-} [7] et que *Pax3* est le deuxième activateur de *MyoD*: en effet, la mutation conjointe de *Pax3* et de *Myf5* abolit l'expression de *MyoD* et la formation des muscles squelettiques du corps [7]. Une implication éventuelle de *Pax3* dans la transdifférenciation du muscle lisse de l'œsophage reste cependant à déterminer. Enfin, si les deux facteurs myogéniques sont absents, le muscle squelettique œsophagien ne se forme pas, mais l'utilisation de l'allèle *Myf5-nlacZ* a permis de montrer que les progéniteurs apparaissent à E15,5 comme en témoigne l'expression du gène rapporteur *nlacZ*.

La formation de muscle squelettique dans l'œsophage est donc très probablement la conséquence d'une transdifférenciation du muscle lisse de la paroi de l'œsophage en muscle squelettique. Ce processus est contrôlé tout d'abord par *Myf5* puis par *MyoD* (figure 1). Il est cependant techniquement très difficile d'exclure la possibilité que certaines cellules musculaires squelettiques proviennent de sources extra-œsophagiennes. On peut envisager que quelques précurseurs du muscle strié œsophagien proviennent du somite [8]. En effet, la migration des progéniteurs musculaires en dehors du somite est nécessaire pour la formation des muscles distaux, comme les muscles des membres. Cette migration est dépendante du gène *Pax3* [7]. Cependant, nous avons montré que le muscle squelettique est présent dans l'œso-

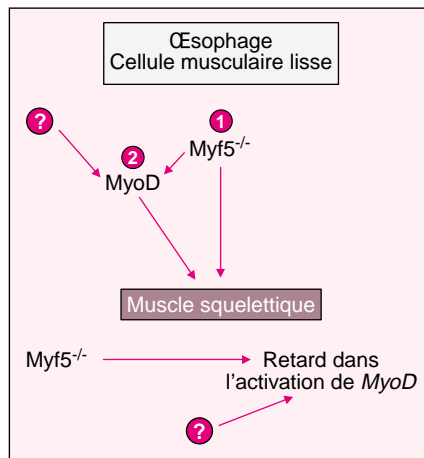


Figure 1. Transdifférenciation des cellules musculaires lisses de l'œsophage en muscle squelettique. L'expression du facteur myogénique primaire *Myf5*, puis celle de *MyoD*, sont nécessaires à la transdifférenciation des cellules musculaires lisses de l'œsophage embryonnaire en muscle squelettique. En l'absence de *Myf5*, l'expression de *MyoD* et la formation du muscle squelettique ne sont pas supprimées mais apparaissent avec retard, ce qui suggère l'existence d'un autre facteur responsable de l'expression de *MyoD*. Celui-ci, par comparaison à ce qui est observé dans le somite, pourrait être *Pax3*. En l'absence des deux facteurs *Myf5* et *MyoD*, le muscle squelettique de l'œsophage ne se développe pas.

phage des mutants *Splotch*, porteurs d'une mutation dans le gène *Pax3*, ce qui indique que toutes les cellules musculaires du squelette ne sont pas d'origine extra-œsophagienne. Enfin, une étude très récente a suggéré que le muscle squelettique œsophagien ne se forme pas par transdifférenciation du muscle lisse [9], mais l'utilisation de marqueurs du muscle squelettique tardif dans cette étude a pu conduire à l'absence de détection d'une transdifférenciation minoritaire. Seule une étude détaillée de la coexpression des marqueurs lisses et squelettiques par microscopie confocale permettra à terme de répondre à cette question. De même, il sera important d'identifier les signaux externes responsables de l'expression des facteurs myogéniques primaires dans l'œsophage embryonnaire.

- Weintraub H, Davis R, Tapscott S, *et al.* The *MyoD* gene family: nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science* 1991; 251: 761-6.
- Tajbakhsh SM. Buckingham. The birth of muscle progenitor cells in the mouse: spatiotemporal considerations. *Curr Top Dev Biol* 2000; 48: 225-68.
- Pourquié O. La ségrégation des lignages somitiques. *Med Sci* 1997; 13: 1145-56.
- Patapoutian A, Yoon JK, Miner JH, Wang S, Stark K, Wold B. Disruption of the mouse *MRF4* gene identifies multiple waves of myogenesis in the myotome. *Development* 1995; 121: 3347-58.
- Okada TS. Transdifferentiation: Flexibility in Cell Differentiation. Oxford: Clarendon Press. 1991.
- Kablar B, Tajbakhsh S, Rudnicki M. Transdifferentiation of esophageal smooth to skeletal muscle is myogenic bHLH factor dependent. *Development* 2000; 127: 1627-39.
- 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.
- Epstein ML, Mikawa T, Brown AMC, McFarlin DR. Mapping the origin of the avian enteric nervous system with a retroviral marker. *Dev Dyn* 1994; 201: 236-44.
- Zhao W, Dhoot GK. Both smooth and skeletal muscle precursors are present in foetal mouse oesophagus and they follow different differentiation pathways. *Dev Dyn* 2000; 18: 587-602.

**Juliette Hadchouel
Shahragim Tajbakhsh**

Département de biologie moléculaire, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75724 Cedex 15, Paris, France.

8^e NAT

Nantes - Actualités - Transplantation
21-22 juin 2001
Nantes, France

**Informations
et soumission
des résumés**

Secrétariat NAT/ITER
CHU – Hôtel Dieu
30, boulevard Jean-Monnet
44093 Nantes, France
Fax : (33) 240087411
Inscriptions : 2 000 F – 304,90 €
(déjeuners et 1 dîner inclus)

Date limite de soumission
des résumés : 1^{er} avril 2001