

Hétérogénéité myoblastique et filiation myogénique

Il existe plusieurs espèces de myoblastes au cours de l'ontogénèse, ceux qui demeurent dans le territoire somitique (myotome), à l'origine des muscles du tronc, et ceux qui migrent vers l'extérieur, à l'origine des bourgeons des membres. A ce dernier niveau, la culture cellulaire permet de montrer que se succèdent des populations myoblastiques distinctes aux destins différents. Sur le plan moléculaire, plusieurs populations de myoblastes peuvent aussi être distinguées par l'expression des gènes de différenciation myogénique de la famille *MyoD1*. La plupart des lignées myoblastiques expriment *Myf5*, alors que l'expression de *MyoD1* et de *Myogénine* serait associée à la décision de se différencier en myotubes. Il se pourrait par conséquent que *Myf5* intervînt dans la détermination myogénique, alors que, en aval, *MyoD1* et *Myogénine* seraient impliqués dans l'activation de la différenciation terminale.

François Gros
Didier Montarras
Christian Pinset
Vincent Mouly

ADRESSES

F. Gros : professeur à l'Institut Pasteur et au Collège de France. D. Montarras : chargé de recherche à l'Institut Pasteur. C. Pinset : chargé de recherche au Cnrs. V. Mouly : chargé de recherche au Cnrs. Unité de biochimie, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France.

m/s n° 3 vol. 6, mars 90

Lorsqu'on décrit la différenciation du tissu musculaire (squelettique), on se réfère souvent à une séquence d'événements que l'on peut résumer ainsi : le mésoderme dorsal, territoire situé près du pôle apical de l'œuf en division, donne naissance aux myoblastes (Mb) mononucléés. Ceux-ci se convertissent en myotubes (Mt) lesquels subissent à leur tour une maturation en fibres et forment le tissu musculaire adulte. Chaque intermédiaire de la différenciation apparaît comme constitué de cellules identiques et homogènes, chaque étape étant parfaitement synchrone. Dans un tel schéma (*figure 1, p. 246*) on n'établit de fait aucune différence entre les voies ontogéniques qui conduisent aux divers types de muscles du squelette.

En réalité, si l'on envisage les choses sous un angle plus précis, en portant plus d'attention aux premiers

stades, il est apparent qu'existent au moins deux catégories de myoblastes (Mb) : ceux qui demeurent dans l'aire somitique et qui engendreront précocement les muscles du tronc, et ceux qui, dérivant du dermomoyotome, migrent à l'extérieur du territoire somitique pour former plus tardivement les bourgeons des membres [1-3]. De fait, et comme nous le verrons ci-après, les myoblastes ayant ces deux destinées ontogéniques semblent comprendre des sous-catégories distinctes, de sorte que le terme de « myoblastes » doit être considéré comme une appellation générique recouvrant une assez grande hétérogénéité cellulaire. La *figure 2, p. 247* tente précisément d'illustrer les étapes primaires concourant à la formation des premières ébauches musculaires.

Une des premières questions que l'on est en droit de se poser concerne la nature des facteurs qui contrôlent la

RÉFÉRENCES

- Kieny M, Dhouailly D. Sur les mécanismes de l'induction d'un membre supplémentaire chez les oiseaux. *CR Acad Sci Paris* 1969 ; 269 : 481-3.
- Christ B, Jacob HH, Jacob M. Experimental analysis of the origin of the wing musculature in avian embryos. *Anat Embryol* 1977 ; 150 : 171-86.
- Konigsberg IR. The embryonic origin of muscle. In : Engel AG, Banker BQ, eds. *Myology*. New York : Mc Graw Hill, 1986 : 39-71.
- Kieny M. Sur les relations entre le mésoderme somitique et le mésoderme somatopleural avant et au cours de l'induction primaire des membres de l'embryon de poulet. *CR Acad Sci Paris* 1969 ; 268 : 3183-6.
- Le Douarin N. Cell migrations in embryos. *Cell* 1984 ; 38 : 353-60.
- Venkatasubramanian K, Solursh M. Chemotactic behavior of myoblasts. *Dev Biol* 1984 ; 104 : 428-33.
- Kosher R, Rodgers B. Separation of the myogenic and chondrogenic progenitor cells of undifferentiated limb mesenchyme. *Dev Biol* 1987 ; 121 : 376-88.
- White NK, Bonner PH, Nelson DR, Hauschka SD. Clonal analysis of vertebrate myogenesis. IV. Medium dependent classification of colony forming cells. *Dev Biol* 1975 ; 44 : 346-61.
- Womble MD, Bonner PU. Developmental fate of a distinct class of chick myoblasts after transplantation of cloned cells into quail embryos. *J Embryol Exp Morphol* 1980 ; 58 : 119-30.
- Seed J, Hauschka SD. Temporal separation of the migration of distinct myogenic precursor populations into the developing chick wing bud. *Dev Biol* 1984 ; 106 : 389-93.
- Bonner PH. Nerve-dependent changes in clonable myoblast populations. *Dev Biol* 1978 ; 66 : 207-19.
- Bonner PH, Adams T. Neural induction of chick myoblast differentiation in culture. *Dev Biol* 1982 ; 90 : 175-84.
- Rutz R, Hauschka SD. Clonal analysis of vertebrate myogenesis. VII. Heritability of muscle colony type through sequential subclonal passages *in vitro*. *Dev Biol* 1982 ; 91 : 103-110.
- Mouly V, Toutant M, Fiszman MY. Chick and quail limb bud myoblasts, isolated at different times during muscle development, express stage-specific phenotypes when differentiated in culture. *Cell Diff* 1987 ; 20 : 17-25.
- Cossu G, Ranaldi G, Senni MI, Molinaro M, Vivarelli E. Early mammalian myoblasts are resistant to phorbol ester-induced block of differentiation. *Development* 1988 ; 102 : 65-9.
- Miller JB, Stockdale FE. Developmental regulation of the multiple myogenic cell lineages of the avian embryo. *J Cell Biol* 1986 ; 103 : 2197-208.
- Filogamo G, Sisto-Daneo L. Nervous projections and myotome maturation. *J Submicr Cytol* 1977 ; 9 : 307-10.
- Vivarelli E, Cossu G. Neural control of early myogenic differentiation in cultures of mouse somites. *Dev Biol* 1986 ; 117 : 319-25.

proportion des cellules migratrices et des myoblastes qui se différencient *in situ*. On sait que les cellules migratrices ont en général une disposition plus marginale dans le dermo-myotome ; dès lors, il est légitime de se demander si elles ne répondent pas à un signal chimiotactique particulier ; à ce sujet, les embryologistes ont établi l'existence de divers effets inducteurs en provenance du mésoderme somato-pleural [4] et peut-être aussi de la crête neurale [5]. En outre, la migration proprement dite ferait intervenir des facteurs, comme le PDGF (*platelet derived growth factor*) [6] et la fibronectine [7].

Devenir de myoblastes « embryonnaires » en cultures cellulaires. Dépendances nutritionnelles. Effets du TPA et du nerf

Dans la suite de cet exposé, nous tenterons d'analyser comment l'examen du devenir des myoblastes en cultures cellulaires *in vitro* pourrait contribuer à l'étude des étapes pré-

coces de l'ontogenèse de la filiation des cellules musculaires. Une première approche à l'étude de l'hétérogénéité des myoblastes a conduit à la proposition que le bourgeon de membre en développement est le siège de l'apparition de types myoblastiques distincts. C'est ce qui a résulté des travaux de Hauschka *et al.* chez les oiseaux (caille, poulet). Ces travaux [8] montrent en effet qu'il existe plusieurs classes de myoblastes en se fondant sur leurs exigences nutritionnelles lorsqu'ils sont amenés à se différencier en culture. Ainsi, le nombre de clones myogéniques obtenus à partir des populations isolées du bourgeon de patte est négligeable avant le 3^e jour. A partir de là, il augmente pour atteindre 55 % à 5 jours. Les myotubes formés *in vitro* présentent des caractéristiques différentes selon qu'ils proviennent de cellules formatrices de colonies musculaires (MCF, *muscle colony forming*) « jeunes » ou plus « tardives » : les premières colonies forment de petits myotubes avec peu de noyaux, les plus tardives de longs myotubes (Mt) plurinucléés. Quatre classes ont ainsi été définies.

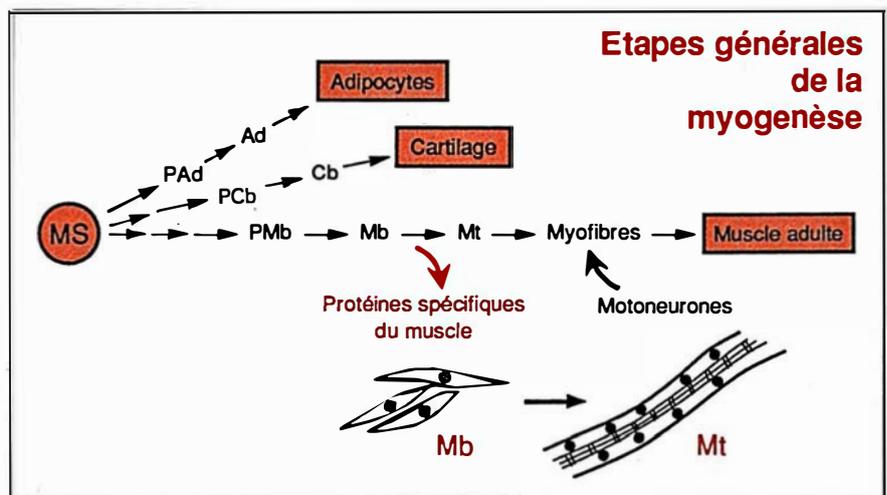


Figure 1. **Étapes générales de la myogenèse.** MS = mésenchyme primaire ; PMb = myoblastes présomptifs ; Mb = myoblastes matures (G1) ; Mt = myotubes ; PAd = pré-adipoblastes ; Ad = adipoblastes ; PCb = préchondrocytes ; Cb = chondrocytes.

La première, CMRI (*conditioned medium requiring cells*, cellules exigeant un milieu conditionné), est présente au « stade 3 jours » (petits Mt), la deuxième (CMRII) apparaît au « stade 5 jours », la troisième (CMRIII) à 9 jours (longs Mt). Les myoblastes de toutes ces classes ont besoin de milieu conditionné pour se différencier *in vitro*, mais le temps de mise en contact ainsi requis diminue entre CMRI et CMRII. Enfin, une quatrième classe, FMS (*free medium sufficient*), apparaissant au 6^e jour, ne requiert pas de milieu conditionné. La première classe est stable et n'évolue pas vers les autres (greffes de CMRI de poulet sur pattes de caille) [9].

Deux vagues de « précurseurs » de ces myoblastes sont supposées intervenir : la première arrivant dans le bourgeon au stade 24 à 27 somites (50 heures) et engendrant la première classe CMRI, et la deuxième, après 56 heures (26 à 28 somites), qui serait capable de former toutes les classes [10]. Comme nous aurons l'occasion d'y revenir, la dépendance vis-à-vis du nerf varie selon les classes. Une dénervation empêche l'apparition de la troisième vague de populations au neuvième jour (classe CMRIII) [11]. Apparemment, c'est le contact avec le nerf qui semble requis [12]. Toutes ces classes de myoblastes synthétisent (après différenciation) le récepteur de l'acétylcholine (AChR). Toutefois, la classe I ne le fait qu'en présence de milieu conditionné [13].

La figure 3 - extraite du travail de N. White *et al.*, en 1975 [8] - illustre la chronologie d'apparition des quatre classes de cellules myogéniques. Plus récemment, Fiszman et Mouly ont repris ces travaux [14]. Ils ont montré que chez le poulet ou la caille, les myotubes dérivés des myoblastes précoces (à 5-6 jours) synthétisent des quantités abondantes de chaînes légères de myosines, du type MLC2 lent (MLC : *myosin light chain*) mais pas de MLC2 de type rapide, alors que la situation est inversée dans les myotubes dérivés des Mb tardifs (9 jours *in ovo*). La morphologie des myotubes précoces n'est pas identique à celle des myotubes tardifs et, fait intéressant, les premiers ne fabriquent pratiquement pas de

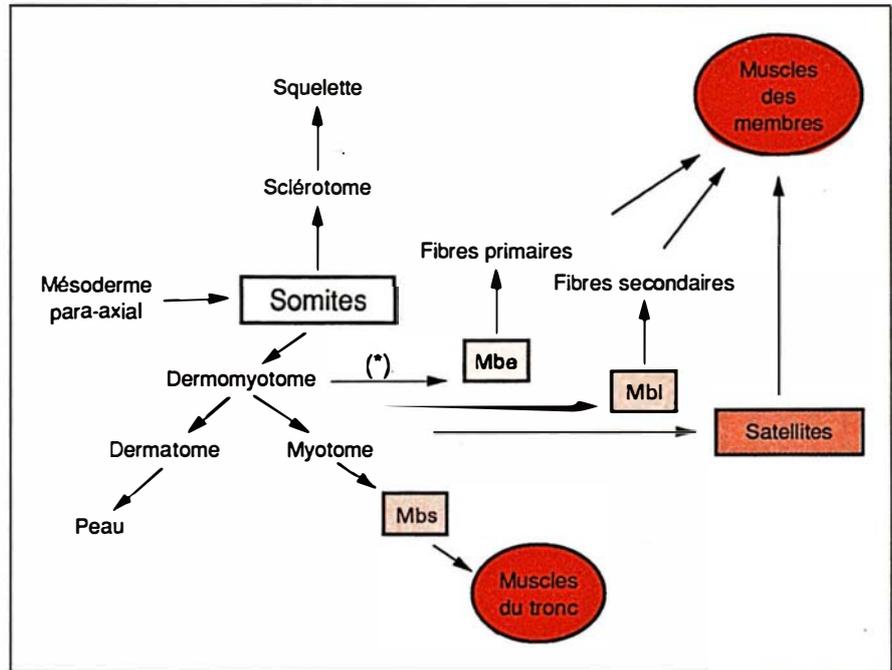


Figure 2. **Ontogenèse des muscles du tronc et des muscles des membres.** Mbe = myoblastes « précoces » (early) ; Mbl = myoblastes tardifs (late) ; Mbs = myoblastes somitiques. * Cette étape est influencée par la somatopleure et la crête neurale.

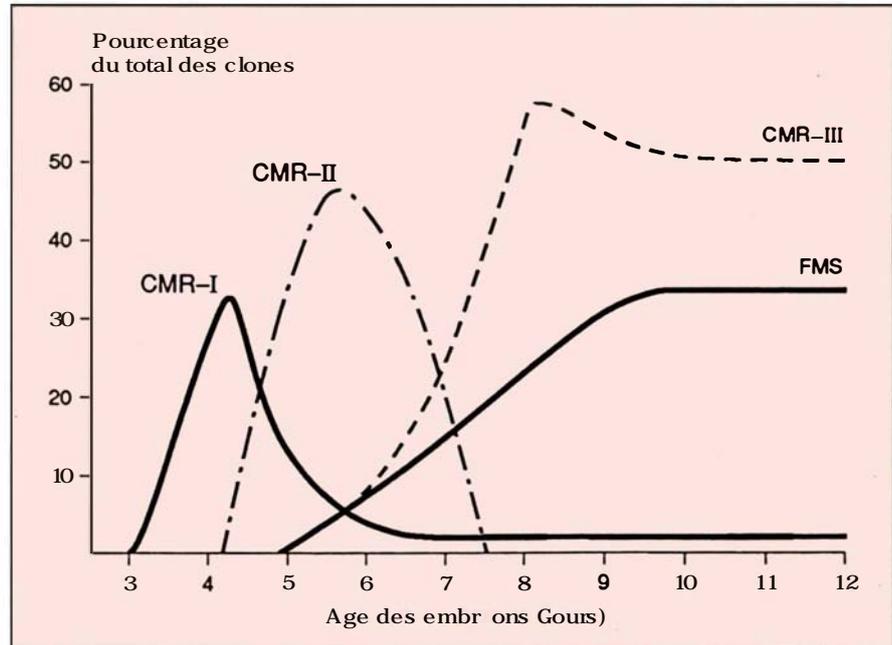


Figure 3. **Apparition des différentes populations de cellules formatrices de colonies musculaires en fonction de l'âge des embryons.** CMR veut dire ici *conditioned medium requiring cells* tandis que FMS signifie *free medium sufficient cells*. CMRII est calculé en soustrayant les proportions de CMRI et CMRIII (différentes morphologies de myotubes) à partir de la quantité totale de cellules CMR trouvées au cours du développement. Comme on l'a déjà souligné, les cellules CMRIII requièrent un contact avec le nerf pour se différencier. (D'après [8]).

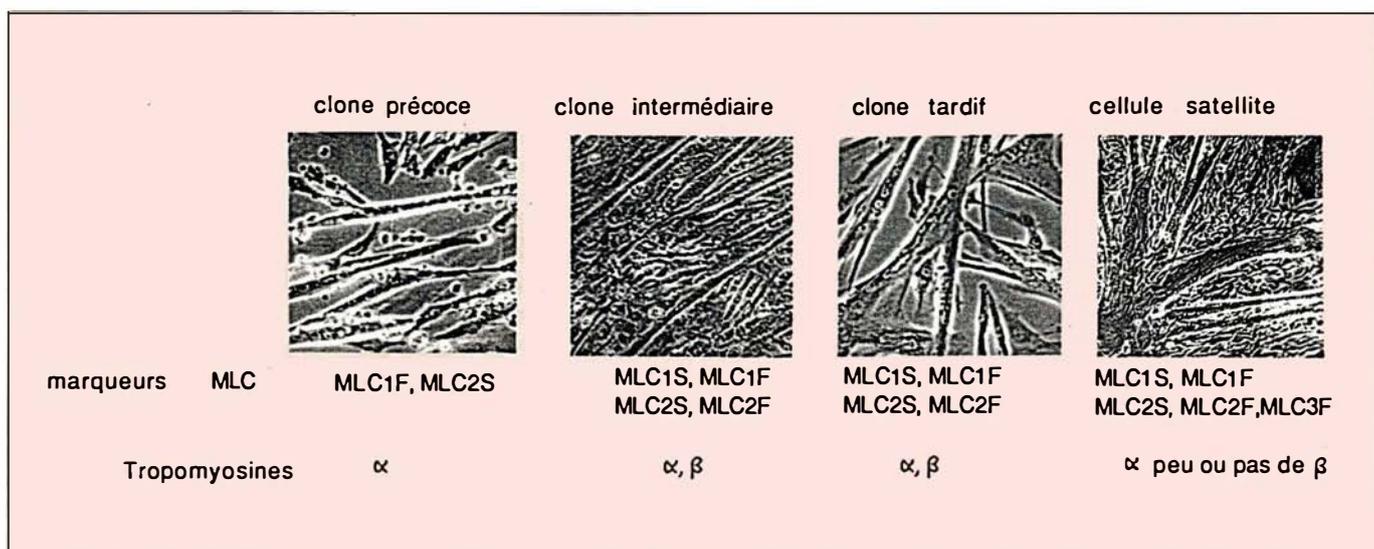


Figure 4. **Synthèse des résultats obtenus sur les clones de myoblastes embryonnaires transformés par le RSV NYts68.** MLC = myosin light chain ; S = slow (lent) ; F = fast (rapide). (D'après [14]).

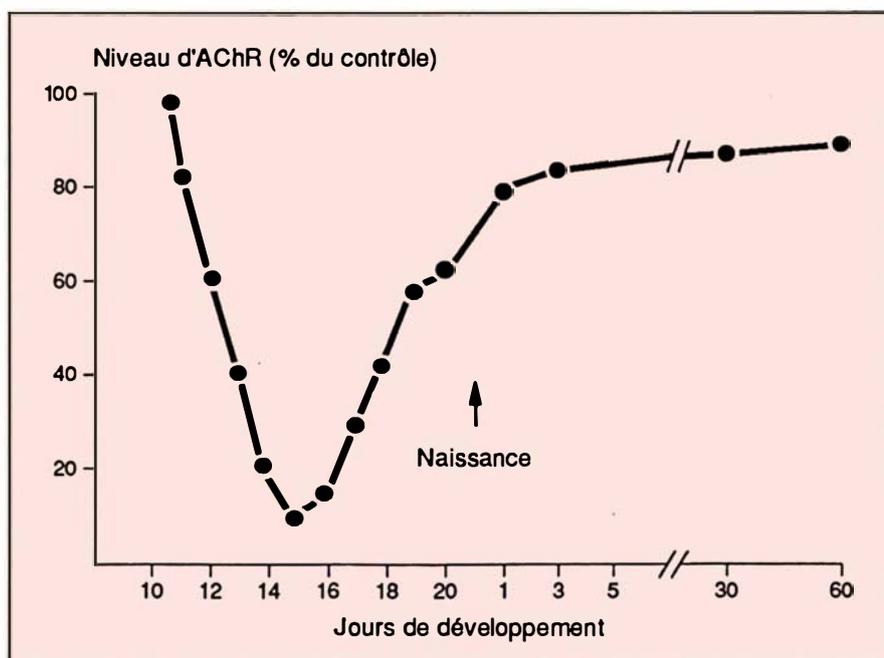


Figure 5. **Profil de résistance au TPA des myoblastes provenant de souris à différents stades du développement.** Les cellules ont été cultivées en absence (contrôle) et en présence de $10^{-7}M$ TPA et le niveau d'AChR déterminé après 5 jours de culture. (D'après [15]).

récepteurs de l'acétylcholine tandis que les seconds en synthétisent.

La figure 4 illustre les efforts réalisés par ces auteurs pour stabiliser par transformation les phénotypes des myoblastes de catégories « précoce » et « tardive », en utilisant le virus RSV (*Rous sarcoma virus*) thermosensible (RSVNYts68), qui permet d'obtenir des lignées permanentes non différenciables à température permissive, mais différenciables à $40^{\circ}C$. Au moins deux classes de myoblastes de caille transformés peuvent ainsi être caractérisées et perpétuées. Il existe peut-être aussi une classe « intermédiaire ». Ces expériences de transformation, conduisant à des lignées permanentes de myoblastes précoces et tardifs ayant conservé la plupart des caractéristiques observées dans les myoblastes embryonnaires d'origine, confortent dans l'idée que la myogenèse *in vivo* mobilise des classes de myoblastes distinctes, génétiquement prédéterminées. L'opposition « précoce-tardif » reflèterait donc une hétérogénéité de populations cellulaires ayant des des-

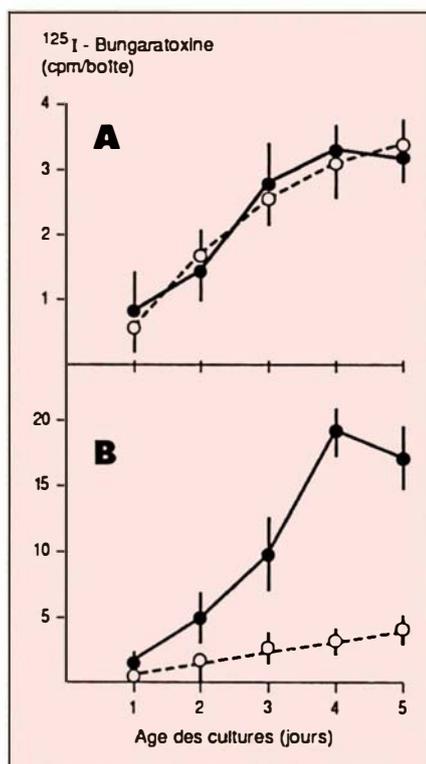


Figure 6. **Niveau du récepteur de l'acétylcholine (AChR) dans des cultures de myoblastes de souris.** Les cultures ont été établies à partir d'ébauches de pattes d'embryons âgés de 11 jours (A) et 16 jours (B). Les cellules ont été cultivées en absence (●- - - ●), ou en présence (○- - - ○) de TPA 10⁻⁷M. Le niveau d'AChR a été mesuré par la fixation de ¹²⁵I-α-bungaratoxine. (D'après [15]).

tinées différentes dans la formation des fibres plutôt que des réponses distinctes d'une même population aux facteurs du milieu, comme le prouve l'étude des clones transformés homogènes.

Giulio Cossu a introduit le critère de sensibilité des myoblastes à un agent promoteur de la carcinogenèse, le TPA (ou ester de phorbol) [15]. Le TPA exerce en effet des influences différentielles très intéressantes sur les myoblastes « précoces » et « tardifs » de cellules somitiques ou de bourgeons de membres, ainsi que sur les cellules satellites (figure 5).

m/s n° 3 vol. 6, mars 90

Ainsi, les myoblastes précoces des somites ou bourgeons provenant d'embryons de souris de 10 à 12 jours sont insensibles au TPA. A partir de 14 jours, la proportion de myoblastes dont la différenciation est sensible s'accroît. A 15 jours, plus de 90 % des cellules le sont. Au 15^e jour, on voit apparaître une nouvelle population de cellules myogéniques dans les bourgeons de patte, qui sont capables de se différencier en présence de TPA et, après 18 jours, ces cellules représentent la plus grande majorité des myoblastes : il s'agit alors des cellules satellites. La sensibilité au TPA serait en relation avec la composition des membranes en phosphatidylsérine.

La figure 6 - tirée de la publication de Cossu *et al.* en 1988 [15] - montre l'insensibilité au TPA des myoblastes précoces (A) de 11 jours et la sensibilité des myoblastes tardifs (B) de 16 jours, en utilisant comme critère de différenciation l'expression du récepteur de l'acétylcholine.

En 1986, Miller et Stockdale [16] avaient également rapporté l'existence de deux catégories de myoblastes : des myoblastes de type « précoce », qui expriment des isoformes de myosines à caractéristiques déterminées selon le phénotype des fibres qui en émanent (on distingue alors des clones « rapides », « lents » ou « mixtes »), et des myoblastes de type « tardif », chez lesquels le programme d'expression des myosines est sous la dépendance de facteurs épigénétiques tels que : innervation, effet des hormones thyroïdiennes, etc.

Enfin, le degré de dépendance que manifeste la différenciation myogénique à l'égard du contrôle neuronal peut être un marqueur fin de l'hétérogénéité de classe, lequel est sans doute à rapprocher des sensibilités différentielles au TPA pouvant refléter des états membranaires distincts. Ainsi les Mb des vertébrés apparaissent dans le myotome aux stades 10-15 somites (2,5 jours chez le poulet ; 9 jours chez la souris). Ceci coïncide avec le moment où les prolongements du tube neural forment contact avec le myotome [17], l'innervation véritable se produisant dès le 14^e jour chez la souris.

Cossu *et al.* ont réussi à disséquer une bande somitique associée au tube

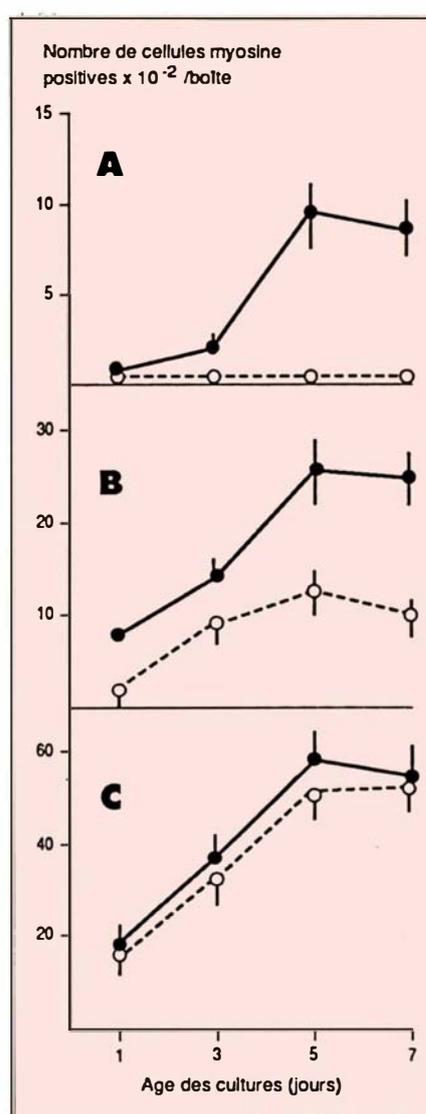


Figure 7. **Apparition de cellules exprimant la myosine dans des cultures de cellules isolées, avec ou sans tube neural, à partir de somites d'embryons de souris âgés de 8,5 jours (A), 9,5 jours (B) et 10,5 jours (C).** (D'après [18]).

neural et une autre dépourvue de cellules nerveuses. Les deux types de somites ont été dissociés, mis en suspensions monocellulaires puis cultivés ; on a mesuré la différenciation à l'aide d'un anticorps antimyosine. Comme le montre la figure 7 [18], au cours de la somitogenèse précoce

RÉFÉRENCES

19. Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 1987 ; 51 : 987-1000.
20. Pinney D, Pearson-White S, Konieczny S, Latham K, Emerson C Jr. Myogenic lineage determination and differentiation : evidence for regulatory gene pathway. *Cell* 1988 ; 53 : 781-93.
21. Wright W, Sassoon D, Lin VK. Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell* 1989 ; 56 : 607-17.
22. Braun T, Buschhausen-Denker G, Bober E, Tannich E, Arnold HH. A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T 1/2 fibroblasts. *EMBO J* 1989 ; 8 : 701-9.
23. Murre C, McCaw SP, Vaessin H, *et al.* Interactions between heterologous helix-loop-helix proteins generate complexes that bind specifically to a common DNA sequence. *Cell* 1988 ; 58 : 537-44.
24. Tapscott SJ, Davis RL, Thayer MJ, Cheng PF, Weintraub H, Lassar AB. MyoD1 : a nuclear phosphoprotein requiring a Myc homology region to convert fibroblasts to myoblasts. *Science* 1988 ; 242 : 405-11.
25. Braun T, Bober E, Buschhausen-Denker G, Kotz S, Grzeschik KH, Arnold HH. Differential expression of myogenic determination genes in muscle cells : possible autoactivation by the Myf gene products. *EMBO J* 1989 ; 8 : 3617-25.
26. Pinset C, Montarras D, Chenevert J, *et al.* Control of myogenesis in the mouse myogenic C2 cell line by medium composition and by insulin : characterization of permissive and inducible C2 myoblasts. *Differentiation* 1988 ; 38 : 28-34.
27. Montarras D, Pinset C, Chelly J, Kahn A, Gros F. Expression of MyoD1 coincides with terminal differentiation in determined but inducible muscle cells. *EMBO J* 1989 ; 8 : 2203-7.
28. Sassoon D, Lyons G, Wright WE, *et al.* Expression of two myogenic regulatory factors myogenin and MyoD1 during mouse embryogenesis. *Nature* 1989 ; 341 : 303-7.
29. Kaufman S, Foster R. Replicating myoblasts express a muscle-specific phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 9606-10.
30. Lamandé N, Mazo AM, Lucas M, *et al.* Murine muscle specific enolase : cDNA cloning, sequence and developmental expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 4445-9.
31. Gower H, Moore S, Dickson G, Elsom V, Nayak R, Walsh F. Cloning and characterization of a myoblast cell surface antigen defined by 24.1D5 monoclonal antibody. *Development* 1989 ; 105 : 723-31.
32. Chelly J, Montarras D, Pinset C, Bernald-Netter Y, Kaplan JC, Kahn A. Quantitative estimation of minor mRNAs by cDNA polymerase chain reaction. Application to dystrophin mRNA in cultured myogenic and brain cells. *Eur J Biochem* 1990 (sous presse).

Tableau I

DÉTECTION DES TRANSCRITS MyoD1, MYOGÉNINE ET Myf5 DANS DIVERSES LIGNÉES MYOGÉNIQUES

Cellules	Origine	Gènes de régulation exprimés au stade	
		Myoblaste	Myotube
L6, L8	rat fœtus 20 j.	Myf5	Myf5 Myogénine
BC3H1	souris, tumeur du cerveau	Myf5	Myf5 Myogénine
MM14	souris jeune adulte	MyoD1	MyoD1 Myogénine
C2 permissif	souris jeune adulte	MyoD1 Myf5	MyoD1 Myf5 Myogénine
C2 inductible	souris jeune adulte	Myf5	MyoD1 Myf5 Myogénine

Les données proviennent des travaux cités dans le texte. La présence du transcrit *Myf 5* dans les myoblastes C2 permissifs et inductibles a été mise en évidence par la technique de l'ADNc PCR. L'absence d'un transcrit dans certains cas peut être liée à la sensibilité de la technique de détection. Il faut en effet noter que dans le cas des cellules L6, L8, BC3H1 et MM14 les résultats ont été obtenus par Northern blot.

(8,5 jours *post-coïtum*) la présence de cellules nerveuses est requise pour le déroulement normal de la myogenèse. Aux stades plus tardifs (10,5 jours *post-coïtum*) non seulement ce n'est plus le cas, mais les cellules nerveuses exercent un effet inhibiteur. Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant les cellules de la moelle épinière comme source de neurones.

Ces données rappellent les observations de Bonner et Adams [12] sur les myoblastes des bourgeons de pattes. Selon eux, les cellules CMRIII n'apparaissent en effet qu'en présence de cellules nerveuses.

En résumé, on peut clairement distinguer deux catégories de myoblastes « précoces » et « tardifs », en se fondant sur plusieurs critères : morphologie des Mt, capacité à synthétiser le récepteur de l'acétylcholine, sensibilité au TPA, expression des isoformes de myosine. Il est toutefois possible qu'existe un grand nombre de sous-classes [16]. Ces hétérogénéités seraient le reflet de l'existence de plusieurs lignages distincts, plutôt qu'elles ne représenteraient des étapes discrètes (stabilisées en culture) de l'ontogenèse d'un lignage unique.

Hétérogénéité myoblastique et expression des gènes régulateurs de la myogenèse

Une autre approche a permis récemment d'établir l'existence d'une hétérogénéité myoblastique sans que l'on soit (déjà) à même de rattacher ceci à des étapes distinctes de l'ontogenèse. Cette approche a largement bénéficié de l'identification de gènes régulateurs de la myogenèse [19-22]. Trois gènes régulateurs ont été isolés qui sont susceptibles d'activer la myogenèse dans les cellules de la lignée embryonnaire de souris, 10T 1/2. Ces gènes *MyoD1* [19], *Myogénine* [21] et *Myf5* [22] codent pour des protéines apparentées possédant un domaine basique, un motif « hélice-boucle-hélice » [23] ainsi qu'une région d'homologie avec l'oncogène *myc*, — et qui sont susceptibles de se lier à l'ADN. La protéine *MyoD1* est une phosphoprotéine localisée dans le noyau des cellules musculaires [24]. En se fondant sur leur activité biologique et de leur structure, il a été proposé, probablement hâtivement, que ces trois gènes remplissent des

rôles équivalents dans la détermination myogénique. Les données présentées dans le *Tableau 1* indiquent qu'au moins un gène régulateur (soit *MyoD1*, soit *Myf5*) est exprimé constitutivement (à un niveau détectable par *Northern blot*) au stade myoblaste, que l'expression de ce gène persiste quand la différenciation terminale se produit et que celle-ci s'accompagne dans tous les cas de l'apparition de la myogénine. Ces résultats pourraient s'interpréter par l'existence de classes distinctes de myoblastes caractérisées par leurs taux d'expression relatifs de *Myf5* [25] ou *MyoD1*. Le modèle des cellules permissives et inductibles de la lignée myogénique C2 que nous avons étudiée [26] plus en détail permet de préciser cette proposition. Nous avons en effet précédemment décrit l'existence d'un variant de la lignée C2 dont la différenciation en myotubes et l'expression des divers traits myogéniques requièrent, outre un bas niveau en sérum, l'addition d'effecteurs exogènes tels que le mélange dexaméthasone et IGF1 (*insulin growth factor 1*). Grâce à l'emploi de la technique de l'ADNc-PCR*, nous avons pu observer que l'expression de *MyoD1* est constitutive dans les myoblastes « permissifs » (myoblastes à haute probabilité de différenciation en présence de sérum) [27], alors qu'aucune trace d'expression n'est détectée dans les myoblastes « inductibles » (myoblastes à faible probabilité de différenciation en présence de sérum). Dans ces derniers, en revanche, l'expression de *MyoD1* accompagne la différenciation terminale. Ces résultats indiquent que *MyoD1* n'est pas nécessaire pour le maintien de l'état déterminé mais que le produit de ce gène pourrait jouer un rôle dans la « décision » de se différencier qu'adopte pendant la myogenèse une cellule déjà déterminée. Cette proposition est renforcée par le fait que la transfection d'ADNc *MyoD1* provoque la conversion des myoblastes inductibles en myoblastes permissifs (Pinset et Montarras, résultats non publiés).

* Recopiage préalable des ARNm en ADNc, puis amplification enzymatique par PCR (voir m/s n° 8, vol. 4, p. 515).

La technique de l'ADNc-PCR a révélé qu'à la différence de *MyoD1*, le transcrite *Myf5* était présent à des niveaux semblables dans les myoblastes permissifs et inductibles. De par son profil d'expression, il apparaît donc que *Myf5* pourrait agir en amont de *MyoD1* et *Myogénine* dans le contrôle de la myogenèse, en participant à la détermination myogénique tandis que *MyoD1* et *Myogénine* seraient impliqués dans l'activation de la différenciation terminale (Montarras, Pinset, Chelly, manuscrit en préparation). Des résultats indépendants, obtenus *in vivo* au cours du développement embryonnaire de la souris, montrent que l'expression de *Myf5* précède celle de *MyoD1* (Ott *et al.*, manuscrit en préparation). Quoi qu'il en soit, nos données suggèrent que les cellules inductibles et permissives représenteraient deux états de la progression des cellules musculaires déterminées dans la voie de la myogenèse. L'existence et la nature des relations ontogéniques entre myoblastes MyoD⁻ et myoblastes MyoD⁺ restent à établir. Des observations obtenues *in vivo* signalent néanmoins que l'expression de *MyoD1* pourrait être postérieure à l'apparition de myocytes dans les somites chez la souris [28].

Enfin, d'autres marqueurs potentiels caractéristiques de l'« état myoblastique » sont également à prendre en considération. En effet, on sait depuis peu que même à l'état répliatif, les myoblastes expriment plusieurs marqueurs (desmine [29], β -énolase [30], antigène de surface 24.1D5 [31], dystrophine [32]) qui les distinguent des cellules non musculaires. L'intérêt de tous ces marqueurs est qu'ils s'appliquent aux myoblastes proprement dits, évitant ainsi d'avoir à dépendre d'une définition *a posteriori*, c'est-à-dire des marqueurs de différenciation de leurs dérivés ontogéniques, les myotubes.

En résumé, toute une série d'arguments plaident en faveur d'une assez grande hétérogénéité de populations myoblastiques, hétérogénéité nettement perçue et déjà bien décrite par les embryologistes ou les biologistes cellulaires, mais que les nouveaux marqueurs de développement issus des recherches en biologie moléculaire devraient permettre de mieux caractériser ■

Summary

Myoblast heterogeneity and myogenic lineage

Embryological studies have revealed that skeletal muscles originate from at least two types of myoblasts; one type remains in the somites to form the trunk musculature, the other type migrates from the dermomyotome into the limb buds to form the limb musculature. In this article we discuss the study of myogenic lineage(s) in the light of the diversity of myoblasts revealed by the use of cell and tissue culture models. Studies have indicated that the requirements for myoblast growth and differentiation change according to the developmental stage and that myotubes derived from « early and late » myoblasts display different phenotypes (muscle protein isoforms). These heterogeneities could either reflect the existence of several distinct lineages or represent discrete developmental stages (stabilized in culture) of the same lineage. Studies of the recently discovered myogenic regulatory factors, MyoD1, Myogenin and Myf5 have indicated that the corresponding genes exhibit distinct patterns of expression, suggesting that Myf5 is involved in determination while MyoD1 and Myogenin participate in the decision to differentiate in already determined muscle cells.

TIRÉS A PART

F. Gros.