

La morphogenèse myope de la rétine de drosophile

Olivier Albagli
Marie-Pierre Laget
Françoise Chanut

La morphogenèse de la rétine de la drosophile transforme progressivement un épithélium non différencié en un « cristal » régulier d'environ huit cents sous-unités identiques, les ommatidies. Cette transformation résulte de communications essentiellement locales et transitoires remarquablement élucidées grâce à la facilité d'étude de ce système et à la relative simplicité de sa sous-unité de base. Au niveau de l'ensemble de la rétine, une inhibition latérale entre cellules proneurales met en place la régularité spatiale de la morphogenèse tandis que la symétrie en miroir des moitiés dorsales et ventrales pourrait correspondre à la répétition d'interactions locales et ordonnées entre ommatidies voisines. Au sein de chaque ommatidie, une séquence stéréotypée d'inductions locales permet le recrutement de chaque cellule autour de la cellule fondatrice R8. Le développement de la rétine de la drosophile montre comment une morphogenèse asynchrone peut coordonner ces communications intercellulaires « myopes » pour construire un organe complexe et régulier, et dispenser largement, mais cependant pas totalement, de prédétermination, concertation globale ou organisation préalable.

ADRESSES

O. Albagli : docteur ès sciences, en stage post-doctoral au laboratoire d'onco-hématologie moléculaire. Inserm U. 124, IRCL, place de Verdun 59045 Lille, France. M.P. Laget : docteur ès sciences au Department of Biochemistry and Biophysic, University of California, San Francisco. UCSF, Department of Biochemistry and Biophysics, San Francisco, California 94143-0554, États-Unis. F. Chanut : docteur ès sciences, en stage post-doctoral au Ernest Gallo Clinic and Research Center de San Francisco. EGCRC, San Francisco General Hospital, Building 1, Room 101, San Francisco, CA 94110, États-Unis.

Cette revue est dédiée à la mémoire de Marie-Pierre Laget, décédée le 3 novembre 1996.

m/s n° 2, vol. 13, février 97

Plusieurs mécanismes peuvent engendrer la diversité des destins cellulaires lors du développement. Dans certains cas, les décisions spécifiques de chaque cellule peuvent être « prédéterminées » par une acquisition stable et préalable de potentialités distinctes. Souvent, cependant, les cellules sont initialement interchangeable et leur destin dépend de leur position et donc de communications intercellulaires contemporaines du développement. Dans ce dernier cas, la précision et la

reproductibilité du processus, malgré l'indétermination initiale, suggèrent l'existence d'une concertation globale entre l'ensemble des cellules par la participation de molécules à large rayon d'action. Une telle molécule peut agir comme un morphogène en diffusant à partir d'une source de cellules organisatrices pour spécifier aux autres cellules leur position, et donc leur destin, en fonction de sa concentration locale [1]. Toutefois, certains morphogènes présumés n'ont en réalité qu'une action locale ou bien agissent dans un contexte

RÉFÉRENCES

1. Nellen D, Burke R, Struhl G, Basler K. Direct and long range action of a Dpp morphogen gradient *Cell* 1996; 85: 357-68.
2. Rubin GM. Signal transduction and the fate of the R7 receptor in *Drosophila*. *Trends Genet* 1991; 7: 372-7.
3. Heberlein U, Moses K. Mechanisms of *Drosophila* retinal morphogenesis: the virtues of being progressive *Cell* 1995; 81: 987-90.
4. Thomas BJ, Gunning DA, Cho J, Zipursky SL. Cell cycle progression in the developing *Drosophila* eye: roughex encodes a novel protein required for the establishment of G1. *Cell* 1994; 77: 1003-14.
5. Wolff T, Ready DF. *The development of Drosophila melanogaster*. Cold Spring Harbor: Michael Bate et Alfonso Matinez Arias, 1993 : 1277.
6. Zheng L, Zhang J, Carthew RW. Frizzled regulates mirror symmetric pattern formation in the *Drosophila* eye. *Development* 1995; 121: 3045-55.
7. Lee EC, Hu X, Yu SY, Baker NE. The scabrous gene encodes a secreted glycoprotein dimer and regulates proneural development in *Drosophila* eyes. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 1179-88.
8. Schweisguth F, Israël A. Signalisation intercellulaire par le récepteur Notch: conservation de la drosophile aux mammifères. *Med Sci* 1996; 12: 155-63.
9. Cagan RS, Ready DF. Notch is required for successive cell decisions in the *Drosophila* retina. *Genes Dev* 1989; 3: 1099-112.
10. Baker NE, Zitron AE. *Drosophila* eye development: Notch and Delta amplify a neurogenic pattern conferred on the morphogenetic furrow by scabrous. *Mech Dev* 1995; 49: 173-89.
11. Ellis MC, Weber U, Wiersdorff V, Mlodzik M. Confrontation of scabrous expressing and non expressing cells is essential for normal ommatidial spacing in the *Drosophila* eye. *Development* 1994; 120: 1959-69.
12. Wiersdorff V, Lecuit T, Cohen SM, Mlodzik M. Mad acts downstream of Dpp receptors, revealing a differential requirement for dpp signaling in initiation and propagation of morphogenesis in the *Drosophila* eye. *Development* 1996; 122: 2153-62.

syncytial, de sorte que l'existence même de telles molécules reste largement hypothétique.

La rétine de la drosophile est l'un des systèmes de développement par interactions les plus étudiés. Il offre un modèle alternatif puisqu'il montre comment des interactions dynamiques, essentiellement locales et transitoires, peuvent construire un organe complexe, selon des processus progressifs dont la répétition fidèle assure une précision et une régularité extraordinaires à l'ensemble.

La rétine de la drosophile

• La rétine est un cristal d'ommatidies

L'œil composé de la drosophile adulte est un cristal d'environ 800 sous-unités hexagonales identiques, les ommatidies. Chacune contient 8 cellules nerveuses, les photorécepteurs (cellules R), et une douzaine de cellules accessoires non-neurales, dont quatre cellules cônes (CC) fabriquant le cristallin, et les cellules pigmentaires qui isolent l'ommatidie [2, 3]. Une soie mécanosensorielle de deux cellules est associée à chaque ommatidie. L'œil de drosophile est un organe non vital et aisément observable. De nombreuses mutations qui en affectent la taille, la forme et la régularité ont permis l'accès à certains des mécanismes de sa morphogenèse.

• Progressivité antérograde et centrifuge

Comme les autres appendices de la drosophile adulte, l'œil se développe à partir d'un disque imaginal, le disque œil/antenne, un épithélium de cellules indifférenciées en prolifération active [3]. La morphogenèse rétinienne commence lors du troisième stade larvaire: le centre de la marge postérieure se creuse d'un sillon morphogénétique (SM) provoqué par la constriction baso-apicale des cellules. Le SM s'étend ensuite de la marge dorsale à la marge ventrale et « balaie » l'ensemble du disque, de la marge postérieure à la marge antérieure, en deux jours [3] (*figure 1*). En avant du SM, les cellules indifférenciées prolifèrent. Juste en avant du SM (présillon), les cellules se synchronisent en phase G1 [4]. La différenciation neuronale s'amorce

dans le SM et se poursuit au fur et à mesure qu'il s'éloigne, jusqu'à la construction complète de l'ommatidie (*figure 1*). Il existe donc un gradient de différenciation en arrière du SM: plus les cellules sont postérieures, plus leur rencontre avec le SM a été précoce et plus leur différenciation est avancée.

La différenciation obéit, en outre, à un gradient centrifuge: elle est toujours plus avancée dans les cellules de la ligne médiane, séparant les moitiés dorsales et ventrales du disque, par rapport à leurs voisines plus latérales. L'intersection entre le SM et la médiane dorsoventrale du disque définit donc, au centre du SM, un « épicode » de morphogenèse (*firing center*) à partir duquel la différenciation progresse, de part et d'autre, vers les marges dorsale et ventrale. Cette asynchronie résulte de l'initiation ponctuelle du SM au centre de la marge postérieure (voir plus loin) [5, 6] (*figure 1*).

• Un scénario immuable

La différenciation des cellules R prend une quinzaine d'heures et obéit à une séquence stéréotypée. Sur la face antérieure du SM parmi les cellules bloquées en G1, se forment des « rosettes » d'une vingtaine de cellules dont la disposition régulière préfigure celle des ommatidies. Parmi les cellules postérieures des rosettes, se différencient tout d'abord la cellule fondatrice R8, ensuite la paire R2/R5 puis, en avant, R3/R4 [2, 3] (*figure 1*). Les cellules non recrutées dans la préommatidie effectuent, en arrière du SM, une mitose synchrone, puis forment séquentiellement la paire R1/R6 en arrière de la préommatidie, R7 au centre, les cellules cônes tout autour, puis les cellules pigmentaires. La différenciation des soies, et l'élimination apoptotique des cellules interommatidiales excédentaires assurent la finition de la rétine [5]. Une caractéristique essentielle de la différenciation rétinienne est que ses précurseurs ne sont pas prédéterminés: leur destin dépend de leur position et de séquences d'interactions contemporaines du développement [2, 3].

• Asymétrie microscopique, symétrie macroscopique

Durant la différenciation, des mouvements relatifs des photorécepteurs

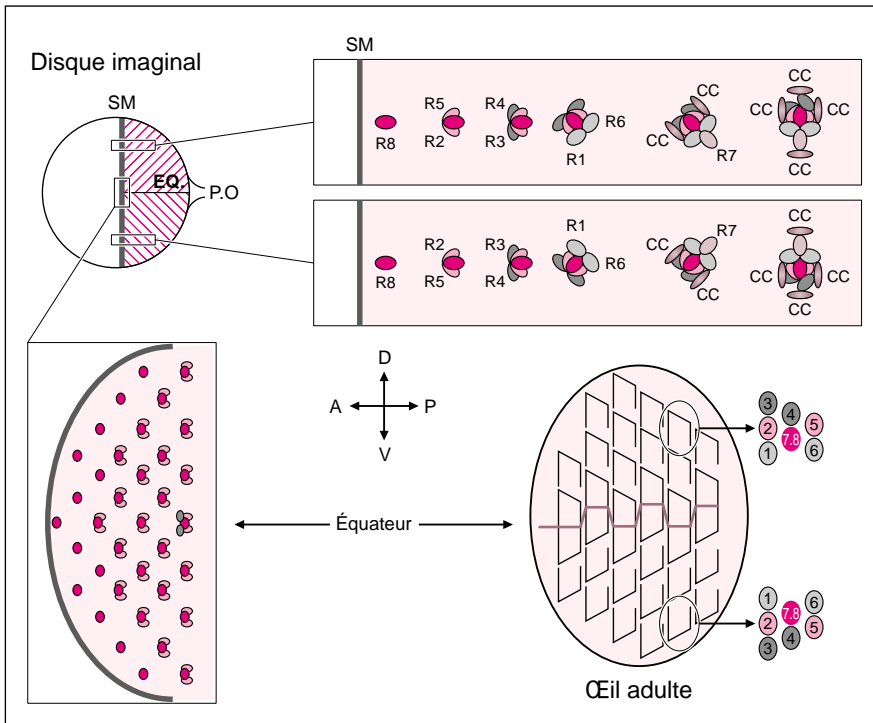


Figure 1. **Morphogenèse progressive de la rétine et polarisation des ommatidies.** La morphogenèse de la rétine commence dans le disque imaginal œil-antenne au cours du troisième stade larvaire. Elle suit la progression du sillon morphogénétique (SM), une indentation de l'épithélium qui se forme sur la marge postérieure et atteint la marge antérieure en deux jours environ. En avant du SM, les cellules sont indifférenciées et prolifèrent (en blanc). Elles commencent leur différenciation au niveau du SM et s'assemblent progressivement pour former les ommatidies derrière le SM (hachuré). Chaque ommatidie se construit selon une séquence stéréotypée (encadrés à droite): le photorécepteur fondateur R8 se différencie en premier, puis les cellules voisines se joignent à R8 pour former d'abord la paire R2/R5, puis R3/R4. Après une vague de mitoses synchrones postérieure au SM, se forment les photorécepteurs de « seconde génération » (R1/R6 puis R7) puis les 4 cellules

cônes (CC). Les cellules pigmentaires primaires (non représentées) complètent l'ommatidie proprement dite. Au cours de leur maturation, les ommatidies tournent de 90°, en sens opposé dans les moitiés dorsales et ventrales du disque. Cette rotation s'accompagne dans chaque ommatidie de mouvements cellulaires spécifiques qui en rompent la symétrie bilatérale initiale: au moment de l'apparition des CC, R3 adopte une position antérieure et déplace R4 qui s'écarte du centre et perd son contact avec R8; peu après, R8 quitte également le centre de l'ommatidie pour s'intercaler entre R1 et R2. Au terme de leur différenciation, les ommatidies dorsales et ventrales sont des images en miroir qui se reflètent le long de la ligne médiane du disque, appelée l'équateur (EQ). L'équateur se situe dans le prolongement du site d'origine de la morphogenèse, une zone ponctuelle de la marge postérieure, en face du pédoncule optique (PO). Outre le gradient antéro-postérieur de différenciation observé à l'arrière du SM, la morphogenèse rétinienne obéit à un gradient centrifuge (encadré en bas à gauche). Dans chaque colonne d'ommatidies en cours de maturation, les groupes de cellules les plus centraux sont à un stade plus avancé que les groupes latéraux. Les ommatidies centrales et postérieures maintiennent donc, pendant la progression du SM, l'avance héritée du site ponctuel de début de la différenciation. Dans l'œil adulte, la polarisation de la rétine se manifeste par la disposition en trapèze des rhabdomères (organites captant le signal lumineux) des photorécepteurs dans chaque ommatidie: le long côté du trapèze, occupé par les rhabdomères des cellules R1, R2 et R3, fait face au bord antérieur de l'œil, alors que son côté court, occupé par R5 et R6, est tourné vers le bord postérieur. En outre, R3 pointe vers un pôle, le pôle dorsal pour les ommatidies de la moitié dorsale, et le pôle ventral pour les ommatidies ventrales. Comme dans les disques, les ommatidies adultes constituent donc deux populations d'orientation inverse qui se reflètent en miroir le long de l'équateur.

réorganise la structure de la pré-ommatidie et rompent sa symétrie bilatérale (figure 1). Ces remaniements s'accompagnent d'une rotation de 90° des ommatidies, selon des directions opposées dans la moitié ventrale ou dorsale du disque [6]. Les ommatidies ventrales deviennent l'image en miroir des ommatidies dorsales. Elles se reflètent le long d'un nouvel axe de symétrie, l'équateur, créé dans le prolongement du site d'origine du SM et superposé à la médiane dorso-ventrale du disque.

Des interactions locales « cristallisent » la rétine...

La différenciation des cellules fondatrices R8 dépend du facteur de transcription b-HLH codé par *atonal* (*ato*) [3]. Pourtant, au début de la morphogenèse, l'expression de *ato* est étendue à une colonne continue de cellules « proneurales », juste en avant du SM [7]. Or, R8 recrute, directement ou non, les autres cellules de la préommatidie: la structure cristalline de la rétine nécessite donc l'émergence de cellules R8 à la

fois régulièrement disposées et individualisées [2]. Ces deux aspects fondamentaux sont mis en place par le jeu d'interactions locales, en deux étapes distinctes: au sein de la population de cellules proneurales équivalentes, l'expression de *ato* se restreint d'abord à des groupes intermédiaires régulièrement disposés (préfigurant les rosettes), puis à une cellule unique, R8, au sein de chaque groupe [7] (figure 2A).

La seconde étape de la restriction de *ato* à R8 implique deux molécules transmembranaires: le récepteur

RÉFÉRENCES

13. Chanut F, Heberlein U. Role of decapentaplegic in initiation and progression of the morphogenetic furrow in the developing *Drosophila* retina. *Development* 1997 (sous presse).
14. Jarman A, Sun Y, Jan LY, Jan YN. Role of the proneural gene, atonal, in formation of *Drosophila* chordotonal organs and photoreceptors. *Development* 1995; 121: 2019-30.
15. Heberlein U, Singh CM, Luk AY, Donohoe TJ. Growth and differentiation in the *Drosophila* eye coordinated by hedgehog. *Nature* 1995; 373: 709-11.
16. Brown NL, Sattler CA, Paddock SW, Carroll SB. Hairy and emc negatively regulate morphogenetic furrow progression in the *Drosophila* eye. *Cell* 1995; 80: 879-87.
17. Chanut F, Heberlein U. Role of the morphogenetic furrow in establishing polarity in the *Drosophila* eye. *Development* 1995; 121: 4085-94.
18. Strutt, DI, Mlodzik M. Ommatidial polarity in the *Drosophila* eye is determined by the direction of furrow progression and local interactions. *Development* 1995; 121: 4247-56.
19. Jarman AP. Epithelial polarity in *Drosophila* eye: eyes left or right. *Trends Genet* 1995; 12: 121-3.
20. Bhanot P, Brink M, Harryman Samos C, Hsieh JC, Wang Y, Macke JP, Andrew D, Nathans J, Nusse R. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature* 1996; 382: 225-30.
21. Van Vactor DL, Cagan RL, Kramer H, Zipursky SL. Induction in the developing compound eye of *Drosophila*: multiple mechanisms restrict R7 induction to a single retinal precursor. *Cell*. 1991; 67: 1145-55.
22. Tio M, Ma C, Moses K, Spitz, a *Drosophila* homolog of transforming growth factor- α is required in the founding photoreceptor cells of the compound eye facets. *Mech Dev* 1994; 48: 13-23.
23. Schweitzer R, Shaharabany M, Seger R, Shilo BZ. Secreted spitz triggers the Der signaling pathway and is a limiting component in embryonic ventral ectoderm determination. *Genes Dev* 1995; 9: 1518-29.

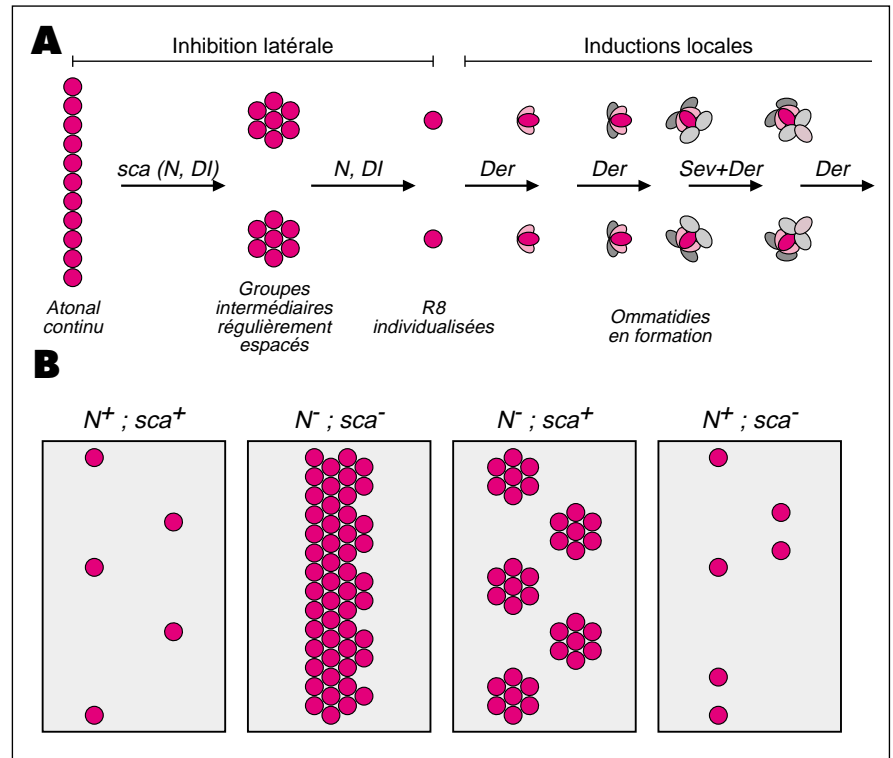


Figure 2. Les gènes Notch et scabrous coopèrent pour la régularité spatiale de la morphogenèse. (D'après [10].) L'émergence de cellules fondatrices R8 individualisées et régulièrement disposées préfigure et conditionne la structure cristalline de la rétine. **A : Deux mécanismes distincts gouvernent la différenciation des cellules de l'ommatidie.** La différenciation des cellules R8, « fondatrices », est absolument dépendante du gène *B-HLH* atonal (*ato*). Au début de la morphogenèse, l'expression de *ato* marque une bande continue de cellules « proneurales » juste en avant du SM. Cette expression se restreint dans un premier temps à des groupes intermédiaires régulièrement espacés, puis à une cellule R8 unique au sein de chacun de ces groupes. L'émergence régulière des cellules R8 repose sur une sélection par inhibition latérale qui implique les gènes *N*, *DI* et *sca* (voir B). En revanche, la différenciation des autres cellules de l'ommatidie ne dépend ni de *ato*, ni d'un mécanisme d'inhibition latérale. Elle correspond aux recrutements successifs de cellules indifférenciées par les cellules en cours de différenciation, selon une série d'inductions locales impliquant les récepteurs tyrosine kinase (RTK) codés par les gènes *Der* (*Drosophila* EGF receptor) et *Sevenless*. **B : Les gènes Notch (N) et scabrous (sca) contrôlent la restriction progressive de la destinée R8.** Lorsque les deux gènes sont inactivés ($N^- ; sca^-$), la restriction de l'expression de atonal est pratiquement supprimée, ce qui conduit à une différenciation R8 généralisée et une profonde désorganisation de la rétine. *N* est plus spécifiquement impliqué dans l'individualisation de la cellule R8 au sein de chaque groupe : lorsque *N* est inactivé, mais *sca* fonctionnel ($N^- ; sca^+$), l'expression de *ato* persiste dans les cellules des groupes intermédiaires. L'inactivation de *Delta* (*DI*), un ligand de *N*, produit un phénotype très comparable. À l'inverse, l'inactivation du gène *sca* ($N^+ ; sca^-$) conduit à des cellules R8 à peu près individualisées, mais irrégulièrement espacées. Le gène *sca* est soumis à une autorégulation négative et code pour une protéine diffusible très précocement synthétisée par les groupes intermédiaires. Ces propriétés lui confèrent un rôle fondamental pour établir l'espacement régulier des cellules R8 : son produit pourrait contrôler spatialement (« canaliser ») l'activité de *N* à l'intérieur des groupes intermédiaires et organiser la morphogenèse dans la prochaine colonne de cellules exprimant *ato*.

Notch (N) et son ligand Delta (Dl) [7, 8]. Une déficience sur l'un ou l'autre de leurs deux gènes exacerbe la neurogenèse: l'expression de *ato* est maintenue dans l'ensemble des cellules des groupes intermédiaires provoquant l'apparition de R8 excédentaires et l'altération de la régularité de la rétine [7, 9, 10] (figure 2B). *N* et *Dl* assurent donc l'individualisation du précurseur R8 parmi les cellules du groupe intermédiaire.

La première étape semble relativement indépendante de *N* et de *Dl* [9]. En revanche, lorsque *scabrous (sca)* est inactivé, les R8 s'individualisent à peu près, mais leur disposition est irrégulière [7, 10, 11]. L'inactivation simultanée de *N* (ou *Dl*) et *sca* élimine pratiquement toute restriction de *ato* et conduit à une différenciation R8 généralisée [7, 10] (figure 2). *Sca*, qui diffuse dans un rayon de quelques cellules, ne semble pas être un ligand de *N* mais paraît contrôler plus fondamentalement la régularité spatiale de la sélection des cellules R8 [7]. En effet, avant de se restreindre à R8, l'expression de *sca*, contrôlée par *ato*, marque très précocement les groupes intermédiaires [7]. Surtout, la généralisation artificielle de l'expression de *sca* produit le même phénotype que son inactivation, suggérant que son expression périodique fonde la régularité spatiale de la morphogenèse [11]. Au sein du groupe intermédiaire, *Sca* pourrait «insulariser» les cellules pour guider les interactions locales relayées par Notch et Delta. En avant et de part et d'autre des groupes intermédiaires, la diffusion de *Sca* et son autorégulation négative créeraient un profil d'expression alterné et prépareraient ainsi une morphogenèse périodique, mais en opposition de phase, pour la colonne cellulaire suivante [7]. La sélection des cellules R8, obéit donc à un processus d'inhibition latérale guidée par l'expression périodique de *sca*. L'amorçage du processus pourrait résulter d'une hétérogénéité fondatrice: la formation d'un petit groupe de cellules exprimant *sca* due à l'origine ponctuelle du SM.

... entretiennent la progression du SM...

• La boucle Hh/Dpp

Le mouvement antérograde du SM caractérise la morphogenèse réti-

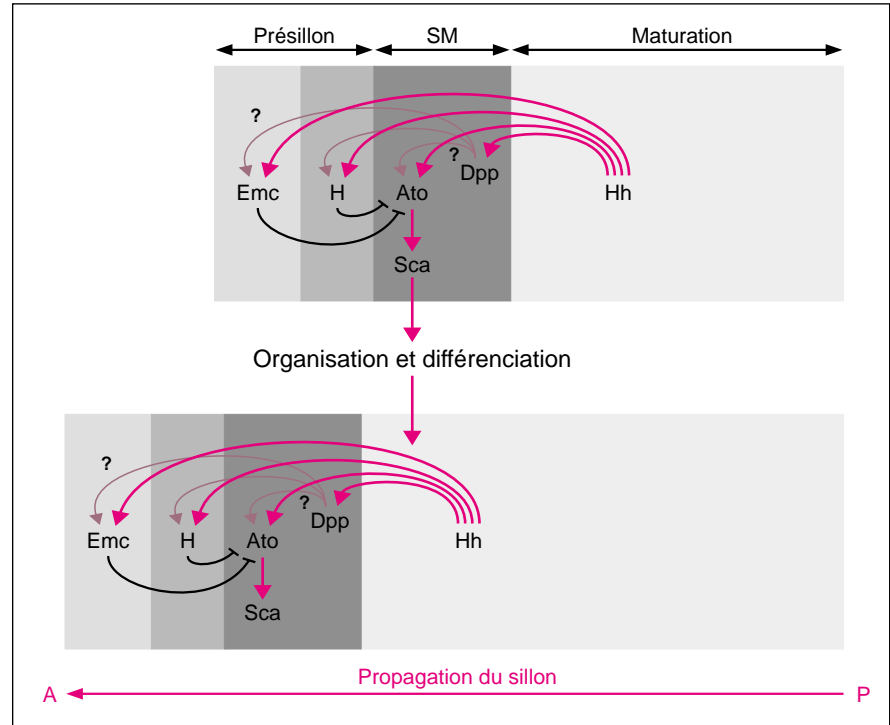


Figure 3. **Communications locales et mouvement du sillon morphogénétique.** Les cellules qui se différencient en arrière du SM (maturation) synthétisent la protéine diffusible Hedgehog (Hh) qui induit dans les cellules plus antérieures la synthèse d'une autre protéine diffusible, Décapentaplegic (Dpp), de la famille des TGFβ. Hh induit aussi dans le SM, peut-être par l'intermédiaire de Dpp, l'expression de la protéine Atonal (Ato), une protéine B-HLH nécessaire à la différenciation des cellules R8. Grâce à Ato, la différenciation neuronale commence avec la formation de cellules R8 suivie du recrutement des autres cellules de l'ommatidie. Une fois leur différenciation amorcée, les cellules synthétisent Hh qui diffuse et induit Dpp (et Ato) plus à l'avant. L'entretien de la boucle Hh/Dpp/Hh est responsable du déplacement antérograde du SM. Hh induit aussi, plus antérieurement, la synthèse de la protéine HLH Hairy (H) qui avec Extramacrochaete (Emc), inhibe la différenciation neuronale. L'induction par Hh d'activateurs (Dpp, Ato) et d'inhibiteurs (H) permet de restreindre la différenciation à une étroite bande de cellules. Dans cette bande étroite s'effectuent d'autres interactions cellulaires relayées en particulier par la protéine Scabrous (Sca), qui permet l'individualisation régulière des précurseurs R8 et, par conséquent, l'organisation cristalline de la rétine.

nienne. Une interaction locale récurrente permet à la fois le déplacement et le guidage du SM. En effet, la différenciation neurale dépend des protéines sécrétées codées par *hedgehog (hh)* et *decapentaplegic (dpp)*. *dpp* est exprimé dans le SM et cette expression dépend de Hh. Or, Hh est produit par les cellules différenciées en arrière du SM. Le SM semble donc poussé vers l'avant par les cellules dont il vient d'induire la différenciation: la sécrétion de Hh induit celle de Dpp dans les cellules juste anté-

rieures, qui se différencient à leur tour et produisent alors Hh, déplaçant ainsi le SM vers l'avant [3] (figure 3). Notons cependant que le rôle de *dpp* dans le SM reste controversé [12, 13]; il pourrait contrôler l'expression de *ato* [14] mais ne relaie peut-être pas tous les effets de Hh.

L'auto-entretien de la boucle *hh/dpp* semble seul responsable de la progression du SM. En effet, l'expression artificielle de *hh* en avant du SM induit localement celle de *dpp* et,

RÉFÉRENCES

24. Freeman M, Kimmel BE, Rubin GM. Identifying target genes of the rough homeobox in *Drosophila*: evidences that rhomboid functions in eye development. *Development* 1992; 116: 335-46.

25. Kolodkin AL, Pickup A, Lin DM, Goodman CS, Banerjee U. Characterization of Star and its interaction with sevenless and EGF receptor in *Drosophila*. *Development* 1994; 120: 1731-45.

26. Schweitzer R, Howes R, Smith R, Shilo BZ, Freeman M. Inhibition of the *Drosophila* EGF receptor activation by the secreted protein Argos. *Nature* 1995; 376: 699-701.

27. Treisman J, Rubin GM. Wingless inhibits morphogenetic furrow movement in the *Drosophila* eye discs. *Development* 1995; 121: 3519-27.

28. Baker NE, Rubin GM. Ellipse mutations in the *Drosophila* homolog of the EGF receptor affect pattern formation cell division and cell death in eye imaginal discs. *Dev Biol* 1992; 150: 381-96.

29. Huang Z, Kunes S. Hedgehog transmitted along retinal axons triggers neurogenesis in the developing visual centers of the *Drosophila* brain. *Cell* 1996; 86: 411-22.

30. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, Weinstein CL, Fischer A, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. DCP4, a candidate tumor at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996; 271: 350-3.

31. Miyamoto H, Nihonmatsu I, Kondo S, Ueda R, Togashi S, Hirata K, Ikegami Y, Yamamoto D. Canoe encodes a novel protein containing a GLGF/DHR motif and functions with Notch and Scabrous in common developmental pathways in *Drosophila*. *Genes Dev* 1996; 9: 612-25.

32. Huang Y, Fisher-Vize JA. Undifferentiated cells in the developing *Drosophila* eye influence facet assembly and require the Fat facets ubiquitin-specific protease. *Development* 1996; 122: 3207-16.

33. Reiter C, Schimansky T, Nie Z, Fischbach KF. Reorganization of membrane contacts prior to apoptosis in the *Drosophila* retina: the role of the IrreC-rst protein. *Development* 1996; 122: 1931-40.

34. Takahashi F, Endo S, Kojima T, Saigo K. Regulation of cell-cell contacts in developing *Drosophila* eyes by D-src41, a new close relative of vertebrate c-src. *Genes Dev* 1996; 10: 1645-56.

éventuellement, un SM ectopique qui progresse dans toutes les directions, selon une onde circulaire, jusqu'à rencontrer le SM endogène ou buter sur une marge du disque [15]. Il n'existe donc pas de repères globaux et indépendants de la morphogenèse pour guider le SM sur l'axe A/P: sa progression unidirectionnelle et antérograde résulte uniquement de son site originel postérieur.

• Autocensure et progressivité

Le mouvement du SM est contrôlé par de multiples freins qui restreignent spatialement la morphogenèse. Par exemple, la protéine transmembranaire Patched (Ptc) et la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA) sont antagonistes de Hh puisque l'inactivation de l'un ou l'autre de leurs gènes provoque l'expression ectopique de *dpp* [3]. Ptc et PKA limitent ainsi l'induction de *dpp* à la région adjacente aux ommatidies naissantes, où l'activité de Hh est maximale [3]. En outre, deux gènes HLH inhibiteurs de la neurogenèse, *hairy* (*h*) et *extramacrochaete* (*emc*), sont exprimés juste en avant du SM. Leur inactivation simultanée étend la morphogenèse et l'expression de *ato* sur plusieurs rangs cellulaires en avant du SM [16]. L'expression de ces deux gènes contribue donc à borner antérieurement le préssillon (*figure 3*). Il est remarquable que l'expression ectopique de *hh* stimule celle de *ptc* dans le SM et celle de *h* juste en avant [15]. Hh exerce donc un rôle ambivalent en induisant, directement ou indirectement, des régulateurs positifs et négatifs de la différenciation. Cette autocensure limite la portée de l'induction par Hh et impose son rythme progressif à la morphogenèse.

... orientent les ommatidies...

• Asynchronie et coordination

Les SM ectopiques permettent également de comprendre comment les ommatidies se polarisent et orientent leur rotation. En effet, l'induction artificielle d'un SM ectopique sur la marge antérieure retourne les ommatidies, de sorte que R1R2R3 (*figure 1*) en forment alors le côté postérieur.

Les ommatidies ne se polarisent donc pas en fonction d'une information globale sur l'axe A/P, mais selon une information locale, et éventuellement fautive, correspondant à la direction de propagation du SM [17-19]. De plus, un SM ectopique peut créer un nouvel équateur puisqu'il induit la rotation, en sens opposé, des ommatidies formées de part et d'autre de sa direction de propagation [17, 18]. La position de l'équateur semble donc déterminée par le site d'origine et la direction de propagation du SM et non par une information globale et préalable sur le disque. Comme plusieurs équateurs peuvent coexister [14, 17], il est peu probable que chacun d'eux délivre une information globale. Plus vraisemblablement, un signal rotationnel de portée limitée émane des ommatidies naissantes équatoriales et se propage vers leurs voisines polaires au fur et à mesure de la progression centrifuge de la morphogenèse [17, 18]. Les conséquences de l'inactivation locale du gène *frizzled* (*fz*) étayent cette hypothèse: celle-ci produit une rotation aléatoire non seulement des ommatidies mutantes, mais également de leurs voisines sauvages en position polaire; en revanche, leurs voisines sauvages en position équatoriale ne sont pas affectées. Par ailleurs, la rotation ordonnée des ommatidies semble liée à la présence d'un épicycle de morphogenèse. En effet, quand *fz* est inactivé sur l'ensemble du disque, la rotation anormale des ommatidies s'accompagne de la perte du gradient centrifuge de morphogenèse [10]. De plus, la formation d'équateurs ectopiques semble nécessiter un site d'origine ponctuel, c'est-à-dire, vraisemblablement, un épicycle de morphogenèse [17]. Même si une information polarisante de longue portée n'est pas exclue, l'orientation « globale » des ommatidies ventrales et dorsales dépend donc principalement d'interactions locales coordonnées par l'asynchronie de la morphogenèse [17-19].

• Mécanismes

Des anomalies de la différenciation de la paire R3/R4 sont généralement associées à une orientation anormale des ommatidies. La protéine transmembranaire Fz semble conférer un

rôle « boussole » à R3/R4. En effet, un message local délivré par une ommatidie naissante à sa voisine polaire activerait préférentiellement Fz au niveau de la cellule initialement la plus équatoriale de la paire présumptive R3/R4. Cette cellule adopterait alors la destinée R3, effectuerait son déplacement spécifique et déterminerait la direction de rotation [6]. L'activation asymétrique de Fz informe donc l'ommatidie naissante de sa position par rapport à l'équateur en assignant à R3 son identité propre. Le mécanisme de l'activation de Fz demeure inconnu, mais des résultats récents suggèrent que son ligand pourrait appartenir à la famille des protéines sécrétées Wnt [20].

... et assurent la construction « autonome » de l'ommatidie

L'émergence des cellules R8 marque la transformation du disque en une juxtaposition régulière d'unités autonomes correspondant aux futures ommatidies. A la différence du mécanisme d'inhibition latérale impliqué dans la sélection de R8, la différenciation des autres cellules de l'ommatidie s'opère progressivement par une succession d'inductions déclenchées par R8 au sein de chaque unité. Deux récepteurs à domaine tyrosine kinase contrôlent ces inductions : Der (*Drosophila EGF receptor*) pour toutes les cellules, et Sevenless (Sev) dans le cas particulier de R7.

La restriction spatiale de leur activation est essentielle pour la construction correcte de l'ommatidie. La restriction spatiale de l'activité de Sev est assurée par l'ancrage membranaire du ligand de Sev, Boss (*Bride of Sevenless*), et son expression exclusive dans R8. La position particulière du précurseur R7, adjacente à R8, singularise donc son destin par rapport à celui d'autres précurseurs plus éloignés exprimant Sev [21]. Dans le cas de Der, cette restriction ne correspond pas simplement à la localisation du ligand, mais implique une interaction complexe entre régulateurs positifs et négatifs de son activité. En effet, l'activité du ligand probable de Der, Spitz (Spi) est potentialisée par deux molécules transmembranaires,

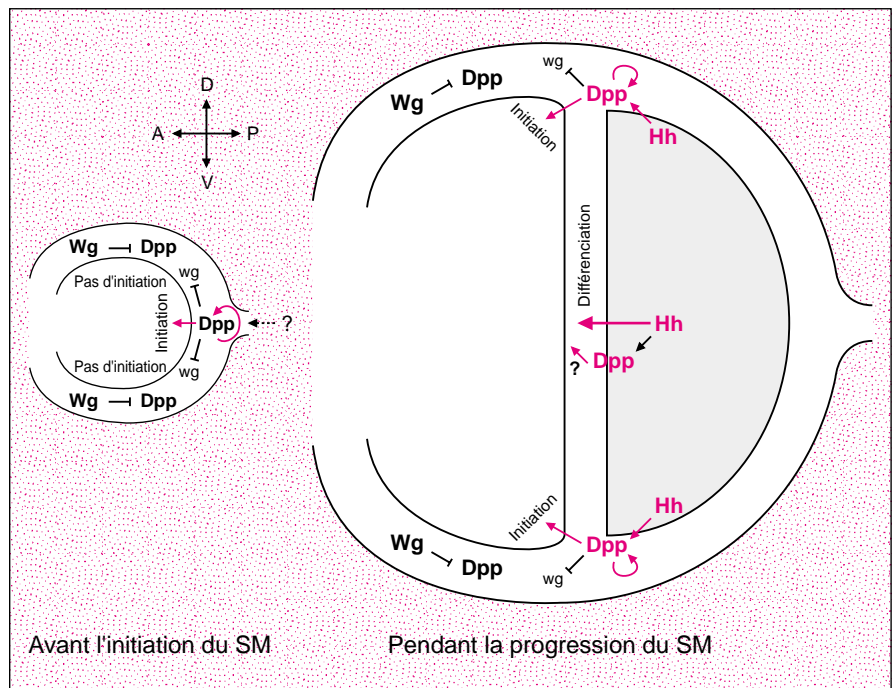


Figure 4. **Régionalisation des marges du disque de l'œil et restriction spatiale de l'origine du sillon morphogénétique.** La protéine diffusible Decapentaplegic (Dpp), apparentée aux TGFβ, est essentielle au démarrage du SM sur la marge postérieure. Avant l'initiation, Dpp est exprimé tout au long des marges postérieure, dorsale et ventrale. Cependant, la différenciation ne peut commencer le long des marges latérales (ventrale et dorsale) où est synthétisé l'inhibiteur Wingless (Wg), membre de la famille des protéines sécrétées WNT. Le long des marges, Dpp active l'expression de son propre gène et peut inhiber l'expression de wg quand son activité atteint un seuil suffisant. L'événement initiateur primordial est encore inconnu (?), mais pourrait impliquer la « suractivation » locale de la boucle d'autostimulation de Dpp. Une fois la différenciation commencée, l'expression de Dpp cesse le long de la marge postérieure mais apparaît dans le SM, où elle dépend du facteur diffusible Hedgehog (Hh), sécrété par les cellules en arrière du SM. Si Hh est clairement requis pour la différenciation, le rôle de Dpp dans le SM reste incertain. La réinitiation du SM le long des marges latérales est requise pour l'extension de la différenciation à l'ensemble la surface du disque. A l'intersection du SM et des marges latérales, la production de Dpp par le SM pourrait permettre d'atteindre le seuil « d'activité Dpp » nécessaire à l'extinction de wg et au redémarrage local du SM. Dpp dans le SM coordonnerait ainsi la progression antérograde et latérale de la différenciation. En outre, Wg freine la différenciation à l'intérieur du disque, bien que sa synthèse y soit faible. Dpp pourrait aussi participer à la progression antérograde de la différenciation en éteignant wg à l'avant du SM.

Star (S) et Rhomboid (Rho) qui assurent peut-être la diffusibilité de Spi par un clivage post-traductionnel [22-25]. spi, S et rho sont coexprimés dans R8 et R2/R5 qui fonctionnent donc comme une source de Spi actif au sein de chaque ommatidie naissante [22, 25]. En revanche, la protéine diffusible Argos (Aos) inhibe le signal Der [26]. Des photorécepteurs surnuméraires résultent aussi bien de l'inactivation de aos que de la surex-

pression de S ou de rho [24-26]. L'extension spatiale de l'activation de Der est donc définie à la fois par l'activation localisée de Spitz (par S et Rho), et par l'inhibition du signal Der (par Aos). L'expression de l'inhibiteur aos est induite par l'activation de Der [26]. Comme pour Hh et la progression du SM, la portée signalisatrice de l'inducteur diffusible Spi semble donc limitée par un mécanisme d'autocensure.

Tableau I		
QUELQUES EFFECTEURS DES COMMUNICATIONS INTERCELLULAIRES DANS LA RÉTINE		
Gène	Nature du produit	Rôle biologique
<i>aos</i>	protéine diffusible apparentée à EGF	régulation négative du signal der
<i>boss</i>	7 segments transmembranaires	spécifique de R8; induction de R7 par R8; ligand de sev
<i>cno</i>	protéine à motif GLGF/DHR	requis pour signal N; ligand intracellulaire de N? Jonctions intercellulaires?
<i>der</i>	homologue de EGFR: récepteur à domaine tyrosine kinase intracellulaire	prolifération; différenciation neurale et non neurale
<i>DI</i>	protéine transmembranaire	ligand de N; inhibition latérale et sélection des cellules R8
<i>dpp</i>	protéine sécrétée apparentée au TGFβ	démarrage et sans doute progression du SM; induit par <i>hh</i> dans le SM
<i>dsh</i>	protéine cytoplasmique à motif GLGF/DHR	transmission du signal fz et rotation/polarisation des ommatidies transmission du signal Wg; jonctions intercellulaires?
<i>faf</i>	protéase spécifique de l'ubiquitine	requis dans les cellules extérieures à l'ommatidie en développement pour y limiter les recrutements de cellules R
<i>fz</i>	7 segments transmembranaires	rotation/polarisation des ommatidies; activation dans R3 et distinction R3/R4; régulation du gène de rotation <i>nemo</i> ; récepteur de certaines protéines de la famille WNT?
<i>hh</i>	protéine sécrétée	produite par les cellules postérieures au SM; induit dpp dans le SM; morphogenèse et progression du SM
<i>N</i>	récepteur transmembranaire; 36 répétitions EGF extracellulaires, 6 motifs ankyrine intracellulaires	rôles multiples: inhibition latérale et sélection des cellules R8; régulations des inductions dans l'ommatidie en formation
<i>ptc</i>	12 segments transmembranaires	inhibition de la morphogenèse; antagoniste de <i>hh</i> ; induit par <i>hh</i> ; récepteur de <i>hh</i>
<i>rho</i>	protéine à multiples (3 à 7) segments transmembranaires	régulation positive du signal der; induction R3/R4 par R2/R5? maturation (clivage) de <i>spi</i> ?
<i>rst/irreC</i>	molécule d'adhérence superfamille des immunoglobulines	contact cellules interommatidiales (CIO)/cellules pigmentaires primaires nécessaire à l'alignement et l'apoptose des CIO
<i>sca</i>	sécrétée à domaine FRED apparentée aux tenascines (matrice extracellulaire) et aux fibrinogènes	régularité spatiale de la morphogenèse; sélection des cellules R8; régulation spatiale de l'activité de N/DI autorégulation négative (sauf dans R8)
<i>sev</i>	récepteur à domaine tyrosine kinase intracellulaire	récepteur de <i>boss</i> ; initie la cascade neuralisant le précurseur R7
<i>spi</i>	protéine transmembranaire ou sécrétée homologue au TGFα	ligand probable de <i>der</i> ; recrutement des cellules R et des cellules non neurales
<i>D-src41</i>	tyrosine kinase	régulation des jonctions adhérentes et des recrutements dans l'ommatidie en formation
<i>Star</i>	protéine transmembranaire (un seul segment transmembranaire)	essentiel pour la différenciation des cellules R; régulation positive du signal der; activation/clivage de <i>spi</i> dans R8 et R2/R5?
<i>wg</i>	protéine sécrétée de la famille WNT; interaction avec matrice extracellulaire	inhibe le signal dpp; restreint spatialement l'initiation du SM en l'inhibant au niveau des marges latérales; inhibition de la morphogenèse à l'intérieur du disque? Ligand de certaines protéines de la famille FZ?

Le tableau se limite à certaines protéines impliquées dans les contacts intercellulaires, aux molécules sécrétées, leurs récepteurs et éventuellement un transducteur membranaire et/ou cytoplasmique. *aos*: argos [26]; *boss*: bride of sevenless [2]; *cno*: canoe [31]; *der*: Drosophila EGF receptor [27]; *DI*: Delta [7]; *dpp*: decapentaplegic [3]; *dsh*: dishevelled [6]; *faf*: fat facets [32]; *fz*: frizzled [6]; *hh*: hedgehog [15]; *N*: Notch [8]; *ptc*: patched [15]; *rho*: rhomboid [24]; *rst/irreC*: roughest/irregular chiasmC [33]; *sca*: scabrous [10]; *sev*: sevenless [2]; *spi*: spitz [22]; *D-src 41* [34]; *Star* [25]; *wg*: wingless [27].

Régionalisation précoce et information globale

• Chi va piano va sano

La régularité spatiale de la morphogenèse, le mouvement du SM et la

rotation orientée des ommatidies dépendent donc d'interactions locales et répétitives. Dans chaque cas, l'influence organisatrice émane des cellules postérieures et équatoriales: les cellules postérieures

règlent la morphogenèse juste en avant par l'action combinée des inducteurs Hh et Dpp et de l'organisateur Sca, tandis que les cellules équatoriales influencent la rotation de leurs voisins polaires. La capacité

organisatrice des cellules postérieures et équatoriales provient de leur «avance» dans le processus de différenciation. Cette avance est la conséquence de l'initiation du SM à partir d'un site originel ponctuel, invariablement placé à l'intersection de la marge postérieure et du futur équateur [17]. L'élaboration progressive de la rétine perpétue l'avance initiale des cellules postérieures et équatoriales et entretient ainsi leur influence organisatrice.

• **Rien ne sert de courir, il faut partir à point**

Une forte activité Dpp est indispensable à l'initiation du SM [13]. Avant la morphogenèse, Dpp est présent dans les marges postérieure et latérales [27]. Cette synthèse est indépendante de *hh* et repose sur la capacité spécifique des marges à permettre l'autorégulation positive de *dpp* [12, 13]. Dans les marges latérales, l'activité initiatrice de Dpp semble inhibée par la synthèse de la protéine Wingless (Wg) [13, 27]. Dans la marge postérieure, un signal encore inconnu, peut-être transmis par le pédoncule optique, pourrait stimuler localement la boucle autorégulatrice de *dpp* dont l'activité atteindrait, dans une région restreinte, le seuil requis pour débiter la différenciation. La sélection du site d'origine dépend donc d'une régionalisation préalable du disque par l'expression localisée de *dpp* et *wg*.

• **Et pourtant, elles tournent**

L'importance des interactions locales et progressives pour la polarisation des ommatidies n'exclut probablement pas des influences plus «globales». En effet, le mouvement R3/R4 et la rotation se produisent normalement parmi des ommatidies extrêmement clairsemées par une version hyperactive de *der* [28]. Comme l'expression de certains gènes dessine un gradient symétrique de part et d'autre de l'équateur, l'orientation des ommatidies pourrait résulter en partie de la diffusion bidirectionnelle d'un morphogène global relayé localement par *fz* [6].

• **Identité ventrale et dorsale**

L'expression de certains gènes marque spécifiquement la moitié dorsale ou ventrale du disque avant

même la morphogenèse [17]. Il existe par conséquent une identité ventrale et dorsale spécifique précédant la mise en place de l'équateur. L'origine de ce marquage global est inconnue. Il pourrait fournir l'information nécessaire au positionnement correct des projections axonales des photorécepteurs dans les ganglions optiques ou, peut-être, contribuer à localiser le site d'origine du SM. La distribution de ce marquage est sensible à *hh* [17] ce qui suggère que l'effet organisateur des SM induits par l'expression ectopique de *hh* pourrait refléter non seulement des interactions polarisantes locales mais aussi un remodelage plus profond de l'organisation globale du disque.

■ **Conclusion**

A la structure cristalline de la rétine de drosophile correspond une neurogenèse progressive, par la répétition de cycles d'interactions locales. La morphogenèse est donc myope, puisque la rétine s'élabore à partir de cellules qui connaissent leur position et leur destin surtout par ce que leur en disent leurs proches voisines. La progressivité du processus semble reposer sur l'induction simultanée de molécules antagonistes, directement ou non contrôlées par Hh. Elle maintient des asynchronies coordinatrices qui permettent sans doute de bâtir avec précision la structure «cristalline» de la rétine [3]. Précision et asynchronie caractérisent aussi la neurogenèse des cibles des photorécepteurs dans le cerveau. Les deux neurogenèses semblent couplées grâce au transport de Hh dans les axones des photorécepteurs naissants, depuis la rétine jusqu'aux ganglions optiques [29].

La plupart des molécules de signalisation intercellulaires réglant la morphogenèse rétinienne de la drosophile sont conservées chez les vertébrés (Tableau 1). Plusieurs d'entre elles ont récemment été impliquées dans la genèse de différentes néoplasies chez l'homme [12, 30]. La rétine de la drosophile représente donc un outil remarquable pour déchiffrer les mécanismes réglant des aspects fondamentaux du développement et de ses dérèglements ■

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les Drs D. Coen, F. Schweisguth et P. Dhordain pour leur relecture critique du manuscrit et leurs suggestions, et P. Martin pour son aide constante et précieuse.

Summary

Nearsighted morphogenesis in the Drosophila retina

Drosophila retinal morphogenesis progressively transforms an undifferentiated epithelium into a regular array or cristal of approximately 800 identical subunits, the ommatidia. This transformation results principally from local and transient intercellular interactions which have been unraveled in great detail thanks to the relative simplicity of the ommatidial structure and the amenability of Drosophila to genetic and molecular analyses. At the level of the whole retina, lateral inhibition among proneural cells ensures that morphogenesis occurs with spatial regularity whereas repetitive local interactions between adjacent ommatidia could be responsible for their either ventral or dorsal orientation. Within each ommatidium, cells are sequentially recruited around the founding R8 photoreceptor through a stereotypical sequence of local inductions. The development of the Drosophila retina illustrates how the asynchrony of morphogenesis can coordinate essentially short range intercellular communications, allowing the elaboration of a complex and regularly arrayed organ with minimal need for global concertation or prior patterning.

TIRÉS À PART

F. Chanut.