

L'hématopoïèse chez la drosophile

Les insectes, comme tous les invertébrés, ont un système immunitaire qui ne leur procure qu'une immunité dite innée. Pourtant ce système, qui présente à la fois une facette humorale et une facette cellulaire, est remarquable par son efficacité. Les insectes ne possèdent pas d'immunité adaptative à l'image de celle des vertébrés, avec production de récepteurs (dont les anticorps) dont la diversité remarquable résulte de réarrangements géniques somatiques. Ils n'ont pas, parmi leurs cellules sanguines, d'équivalent de la lignée lymphoïde. Toutes les cellules sanguines – ou hémocytes – d'insectes, ont des caractéristiques qui les rapprochent davantage de la lignée myéloïde. On peut tirer deux conclusions des études effectuées sur de nombreuses espèces: d'une part la présence constante de cellules ayant une activité phagocytaire, d'autre part l'existence, dans la plupart des ordres d'insectes, de cellules contenant divers types de granules, dont les fonctions ne sont pas toujours définies.

Chez la drosophile cependant, ainsi que chez les autres diptères supérieurs étudiés à ce jour, ces cellules à granules n'existent pas. Le principal type cellulaire circulant chez la drosophile est une cellule à activité phagocytaire, appelée plasmatoocyte [1], qui peut être assimilée à la lignée myélo-monocytaire des mammifères à la fois par sa morphologie et par sa fonction.

Développement hématopoïétique chez la drosophile

La drosophile est un insecte holométabole, c'est-à-dire dont le développement comporte une étape de métamorphose complète. On peut ainsi distinguer quatre périodes de développement bien définies: le stade

embryonnaire, les stades larvaires, le stade pupal qui correspond à la métamorphose, et le stade adulte. A chacune de ces étapes correspondent des particularités hématopoïétiques. Lors du développement embryonnaire de la drosophile, une population de cellules issues du mésoderme antérieur va rapidement coloniser l'ensemble de l'embryon [2]. Ces cellules, caractérisées comme macrophages embryonnaires, sont responsables notamment de la phagocytose des corps apoptotiques formés au cours du développement. La reconnaissance des corps apoptotiques est essentiellement attribuée à une molécule homologue de l'antigène CD36* des vertébrés, appelée croquemort (*crq*) qui est, à ce stade, exprimée exclusivement par les macrophages [3]. Des embryons mutants dépourvus de *crq* sont en effet incapables d'assurer la phagocytose des cellules mortes par les hémocytes. Une deuxième population de cellules sanguines, de taille plus réduite, apparaît simultanément chez l'embryon, mais reste localisée dans la région du tube digestif antérieur. Il s'agit des précurseurs des cellules à cristaux [4]. Enfin, vers la fin de l'embryogenèse, se différencie dorsalement ce qui constituera l'organe hématopoïétique larvaire, à savoir les glandes de la lymphé.

Chez la larve, ces glandes assurent l'essentiel de la production d'hémocytes [1, 5, 6]. Elles contiennent toutes les cellules circulantes, mais également une population importante de cellules indifférenciées (cellules souches) qui peuvent, dans des conditions particulières (métamorphose, infection), se différencier en

un lignage spécialisé adapté aux circonstances. Ces cellules présentent ainsi l'une des propriétés, la multipotence, qui définit les cellules souches de la moelle osseuse des vertébrés. Trois types cellulaires circulent chez la larve (*figure 1*). Les plasmatoocytes déjà cités sont majoritaires. Les cellules à cristaux, beaucoup moins nombreuses, sont très particulières parce qu'elles contiennent les enzymes et les substrats nécessaires à la cascade de mélanisation accompagnant certaines réactions de défense. En effet chez les insectes, un dépôt de mélanine se forme rapidement à l'endroit d'une blessure, ou au cours de réactions d'encapsulation. Enfin, troisième type cellulaire, le lamellocyte, qui n'est pas observé chez des larves saines, mais est produit par les cellules souches pour encapsuler un envahisseur trop grand pour être phagocyté (tel un œuf d'hyménoptère parasite). La capsule est simultanément mélanisée, l'ensemble de ces réactions aboutissant à la mort du parasite.

Au moment de la métamorphose, l'organe hématopoïétique se vide de ses plasmatoocytes qui, sous l'effet de l'hormone de mue ecdysone, se différencient en macrophages hyperactifs qui vont phagocyter tous les tissus larvaires qui ont commencé à se lyser. L'organe hématopoïétique disparaît ainsi au début de la vie pupale, et aux stades ultérieurs un tel organe n'est jamais retrouvé. Chez l'adulte, le seul type hémocytaire présent est le plasmatoocyte qui conserve ses potentialités phagocytaires.

Gènes impliqués dans l'hématopoïèse de la drosophile

Il convient de préciser que, si l'hématopoïèse des mammifères peut être étudiée *in vitro* grâce à la disponibilité de nombreux systèmes mimant la

* CD36: antigène exprimé chez l'homme sur les précurseurs érythroïdes, les macrophages, les mégacaryocytes et les plaquettes, qui a été impliquée dans l'adhérence du Plasmodium falciparum à l'endothélium.

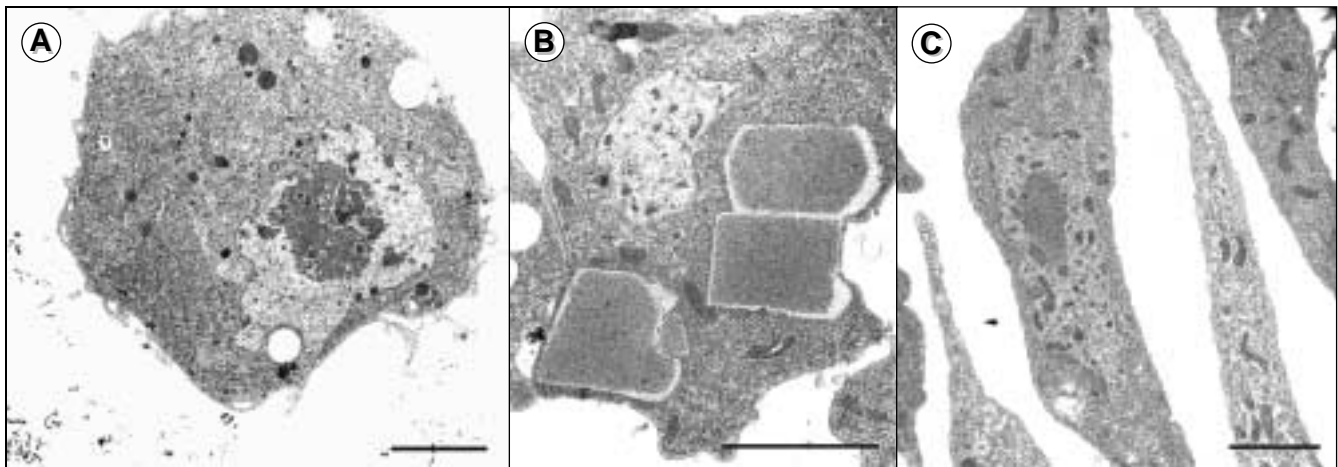


Figure 1. **Les cellules circulantes chez la drosophile.** **A.** Plasmatocyte : cette cellule de type phagocytaire se caractérise par la présence de nombreux corps de résorption ; **B.** Cellule à cristaux contenant des inclusions cristallines non délimitées par une membrane. Ce type cellulaire est responsable des réactions de mélanisation ; **C.** Lamellocytes : grandes cellules discoïdes à contenu cytoplasmique très homogène. La membrane cytoplasmique présente un aspect ondulé. Barres : 2 μm .

différenciation *in vivo*, tel n'est pas le cas chez la drosophile, chez laquelle une telle approche n'a jusqu'à présent pas été mise en œuvre de façon convaincante. Nos connaissances découlent ainsi essentiellement de l'analyse de stocks de mouches mutantes.

Deux aspects sont à considérer : la prolifération des hémocytes et la différenciation des lignages cellulaires. Les premières études publiées ont porté sur l'analyse de mutants caractérisés par une anomalie de prolifération (pour revue voir [6]). Chez ces mutants, l'organe hématopoïétique produit soit trop d'hémocytes (hyperprolifération, parfois de type néoplasique), soit trop peu, ce qui provoque des phénotypes souvent spectaculaires aisés à mettre en évidence. Parmi les gènes identifiés, plusieurs se sont avérés jouer un rôle ubiquitaire dans la prolifération cellulaire chez la drosophile, mais leur dérégulation provoque, de façon inexplicable, un phénotype plus extrême dans l'hématopoïèse. C'est le cas notamment des gènes de la protéine ribosomale S6 et de la kinase hopscotch (l'unique kinase de type JAK chez la drosophile). Il est frappant de noter que deux autres gènes nécessaires à une prolifération normale des hémocytes appartiennent

au groupe Polycomb de répresseurs de gènes homéotiques. Il s'agit de *mxc* (*multi sex combs*) [7] et de *domino* [8]. L'hypothèse est que ce

type de régulateurs permet aux cellules de connaître leur identité, et que lorsqu'ils sont mutés, les cellules – sanguines en l'occurrence – per-

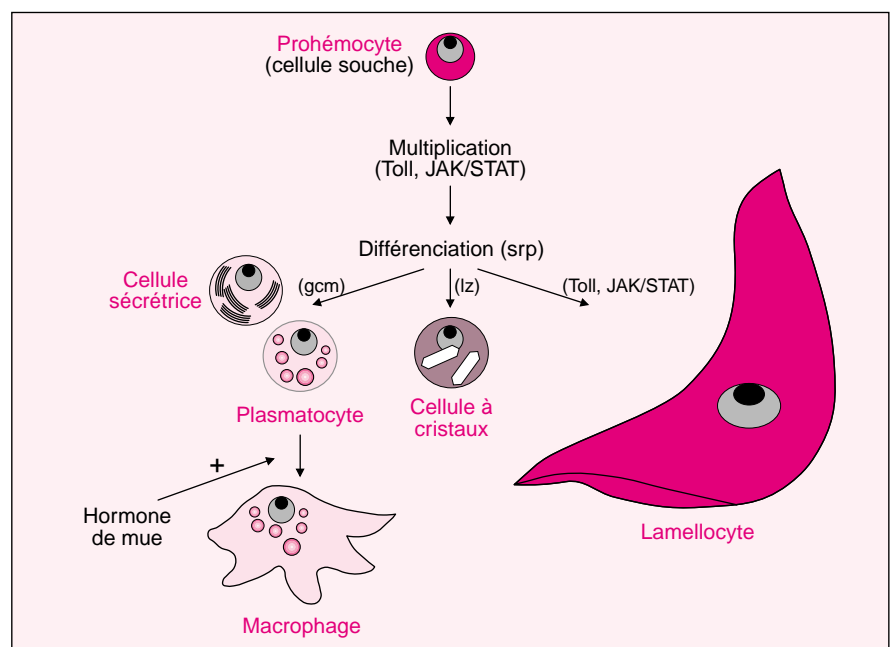


Figure 2. **Proposition d'un modèle pour la différenciation des lignages hématocytaires chez la drosophile.** La cellule sécrétrice correspond probablement à une variante du lignage plasmatocyte, qui n'est trouvée que dans l'organe hématopoïétique. Les facteurs impliqués dans les différentes étapes sont indiqués. gcm : glial cells missing ; lz : lozange ; srp : serpent.

dent le contrôle de leur prolifération. Parmi les molécules impliquées dans la prolifération hématocytaire, citons encore le récepteur Toll (*m/s* 2000, n° 12, p. 1439), et la voie de signalisation intracellulaire qu'il contrôle, y compris l'inhibiteur cactus, homologue de I- κ B [9]. En effet, les mutants chez lesquels cette voie est constitutivement activée, le nombre d'hémocytes est significativement augmenté.

Des gènes requis pour la détermination des lignages ont été identifiés beaucoup plus récemment (figure 2). Rehorn *et al.* [10] ont montré que chez l'embryon, le gène *serpent* (*srp*) est indispensable à la détermination de l'identité hématocytaire. *srp* code pour l'un des trois facteurs GATA de la drosophile, et l'on sait que chez les mammifères, GATA1, 2 et 3 sont impliqués dans plusieurs aspects de l'hématopoïèse. A la fois chez l'embryon et chez la larve, *srp* agit en amont de deux autres transactivateurs : *gcm* (*glial cells missing*) est requis pour déterminer le programme plasmacyte [4, 11], et *lz* (*lozenge*) pour la détermination des cellules à cristaux [4]. *gcm* code pour une protéine à doigts de zinc dont des homologues sont connus chez les vertébrés, mais pour lesquels aucun rôle dans l'hématopoïèse n'est décrit. En revanche *lz* est proche de AML-1 (*acute myeloid leukemia-1*) chez les mammifères puisque les deux transactivateurs présentent 71 % d'identité dans leurs domaines Runt. AML-1, de même que GATA2, est essentiel pour l'hématopoïèse définitive chez les vertébrés, et l'inactivation de l'un ou l'autre gène est létale chez la souris par absence de tout développement hématopoïétique.

Enfin, il a été démontré que les voies impliquant les protéines JAK/STAT [12] et le récepteur Toll [9] étaient impliquées dans la formation des lamellocytes puisque, chez des mutants gain-de-fonction de la protéine JAK hopscotch ou du récepteur Toll, en plus d'une hyperprolifération spectaculaire des hémocytes, on assiste à une différenciation massive en lamellocytes. Dans le cas de la mutation *hopscotch*, l'effet est aboli par une mutation perte-de-fonction

dans l'unique gène STAT de la drosophile [13].

Ainsi, parmi les quelques gènes dont le rôle dans l'établissement des lignages hématocytaires de la drosophile a été identifié, plusieurs ont des homologues qui jouent un rôle dans des processus similaires chez les vertébrés, par exemple le facteur GATA *srp*, le transactivateur à domaine Runt *lz*, la kinase JAK et son partenaire STAT. La voie Toll aboutit à l'activation d'un transactivateur de la famille Rel, et il est également clairement établi que les protéines Rel jouent un rôle clé dans l'hématopoïèse de vertébrés (pour revue voir [14]).

On pouvait s'attendre à ce que la toute récente disponibilité du génome de la drosophile nous propose d'autres régulateurs potentiels de l'hématopoïèse. Des séquences proches de celles de transactivateurs tels que SCL/Tal, PU.1 et surtout Rbtl-2 [15] (pour ne citer qu'eux) existent dans le génome. Le rôle de telles molécules dans l'hématopoïèse de la drosophile reste à élucider. En revanche, aucune molécule structurellement apparentée aux cytokines, dont on connaît le rôle essentiel pour le développement de la différenciation hématopoïétique des mammifères, n'a été détectée. C'est l'analyse de mutants défectueux pour l'un ou l'autre lignage hématocytaire qui nous apportera des informations nouvelles et essentielles sur les mécanismes de l'hématopoïèse de la drosophile, et potentiellement nous fournira des pistes à suivre pour mieux comprendre celle des mammifères.

Marie Meister

Cnrs UPR 9022, Institut de biologie moléculaire et cellulaire, 15, rue René-Descartes, 67084 Strasbourg Cedex, France.

Remerciements

Je tiens à remercier tous mes collègues pour leurs commentaires sur le manuscrit.

1. Rizki TM, Rizki RM. The cellular defense system of *Drosophila melanogaster*. In: King RC, Akai H, eds. *Insect ultrastructure*, vol. 2. New York: Plenum Publishing Corporation, 1984: 579-604.
2. Tepass U, Fessler LI, Aziz A, Hartenstein V. Embryonic origin of hemocytes and their relationship to cell death in *Drosophila*. *Development* 1994; 120: 1829-37.
3. Franc NC, Heitzler P, Ezekowitz RAB, White K. Requirement for croquemort in phagocytosis of apoptotic cells in *Drosophila*. *Science* 1999; 284: 1991-4.
4. Lebestky T, Chang T, Hartenstein V, Banerjee U. Specification of *Drosophila* hematopoietic lineage by conserved transcription factors. *Science* 2000; 288: 146-9.
5. Shrestha R, Gateff E. Ultrastructure and cytochemistry of the cell types in the larval hematopoietic organs and hemolymph of *Drosophila melanogaster*. *Dev Growth Differ* 1982; 24: 65-82.
6. Dearolf CR. Fruit fly « leukemia ». *Biochim Biophys Acta* 1998; 1377: M13-M23.
7. Santamaria P, Randsholt NB. Characterization of a region of the X chromosome of *Drosophila* including *multi sex combs* (*mxc*), a *Polycomb* group gene which also functions as a tumour suppressor. *Mol Gen Genet* 1995; 246: 282-90.
8. Braun A, Lemaitre B, Lanot R, Zachary D, Meister M. *Drosophila* immunity: analysis of larval hemocytes by P-element-mediated enhancer trap. *Genetics* 1997; 147: 623-34.
9. Qiu P, Pan PC, Govind S. A role for the *Drosophila* Toll/cactus pathway in larval hematopoiesis. *Development* 1998; 125: 1909-20.
10. Rehorn KP, Thelen H, Michelson AM, Reuter R. A molecular aspect of hematopoiesis and endoderm development common to vertebrates and *Drosophila*. *Development* 1996; 122: 4023-31.
11. Bernardoni R, Vivancos V, Giangrande A. *glide/gcm* is expressed and required in the scavenger cell lineage. *Development* 1997; 191: 118-30.
12. Luo, H, Hanratty WP, Dearolf CR. An amino acid substitution in the *Drosophila* *hop^{Tum-1}* Jak kinase causes leukemia-like hematopoietic defects. *EMBO J* 1995; 14: 1412-20.
13. Yan R, Small S, Desplan C, Dearolf CR, Darnell JE. Identification of a Stat gene that functions in *Drosophila* development. *Cell* 1996; 84: 421-30.
14. Gosh S, May MJ, Kopp EB. NF- κ B and REL proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 225-60.
15. Zhu TH, Bodem J, Keppel E, Paro R, Royer-Pokora B. A single ancestral gene of the human LIM domain oncogene family LMO in *Drosophila*: characterization of the *Drosophila* *Dlmo* gene. *Oncogene* 1995; 11: 1283-90.