

Chapitre 8

Développement du bourgeon de membre

Cours

PLAN DU CHAPITRE

- 1 Les membres chirodiens des tétrapodes
- 2 Le bourgeon de membre : son initiation et contrôles
- 3 Le bourgeon de membre : sa croissance et contrôles
- 4 La mort cellulaire programmée sculpte le zeugopode et l'autopode

ZOOM

- 1 Les facteurs paracrines
- 2 Induction, spécification et détermination
- 3 Les gènes *Hox*, des gènes homéotiques
- 4 Un centre inducteur : la crête apicale ectodermique
- 5 La zone d'activité polarisante : centre inducteur antéro-postérieur
- 6 La mort cellulaire programmée lors du développement embryonnaire

INTRODUCTION

Les vertébrés terrestres, amphibiens, reptiles et mammifères, se déplacent grâce à quatre membres chirodiens. Cette innovation évolutive a accompagné l'émergence des tétrapodes. Le membre est un modèle de choix pour l'étude des mécanismes cellulaires et moléculaires communs contrôlant la morphogenèse. Structure complexe et organisée, le membre permet la pratique d'expériences (ablation, greffe) chez le poulet, et de perte ou de gain de fonction de gènes chez la souris. Ces expériences ont permis l'identification des mécanismes à l'origine de la formation des membres ainsi que des contrôles de l'expression des gènes qui leur sont associés.

- **Quelles sont les caractéristiques du membre chirodien ?**
- **Comment se forme-t-il à partir d'une structure transitoire : le bourgeon de membre ?**
- **Quelles sont les cascades d'expressions géniques et d'inductions qui spécifient progressivement les cellules et les territoires.**

1 Les membres chirodiens des tétrapodes

1.1 Un plan d'organisation commun

Les membres supérieurs (antérieurs) et inférieurs (postérieurs) sont anatomiquement formés de trois articulations délimitant trois segments : le stylopode (haut du bras ou cuisse), le zeugopode (avant-bras ou jambe) et l'autopode (main ou pied, paume ou plante, doigts ou orteils) (figure 8.1).

Voir ouvrage
de 1^{re} année TP 1, § 1

- Le **stylo-pode** : segment proximal, formé d'un seul os long, solidement fixé et articulé sur le corps par la ceinture scapulaire pour le membre supérieur ou pelvienne (bassin) pour le membre inférieur. Il se compose d'un os long et épais : humérus ou fémur.
- Le **zeugopode** : segment moyen, se compose d'os longs et rectilignes : radius et cubitus ou tibia et fibula. Ces os peuvent être soudés (par exemple, chez les équidés ou pour la jambe du hérisson).
- L'**autopode** : segment distal, contient de nombreux éléments osseux courts et minces subdivisés en trois sous-régions anatomiques (figure 8.1b) :
 - le basipode comprend les carpes (poignet chez l'humain, genou chez les équidés) et les tarses (cheville chez l'humain, jarret chez le cheval) ;
 - le métapode contient les métacarpes et métatarses ;
 - l'acropode comprend les phalanges des doigts.

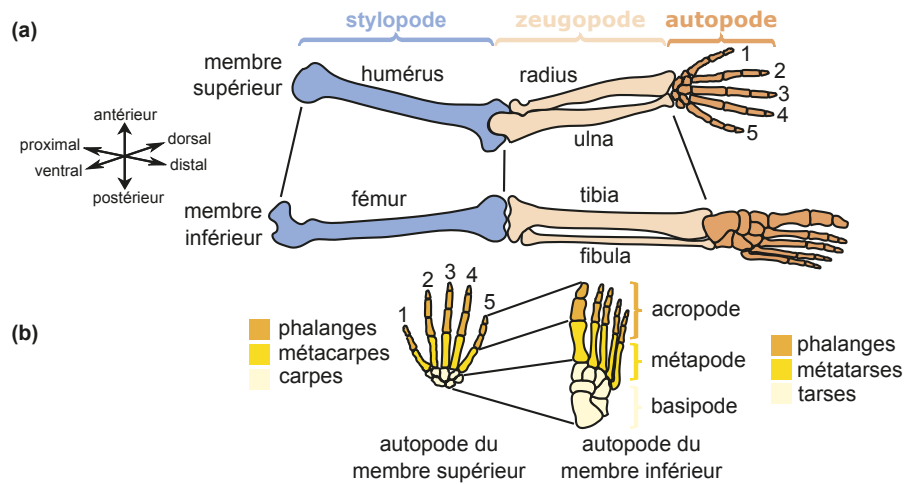


Figure 8.1 Le membre chiridien humain.

(a) Schéma simplifié des trois segments caractéristiques des membres chiridiens d'un tétrapode ; (b) détail de l'organisation des autopodes.

Ce plan d'organisation est hérité d'un ancêtre commun : il correspond à une **homologie**. Les doigts sont numérotés de 1 à 5 pour le membre supérieur (1 : pouce ; 5 : auriculaire).

1.2 Diversité des adaptations fonctionnelles

Chez les tétrapodes, le plan d'organisation général des membres est conservé, mais il y a des modifications dans les proportions des différents os ainsi que des fusions, des réductions ou des disparitions de structures selon les espèces (figure 8.2). Le nombre d'éléments osseux constituant le stylo-pode et le zeugopode est relativement conservé entre les espèces. En revanche, le nombre d'éléments osseux composant l'autopode (doigts) est sujet à variation. Par exemple, le membre supérieur du cheval montre une fusion du radius et de l'ulna et une élongation du métacarpe central. Pour la chauve-souris, les doigts sont très allongés pour supporter l'aile membraneuse. Ces différences sont liées à des modifications du patron d'organisation des membres lors du développement embryonnaire et de la croissance de l'un des trois segments.

Cette homologie organisationnelle des membres est associée à une diversité des **adaptations fonctionnelles** :

- adaptation à la course (cheval) : allongements des segments ;
- adaptation au vol (oiseau, chauve-souris) : plumes fixées sur le membre supérieur (oiseau), peau tendue sur trois doigts allongés (chauve-souris).

ZOOM 1

Les facteurs paracrines

Cette homologie suggère un programme de développement sous-jacent conservé entre espèces. La formation du membre est contrôlée par des mécanismes impliquant des facteurs clés parmi lesquels les gènes de la famille *Hox* et *Tbx*, l'acide rétinoïque (AR) et des signalisations paracrines orchestrées par les protéines FGF, Shh, Wnt et BMP. Le développement du membre passe par la formation d'une structure dynamique et originale : le bourgeon de membre.

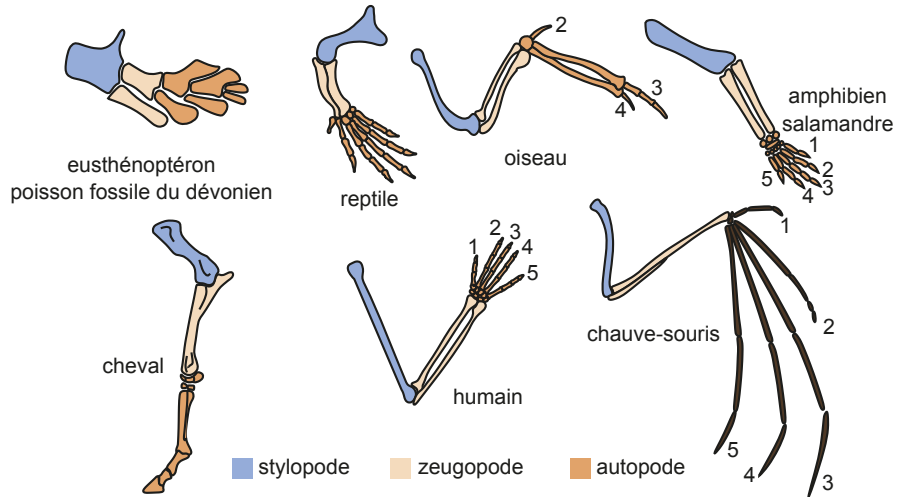


Figure 8.2 Les éléments squelettiques de tétrapodes.

Les membres supérieurs sont figurés. Les échelles entre les espèces ne sont pas respectées.

2

Le bourgeon de membre : son initiation et contrôles

2.1 Le bourgeon de membre : une structure composite

Le développement des membres commence lorsque des cellules du mésoderme s'accumulent sous l'ectoderme créant des renflements circulaires : les bourgeons de membres (figure 8.3). Ils apparaissent séquentiellement **en des endroits précis de l'axe antéro-postérieur**. Chez l'humain, au 26^e jour, les bourgeons des membres supérieurs apparaissent en regard des six derniers métamères cervicaux et des deux premiers métamères thoraciques. Au 28^e jour, les bourgeons des membres inférieurs se forment en regard des quatre derniers métamères lombaires et des trois premiers métamères sacrés.

Chaque bourgeon se compose d'une partie centrale mésenchymateuse (cellules mésenchymateuses indifférenciées) d'origine mésodermique recouverte par l'ectoderme (figure 8.3a). Il se compose également de cellules provenant de différents territoires de l'embryon (figure 8.3b). Les tissus musculo-squelettiques des membres proviennent de deux compartiments mésodermiques distincts :

- les précurseurs des tendons (ténocytes) et des os (chondrocytes) dérivent du mésoderme latéral, la somatopleure ;
- les précurseurs musculaires se délaminent des myotomes adjacents aux bourgeons de membre et migrent pour donner deux masses musculaires (dorsale, ventrale) qui se segmenteront pour former les différents muscles des membres.

Les nerfs moteurs des membres proviennent d'axones issus du tube neural. Quant à la crête neurale, elle forme les axones sensitifs et les cellules pigmentaires (mélanocytes) de la peau des membres (figure 8.3b). Celle-ci provient de l'ectoderme et de cellules issues du dermatome.

Voir chapitre 9, § 2.1

Voir chapitre 7, figure 7.13

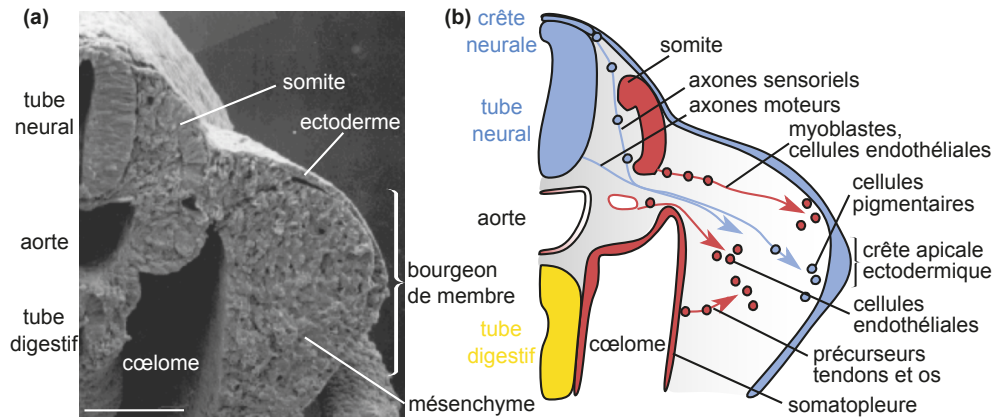


Figure 8.3 Le bourgeon de membre.

(a) Microscopie électronique à balayage après fracture de l'embryon de souris (9 jours, environ 28 jours chez l'humain) dans le plan transversal au niveau du bourgeon de membre supérieur. La corde et la crête neurale ne sont pas visibles. Échelle 500 μm . (D'après https://syllabus.med.unc.edu/courseware/embryo_images/).

(b) Les différents types de cellules qui colonisent le mésenchyme du bourgeon de membre. Celles du derme de la peau des membres ne sont pas figurées.

2.2 Contrôles de l'initiation

ZOOM 1

Les facteurs paracrines

L'initiation de la formation des bourgeons dépend de la production de facteurs paracrines et de l'expression de gènes codant des facteurs de transcription agissant au sommet d'une cascade de régulations géniques, gènes qualifiés de **sélecteurs** ou **maîtres**.

a) Par des facteurs paracrines

Les premières expériences identifiant des facteurs clés nécessaires à l'initiation du bourgeon de membre ont été réalisées chez le poulet. Une source de facteurs de croissance (FGFs) appliquée au niveau du mésoderme latéral, entre les domaines formant les membres supérieurs et inférieurs, permet la formation ectopique d'un membre complet. Les embryons de souris présentant une perte de fonction pour le gène *FGF10* ne forment pas de bourgeon de membre, avec pour conséquence phénotypique l'absence des éléments squelettiques à l'exception d'une omoplate rudimentaire.

Voir TP 6, § 2

b) Par l'acide rétinolique

Chez le poulet, le placement d'une barrière entre les somites et le mésoderme latéral bloque la formation des bourgeons de membre. Les souris avec une délétion du gène codant la rétinaldéhyde déhydrogénase 2 (*Raldh2*), enzyme essentielle pour la synthèse de l'acide rétinolique (AR), ne forment pas de bourgeons de membre. Le traitement d'embryons de poulet avec des inhibiteurs de la *Raldh2* empêche la formation des bourgeons de membre. L'AR, dérivé lipophile de la vitamine A, agit dans le noyau des cellules cibles en se fixant à un récepteur nucléaire activant la transcription de gènes maîtres. Ainsi, il est proposé que l'AR, facteur produit au niveau des somites, soit à l'initiation du bourgeon de membre, en activant des gènes (*Tbx*) dont les produits donnent la compétence au mésoderme latéral à former un bourgeon de membre.

c) Par des facteurs de transcription codés par des gènes maîtres

Les gènes de la famille *Hox* codent des facteurs de transcription agissant au sommet d'une cascade de régulation de gènes (gènes qualifiés de sélecteurs ou maîtres) ; ils contrôlent l'identité de position des structures corporelles. En particulier les gènes du **groupe *HoxC***, ont un

ZOOM 3

Les gènes *Hox* : des gènes homéotiques

rôle dans le positionnement des bourgeons de membre le long de l'axe antéro-postérieur. Leur expression est restreinte à la région du mésoderme latéral où émergent les bourgeons de membre. Les gènes *Hoxc4* et *Hoxc5* sont exprimés dans le mésenchyme du territoire à l'origine du membre supérieur. Les gènes *Hoxc9*, *Hoxc10* et *Hoxc11* sont principalement exprimés dans le mésenchyme donnant le futur membre inférieur. Les gènes *Hoxc6* et *Hoxc8* quant à eux sont exprimés dans le mésoderme latéral entre les territoires des bourgeons de membres supérieurs et inférieurs.

Voir TP 6, § 3

Les gènes de la famille *Tbx* qui codent des facteurs de transcription sont importants pour l'initiation du bourgeon de membre. L'expression du gène *Tbx5* est restreinte au mésoderme latéral et au mésenchyme du membre supérieur. Les embryons de souris ayant une délétion du gène *Tbx5* ne forment pas de bourgeons de membre supérieur. En absence du facteur *Tbx5*, la transcription du gène *FGF10* n'est pas initiée. Celui-ci est donc la cible directe du facteur de transcription *Tbx5*. C'est l'expression d'un autre gène de la famille *Tbx* (*Tbx4*) qui est nécessaire à l'initiation d'un bourgeon de membre inférieur.

Ainsi, au moment de l'initiation du bourgeon de membre, l'AR produit par l'enzyme *Raldh2* au niveau du mésoderme latéral, active directement, en coopération avec les facteurs de transcription *Hox*, l'expression des gènes *Tbx4* (membre inférieur) et *Tbx5* (membre supérieur), pour déclencher l'expression du gène *FGF10* (facteur prolifératif) par les cellules du mésenchyme (figure 8.4). Après cette initiation, le bourgeon de membre entre en phase de croissance.

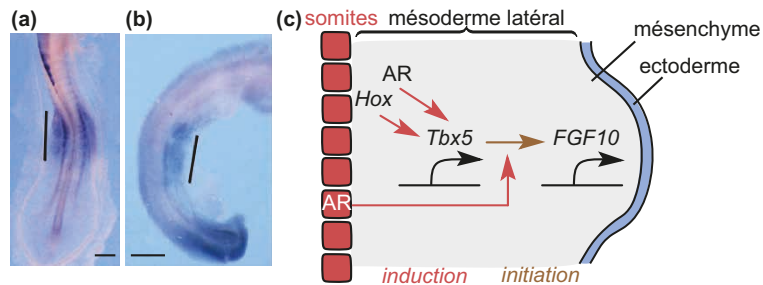


Figure 8.4 Déterminisme moléculaire qui initie la formation du bourgeon de membre supérieur.

(a, b) Hybridation *in toto* avec une sonde nucléotidique *Hoxc5*. **(a)** Embryon de poulet, 20-22 somites (environ 38 heures). Échelle : 0,3 mm. **(b)** Embryon de souris, 11-13 somites (environ 8,5 jours)

Échelle : 0,3 mm. Les traits noirs indiquent les régions des futurs territoires des bourgeons de membre supérieur. Région antérieure vers le haut (Nishimoto *et al.*, 2014. *PLOS Genetics* 10, e1004245).

(c) La formation du bourgeon de membre se réalise en deux étapes : induction, initiation. Elle sera suivie par une phase de croissance (§ 3). Une cascade identique se réalise pour le membre inférieur où le produit d'expression du gène *Tbx4* est au centre. AR : acide rétinolique.

2.3 La formation de la crête apicale ectodermique

L'initiation de la formation du bourgeon de membre se poursuit par l'apparition d'une structure appelée la **crête apicale ectodermique** (*Apical Ectodermal Ridge*, AER) (figures 8.3 et 8.5a). Le *FGF10* exprimé par les cellules du mésenchyme (figure 8.4) est à l'origine d'une signalisation **paracrine** via des récepteurs localisés à la surface des cellules de l'ectoderme. Il en résulte la formation de la crête apicale ectodermique : un épaississement de l'ectoderme au bord distal du bourgeon qui s'étend le long de son axe antéro-postérieur et sépare sa face dorsale de sa face ventrale.

Voir TP 6, § 2

3

Le bourgeon de membre : sa croissance et contrôles

Voir TP 6, § 1

Après la mise en place de l'AER, les bourgeons sont le siège d'une croissance proximo-distale importante, concomitante à leur différenciation au cours de laquelle se mettent en place les axes et les centres inducteurs du bourgeon.

3.1 Le bourgeon : ses axes et ses centres inducteurs

La croissance du bourgeon se réalise selon trois axes (figure 8.5), qui préfigurent les axes des membres de l'adulte :

- l'axe proximo-distal : de la région proximale à distale (de l'omoplate à la main) ;
- l'axe antéro-postérieur : parallèle à l'axe du corps (dans la main humaine, il va du pouce à l'auriculaire, et dans le membre supérieur d'oiseau qui comporte trois doigts facilement identifiables, du doigt 2 au 4) (figure 8.2) ;
- l'axe dorso-ventral : du dos de la main à la paume.

La croissance du bourgeon et sa morphogénèse dépendent de la mise en place et du maintien de trois centres de signalisation (figure 8.5b, c) :

- la crête apicale ectodermique ;
- la zone d'activité polarisante (ZPA) dans le mésenchyme du bord postérieur du bourgeon. Elle ne présente aucune caractéristique morphologique particulière (figure 8.5b et c) ;
- l'ectoderme dorsal du bourgeon, proximal par rapport à l'AER (figure 8.5a et b).

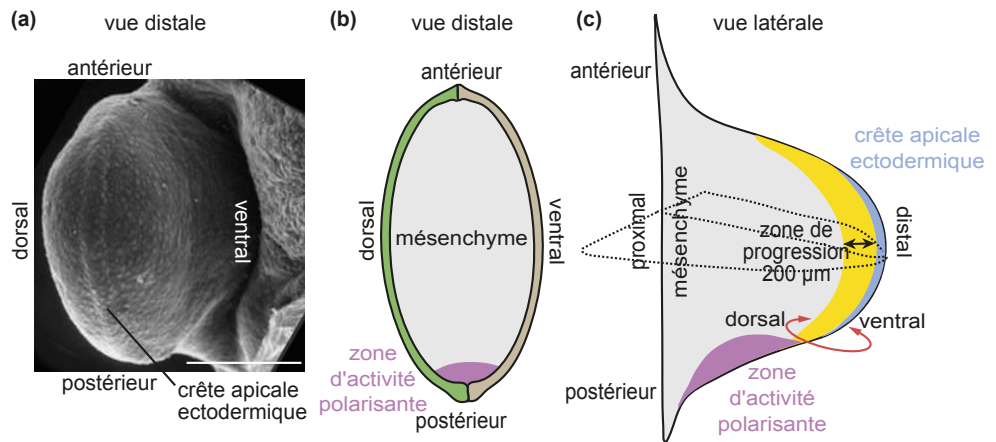


Figure 8.5 Le bourgeon de membre : ses axes et ses centres inducteurs.

(a) Microscopie électronique à balayage, bourgeon de membre de souris à 11 jours de développement (environ 33 jours chez l'humain), vue distale. Échelle 500 µm. (D'après https://syllabus.med.unc.edu/courseware/embryo_images/).

(b, c) Représentation schématisée d'un bourgeon de membre et de ses trois axes, vue distale (b) et latérale droite (c).

3.2 La crête apicale ectodermique : croissance proximo-distale

Après la formation de l'AER, le bourgeon croît de la région proximale vers la région distale du corps. Simultanément, chaque bourgeon prend un aspect aplati, en forme de palette le long de l'axe dorso-ventral, et devient asymétrique le long de l'axe antéro-postérieur. Chez le poulet, l'ablation de l'AER par microchirurgie entraîne un arrêt de la croissance du bourgeon conduisant à la troncature du membre : les parties distales sont manquantes. Le niveau proximo-distal auquel le membre est tronqué dépend du moment où l'AER est enlevée. Plus l'AER est enlevée tôt, plus les régions distales sont perdues.

ZOOM 4

Un centre inducteur :
la crête apicale
ectodermique

Ainsi, l'AER et le mésenchyme sous-jacent sont les protagonistes de la croissance du bourgeon (mitoses) et de la formation de structures différentes selon la distance à l'AER. Ces événements reposent sur la mise en place d'une boucle de signalisation entre l'AER et le mésenchyme, sur l'acquisition d'une valeur de position pour les cellules du mésenchyme, sur des interactions entre le mésenchyme et l'épithélium ectodermique entraînant l'expression coordonnée de facteurs paracrines et de facteurs de transcription.

a) Une boucle de signalisation génère une zone de progression

Il a été montré qu'une fois exprimé, le FGF10, dont le gène est activé dans les cellules du mésenchyme (figure 8.4), active à son tour l'expression du gène *FGF8* dans les cellules de la zone distale qui forment alors l'AER. À son tour, le FGF8 diffuse et agit via ses récepteurs, localisés à la membrane plasmique des cellules du mésenchyme sous-jacent, en régulant positivement l'expression de *FGF10*. Se met ainsi en place une boucle de **rétrocontrôle positive** de signalisation FGF10-FGF8, (figure 8.8a) nécessaire à l'émergence de l'AER et à son maintien. Cette boucle est également nécessaire pour maintenir l'activité mitotique des cellules du mésenchyme sous l'AER, région appelée la **zone de progression** (région en jaune sur la figure 8.5c) qui s'étend dans le mésenchyme sur environ 200 µm à partir de l'AER. Le maintien des capacités de prolifération de ces cellules assure la croissance proximo-distale du bourgeon de membre et permet aux cellules du mésenchyme d'acquérir une valeur de position.

b) Acquisition d'une valeur de position

Si l'on détruit par une irradiation aux rayons X les cellules du mésenchyme proches de l'AER, au début du développement du bourgeon, les structures proximales (stylopoles) sont absentes. Si l'irradiation est réalisée à différents moments de la croissance proximo-distale du bourgeon, on obtient progressivement l'absence du zeugopode puis de l'autopode. Ces résultats suggèrent que la structuration du membre le long de l'axe proximo-distal dépend d'une valeur de position acquise par les cellules du mésenchyme le long de cet axe. Ils conduisent à proposer qu'au fur et à mesure que le bourgeon de membre se développe, et que les cellules issues des mitoses quittent progressivement la zone de progression, celles-ci acquièrent une valeur de position le long de l'axe proximo-distal, en fonction du « temps » qu'elles ont passé dans cette zone (figure 8.6).

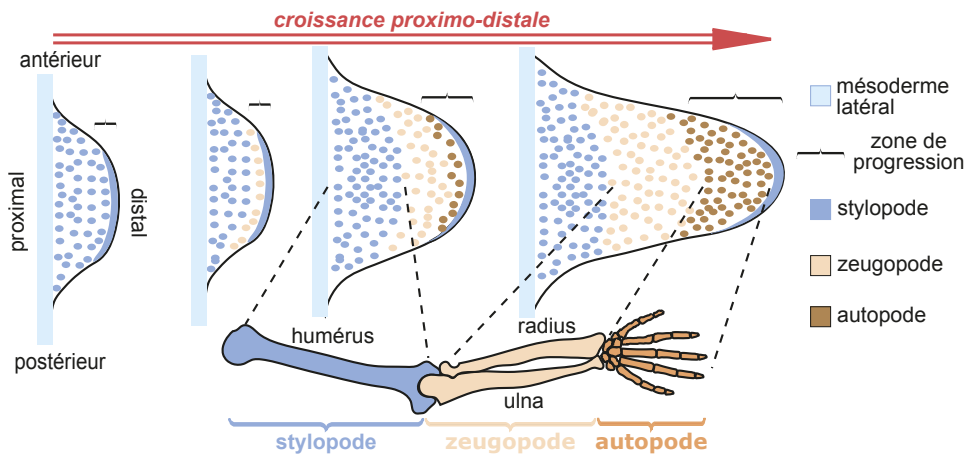


Figure 8.6 L'acquisition par les cellules d'une valeur de position proximo-distale.

Au début du développement, les cellules du mésenchyme ont toutes une identité proximale. Sous le contrôle de la boucle de signalisation FGF10-FGF8, les cellules prolifèrent (mitoses) ce qui les conduit à quitter continuellement la zone de progression. Les cellules qui quittent tôt la zone forment le stylopode, tandis que les cellules qui la quittent en dernier forment l'autopode. La zone à activité polarisante n'est pas figurée.

ZOOM 4

Un centre inducteur :
la crête apicale
ectodermique

Par exemple, pour le membre supérieur, les premières cellules qui quittent la zone de progression forment l'humérus et celles qui partent en dernier participent à la formation de l'extrémité des doigts. Des expériences de greffe de mésenchyme sous l'AER démontrent que c'est le mésenchyme qui spécifie le type de segment (stylo-pode, zeugopode ou autopode) qui sera formé. Cette spécification résulte des interactions entre le mésenchyme et l'ectoderme de l'AER, impliquant notamment les FGF ; elle requiert l'expression de facteurs de transcription codés par la famille des gènes *Hox*.

c) Les produits d'expression des gènes *Hox* confèrent une identité de position au mésenchyme

Voir TP 6, § 5

Après leur implication dans le positionnement des bourgeons selon l'axe antéro-postérieur, les produits des gènes *Hox*, en particulier les gènes du **groupe *HoxA* et *HoxD***, interviennent pour fixer une identité de position aux cellules du mésenchyme. Ils spécifient si une cellule mésenchymateuse doit participer à la formation du stylo-pode, du zeugopode ou de l'auto-pode. Ce rôle a été mis en évidence sur la base des phénotypes obtenus lors de mutations naturelles chez l'humain et la souris, et de mutations knock-out chez la souris. Par exemple, l'inactivation des gènes paralogues *Hoxa11* et *Hoxd11*, chez la souris, entraîne l'absence des zeugopodes des membres. L'élimination des gènes *Hoxa13* et *Hoxd13* entraîne la perte des structures de l'autopode. Chez l'humain, les individus homozygotes pour une mutation du gène *Hoxd13* présentent des anomalies des mains et des pieds où les doigts fusionnent. Des mutations des gènes *Hoxd12* et *Hoxd13* provoquent la transformation des métacarpes en carpes et des métatarses en tarses.

Voir TP 6, § 5
et figure TP6.8d

Ainsi, sur la base des schémas d'expression de ces gènes (mis en évidence par des hybridations *in situ*), des mutations naturelles et des mutations knock-out, un modèle a été proposé selon lequel ces gènes *Hox* spécifient l'identité des segments des membres (figure 8.7b). Leur expression dynamique suit la règle de colinéarité spatiale et temporelle. Les premiers gènes *Hox* à être transcrits sont les gènes *Hoxa9* et *Hoxd9* dans la région proximale des bourgeons (figure 8.7a). Avec la croissance du bourgeon, leur domaine d'expression s'élargit et finit par s'étendre à tout le mésenchyme du bourgeon. Pendant ce temps, les gènes suivants, *Hoxa10* et *Hoxd10*, commencent à être transcrits et ainsi de suite pour les paralogues *Hoxa* et *Hoxd* 11, 12 et 13, de sorte que l'on obtient des domaines d'expression emboîtés les uns dans les autres : un code *Hox* qui confère une identité de position aux cellules du mésenchyme.

ZOOM 3

Les gènes *Hox* : des
gènes homéotiques

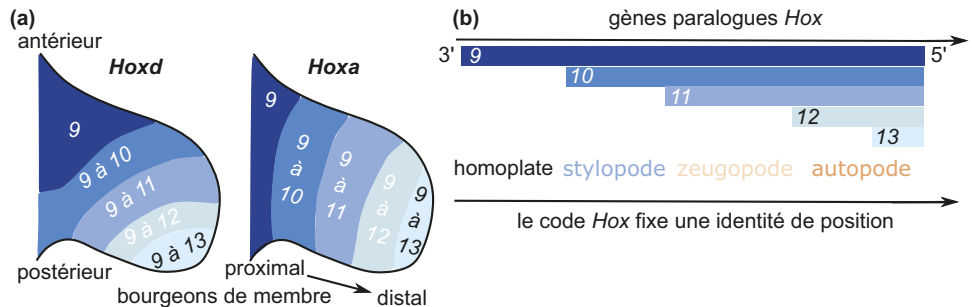


Figure 8.7 L'expression des gènes *Hox*, génère un code emboîté d'expression des facteurs de transcription Hox9 à 13.

(a) Domaines d'expression des gènes *Hoxa* et *Hoxd* ; (b) le code *Hox* confère une identité de position aux cellules du mésenchyme pour spécifier les segments des membres.

3.3 La zone d'activité polarisante fixe une identité antéro-postérieure au mésenchyme

ZOOM 5

La zone d'activité polarisante : centre inducteur antéro-postérieur

L'existence d'une région polarisante (ZPA) conférant une information de position antéro-postérieure aux cellules du mésenchyme du bourgeon de membre a été mise en évidence par des expériences de greffe. Cette région localisée dans le mésenchyme au bord postérieur du bourgeon, ne présente aucune caractéristique morphologique particulière (figure 8.5 b et c). Ce groupe de cellules permet la polarisation du bourgeon de membre en orientant les cellules du mésenchyme vers leur destin cellulaire selon l'axe antéro-postérieur : c'est un **centre inducteur**.

Le maintien de la ZPA dans la région postérieure du bourgeon, au long de sa croissance, est assuré par une signalisation **paracrine** issue de l'AER et liée aux FGF. En effet, la greffe de billes diffusant du FGF4 sur le flanc d'un embryon de poulet, entre les bourgeons des ailes et des pattes, induit la production de FGF8 dans l'ectoderme, puis l'expression ectopique du morphogène Sonic hedgehog (Shh). En retour, la signalisation Shh induit l'expression du FGF4, ce qui maintient l'AER et induit la croissance d'un bourgeon de membre supplémentaire au site d'implantation des billes. Tout au long de la croissance d'un bourgeon de membre, il s'établit ainsi un **rétrocontrôle positif** qui maintient l'expression de Shh dans la partie postérieure du bourgeon qui devient la ZPA (figure 8.8a).

La spécification de l'identité d'un doigt dépend à la fois du temps d'exposition à Shh et de son niveau d'expression. Ainsi a été formulé le modèle du « gradient spatio-temporel » (figure 8.8b).

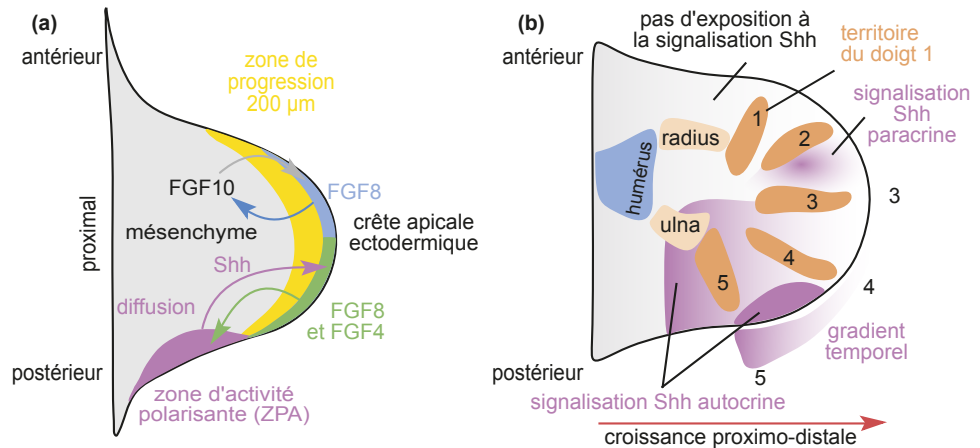


Figure 8.8 Rétrocontrôles et modèle du gradient spatio-temporel qui construisent le zeugopode et l'autopode.

(a) Une boucle de rétrocontrôle FGF4-Shh maintient la ZPA dans la région postérieure du bourgeon et proche de l'AER tout au long de la croissance proximo-distale du bourgeon. Une boucle de rétrocontrôle FGF10-FGF8 permet l'émergence de l'AER et son maintien ainsi que le maintien de l'activité mitotique des cellules du mésenchyme sous l'AER ; la zone de progression.

(b) L'identité antéro-postérieure du bourgeon de membre est fixée par un gradient spatial et temporel de la signalisation Shh. Les cellules proches de la ZPA donnent naissance à l'ulna, au doigt 5 et au doigt 4, et contribuent au doigt 3 via une signalisation paracrine et autocrine. Plus une cellule reste dans la ZPA, plus elle aura une information de polarité postérieure (doigt 5). Les cellules qui donnent naissance au doigt 2 et au doigt 3 sont spécifiées à plus longue distance, par une signalisation paracrine. L'humérus, le radius et le doigt 1 sont spécifiés de manière indépendante de la signalisation Shh.

En conclusion, le gène codant pour la protéine sécrétée Shh est exprimé dans la ZPA, petit groupe de cellules mésenchymateuses à la marge postérieure du bourgeon du membre de vertébré. La protéine Shh a les propriétés d'un morphogène qui spécifie des valeurs de position

Voir chapitre 11, figure 11.1

sur l'axe antéro-postérieur (du pouce à l'auriculaire) des bourgeons. De plus, Shh contrôle la largeur du bourgeon du membre en stimulant la prolifération des cellules mésenchymateuses et en régulant la longueur antéro-postérieure de l'AER, région de signalisation nécessaire à la croissance des bourgeons et à l'acquisition d'une valeur de position le long de l'axe proximo-distal (de l'épaule aux doigts) du membre. La signalisation Shh spécifie des valeurs de position antéro-postérieure dans les bourgeons à la fois de manière **paracrine** dépendante du temps, et par signalisation **autocrine**.

3.4 L'ectoderme fixe une identité dorso-ventrale

L'ectoderme spécifie une structuration dorso-ventrale dans le bourgeon de membre tout au long de sa croissance proximo-distale. Ce rôle a été mis en évidence en recombinaison l'ectoderme prélevé sur un bourgeon de membre gauche de poulet avec le mésenchyme d'un bourgeon droit, de sorte que l'axe dorso-ventral de l'ectoderme soit inversé par rapport au mésenchyme sous-jacent. Dans ces conditions, la région distale, en particulier au niveau de la main, possède un axe dorso-ventral inversé correspondant à celui de l'axe dorso-ventral de l'ectoderme greffé. Des gènes contrôlant cette identité dorso-ventrale ont été identifiés. Le gène *Wnt* est exprimé dans l'ectoderme dorsal (voir le sujet sur document en fin de chapitre). Chez la souris, des mutations qui l'inactivent, donc qui suppriment la signalisation Wnt, produisent des membres dans lesquels les tissus dorsaux adoptent des destins ventraux. On obtient un autopode avec deux régions ventrales disposées en miroir, phénotype « double ventral ». Cela suggère que l'information ventrale est l'état fondamental qui est modifié dorsalement par l'ectoderme dorsal, le produit d'expression du gène *Wnt* jouant un rôle clé dans la structuration du mésenchyme dorsal (voir sujet sur document en fin de chapitre).

ZOOM 1

Les facteurs paracrines

4

La mort cellulaire programmée sculpte le zeugopode et l'autopode

Au fur et à mesure de la croissance du bourgeon de membre, différentes zones de mort cellulaire apparaissent de manière concomitante à la différenciation des éléments squelettiques et musculaires (figure 8.9). Lors de la différenciation des éléments squelettiques du stylopode, des territoires, appelés **zones nécrotiques**, se mettent en place respectivement dans les régions antérieure (ZNA) et postérieure (ZNP) du bourgeon de membre. À ces niveaux, le mésenchyme est éliminé par mort cellulaire programmée (apoptose). Au niveau du zeugopode, l'apoptose dans la zone nécrotique interne (PO) sculpte les territoires de l'ulna-radius et tibia-fibula.

ZOOM 6

La mort cellulaire programmée lors du développement embryonnaire

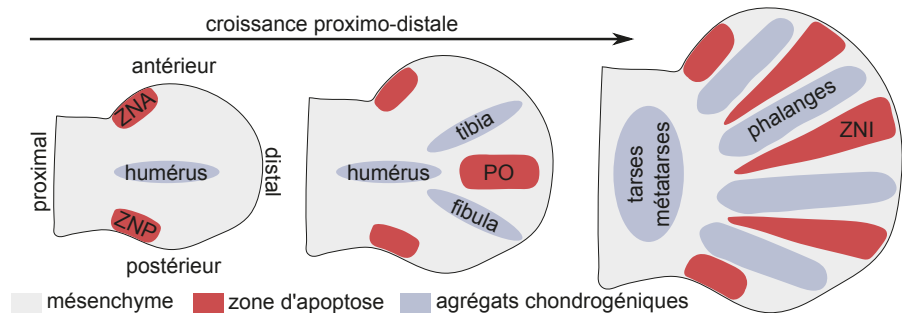


Figure 8.9 L'apoptose sculpte le zeugopode et l'autopode.

Développement proximo-distal du bourgeon de membre inférieur chez le poulet illustrant les zones de mort cellulaire programmée et de différenciation des agrégats chondrogéniques à l'origine des éléments squelettiques et des 4 doigts. (D'après Montero et Hurlé, 2010. *Apoptosis* 15, 365-375).

De la même manière, au sein de l'autopode, au fur et à mesure que les doigts se différencient, le mésenchyme interdigital est éliminé par mort cellulaire dans les zones nécrotiques interdigitales (ZNI). La formation des doigts ne résulte donc pas d'un bourgeonnement à l'extrémité de la palette, mais d'un remodelage par creusement de sillons interdigitaux au sein de la palette, dans les régions où les cellules du mésenchyme ne s'intègrent pas dans les agrégats à l'origine des cartilages, des articulations et des os. L'apoptose est également associée au modelage des masses musculaires dorsale et ventrale des membres.

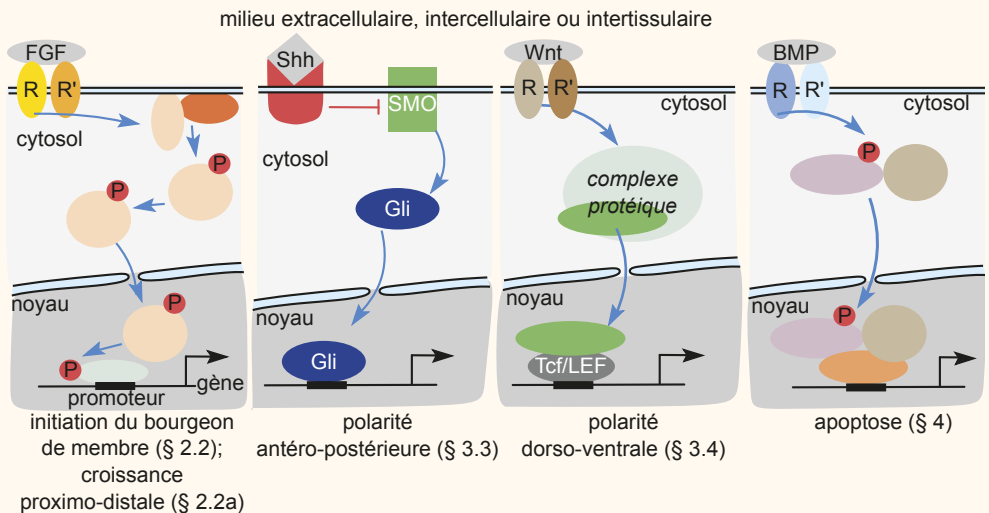
ZOOM 1

Les facteurs paracrines

Les signalisations requises pour induire l'apoptose sont mal connues. Des expériences réalisées chez le poulet suggèrent que la signalisation BMP est impliquée. Si la fonction du récepteur de la protéine BMP est bloquée dans le bourgeon de patte en développement, le sculptage des doigts ne se déroule pas conduisant à des pattes palmées car l'apoptose ne se produit pas.

ZOOM 1**Les facteurs paracrines**

Les différentes voies de communication, de signalisation, fonctionnent tout au long du développement de l'individu. Elles contribuent à la morphogénèse de l'embryon.



Représentation schématique de quatre voies de signalisation nécessaires aux contrôles du développement de l'embryon de vertébré.

Chaque voie repose sur la présence d'un facteur paracrine (morphogène) qui se lie à son ou ses récepteurs (R, R'). S'ensuit l'activation d'un ou de plusieurs messagers secondaires cytosoliques, puis une phosphorylation (P), ou la libération à partir d'un complexe multiprotéique. Ces messagers sont transportés au noyau via les pores nucléaires. Là, ils interagissent avec les promoteurs de leurs gènes cibles en activant (ou réprimant) la transcription, directement ou en association avec d'autres facteurs nucléaires. BMP : (*bone morphogenetic protéine*), facteur de croissance transformant de la famille des TGF β ; FGF : facteur de croissance fibroblastique ; Gli : protéine à doigt de zinc ; Shh : Sonic hedgehog ; SMO : récepteur Smoothened ; Tcf/LEF : facteurs de transcription ; Wnt : famille de glycoprotéines sécrétées comprenant 19 membres.

Les molécules extracellulaires de signalisation sont des **facteurs paracrines ou autocrines** souvent appelées morphogènes. Un **morphogène** est une molécule qui spécifie différents types cellulaires, ou différentes régions d'un tissu ou d'un organisme selon sa concentration.

Un morphogène génère donc une signalisation qui peut donner aux cellules

- une information de position, ce qui contribue à générer les différents axes de l'embryon ;
- une information de polarité ;
- une information de différenciation ;
- une information conduisant à un changement de forme, de motilité des cellules etc.

Les facteurs paracrines majeurs et les voies de signalisations qu'ils génèrent sont figurés dans la figure ci-dessus. Ces voies de signalisations associent la fixation d'un facteur paracrine (morphogène) sur un récepteur ou un dimère de récepteurs membranaires à un effet sur l'expression de gènes cibles (activation ou répression de leur transcription) via des messagers cytosoliques et nucléaires.

Voir chapitre 11,
figure 11.1

ZOOM 2

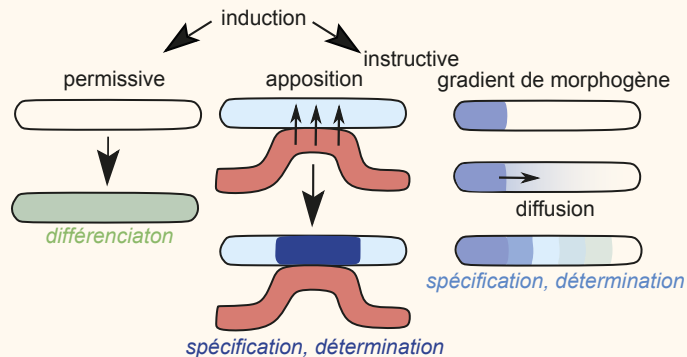
Induction, spécification et détermination

L'induction est un terme classiquement utilisé pour décrire l'influence d'un tissu sur le devenir d'un autre. Les inductions sont à l'origine de la spécification et/ou de la détermination des cellules et/ou des territoires de l'embryon.

Un territoire est dit **spécifié** si, explanté et cultivé *in vitro*, il devient ce qu'il serait devenu en restant sur l'embryon : il conserve son devenir présomptif. Par contre, greffé ailleurs (hétérotopiquement) sur l'embryon, son devenir change et devient celui de sa nouvelle localisation. Un territoire est dit **déterminé** s'il est spécifié et si, greffé sur un autre embryon (ou ailleurs sur le même), il conserve son devenir présomptif. Ainsi, un territoire déterminé est spécifié, mais un territoire spécifié n'est pas pour autant déterminé.

L'**induction** c'est la propriété qu'a un groupe de cellules ou un tissu de générer, **sans y participer**, une nouvelle structure, dans un groupe de cellules ou un tissu situé à proximité. L'induction repose sur la production d'un ou plusieurs facteurs paracrines par le tissu inducteur et sur la **compétence** du tissu cible, c'est-à-dire sa capacité à exprimer un récepteur spécifique d'un facteur inducteur. Il en résulte une information qui engage le devenir du tissu compétent.

Deux types d'inductions opèrent au sein de l'embryon : induction permissive et instructive (figure ci-dessous).



Les types d'induction qui contrôlent toutes les étapes du développement embryonnaire.

Le facteur inducteur permissif ne modifie pas l'engagement tissulaire mais permet au tissu de s'engager dans la voie où il doit s'engager.

L'induction permissive crée une condition qui permet à un tissu de se différencier comme le serait son devenir normal. Dans ce cas, le tissu est déjà programmé et a simplement besoin des bonnes conditions pour exprimer son phénotype. L'induction instructive engage un tissu compétent dans une voie de différenciation particulière parmi plusieurs possibilités. L'induction instructive par apposition nécessite un contact intercellulaire (intertissulaire) soit via une matrice extracellulaire ou une lame basale présente entre les cellules (tissus), soit par l'intermédiaire de molécules présentes aux régions d'apposition des membranes plasmiques, soit encore par des molécules diffusées entre les cellules ou les tissus. Par exemple, ce dernier cas permet l'induction de la plaque neurale lors de la neurulation. Dans l'induction instructive par gradient de morphogène, celui-ci diffuse dans le tissu en présence d'un signal inducteur. Un gradient de concentration de la molécule inductrice se met en place, puis en fonction de la concentration du morphogène il y a un engagement différentiel des cellules compétentes dans telle ou telle voie de différenciation. C'est par exemple le cas du morphogène Shh qui confère une identité antéro-postérieure aux cellules du mésenchyme dans le bourgeon de membre (voir § 3.3).

ZOOM 3

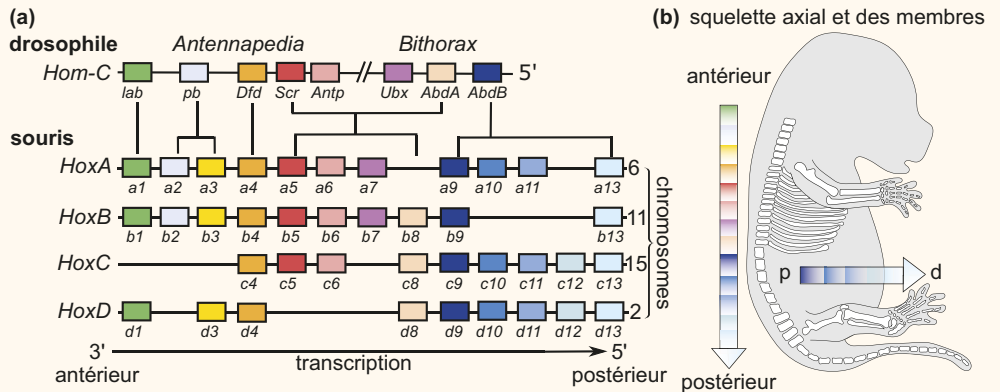
Les gènes *Hox*, des gènes homéotiques

Ils ont d'abord été identifiés chez la drosophile en fonction des phénotypes particuliers provoqués par leurs mutations qui induisent des homéoses, c'est-à-dire des changements d'identité des segments le long de l'axe antéro-postérieur. Par exemple, la mutation dominante du gène *Antennapedia* entraîne la formation de pattes à la place des antennes sur la tête de la drosophile. Ces gènes présentent une séquence particulière de 180 nucléotides appelée l'**homéoboite**. Cette séquence code un domaine protéique de liaison à l'ADN appelé l'**homéodomaine**. Il est constitué de 60 acides aminés, conférant aux homéoprotéines la capacité de se lier à des séquences d'ADN spécifiques localisées dans la région promotrice de gènes cibles. Les homéoprotéines sont donc des **facteurs de transcription**. Chez toutes les espèces animales testées, des gènes apparentés sont présents. La similitude des séquences des homéodomains est parfois proche de 100 %, ce qui est remarquable pour des espèces animales aussi éloignées, d'un point de vue évolutif, que la drosophile et les vertébrés. Chez la drosophile, on connaît deux complexes sur le chromosome 3 : le complexe *Antennapedia* (*ANT-C*) et le complexe *Bithorax* (*BX-C*) (figure a ci-dessous). Chez les mammifères, l'organisation génomique est un peu différente puisqu'une duplication a conduit à quatre complexes homologues de gènes *Hox* : *HoxA*, *HoxB*, *HoxC* et *HoxD* portés respectivement par les chromosomes 6, 11, 15 et 2 chez la souris et les chromosomes 7, 17, 12 et 2 chez l'humain. Ils contiennent au total 39 gènes (figure a ci-dessous). Les gènes *Hox* sont organisés en gènes paralogues, c'est-à-dire des gènes issus d'un événement de duplication à la suite d'un événement de spéciation (paralogues intra-espèces) ou issus d'un événement de duplication avant un événement de spéciation (paralogues inter-espèces). Par exemple, les gènes *Hoxa9*, *b9*, *c9* et *d9* sont des gènes paralogues (figure a ci-dessous). La propriété remarquable de ces complexes est le fait que l'ordre des gènes sur le chromosome reflète celui de leur domaine d'expression le long de l'axe antéro-postérieur de l'embryon. Ainsi, le gène qui s'exprime en premier contrôle la mise en place de la partie la plus antérieure de l'embryon et il occupe la position la plus proche de l'extrémité 3' sur le chromosome. Le gène suivant sur le chromosome s'exprime après, il contrôle la mise en place d'une région postérieure à la précédente et ainsi de suite. Il y a **colinéarité** entre la disposition des gènes *Hox* sur le chromosome avec l'ordre de leurs domaines d'expression dans l'embryon.

Voir chapitre 3, § 1.3

Ils définissent ainsi une **combinatoire** de larges domaines d'expression que l'on trouve dans l'ectoderme et le mésoderme. Ces domaines se chevauchent de la région antérieure à la région postérieure tout au long de l'embryon en reflétant l'ordre 3'-5' de leur localisation sur le chromosome. Il en est de même pour l'axe proximo-distal des bourgeons de membre. Ils définissent ainsi un **code Hox** conférant une valeur positionnelle aux cellules qui l'expriment (voir § 3.2c et figure 8.7).

Les gènes *Hox* codent des facteurs de transcription agissant au sommet d'une cascade de régulation de gènes. Ces gènes homéotiques sont aussi qualifiés de sélecteurs ou maîtres. Leur rôle est de contrôler l'identité des structures corporelles en fonction de leur position le long de l'axe antéro-postérieur (crânio-caudal) et proximo-distal. Ils spécifient le modelage des squelettes axial et appendiculaire (figure b ci-dessous).



Les mêmes gènes homéotiques contrôlent le développement embryonnaire chez la drosophile et les vertébrés.

Les gènes qui dérivent d'un même gène ancestral sont représentés par la même couleur. (a) Les gènes *Hom-C* de la drosophile sont représentés le long de leurs deux complexes *Antennapedia* et *Bithorax*. Chez les mammifères, une duplication a conduit à quatre complexes *Hox* de 39 gènes. Les gènes *Hox* de souris sont représentés selon leur ordre relatif dans les complexes. Chaque gène est placé en fonction de son groupe paralogue avec l'orthologue (dérivant d'un même gène ancestral) correspondant chez la drosophile. La relation de colinéarité entre l'organisation structurale des complexes et leur expression temporelle et antéro-postérieure est indiquée au bas de la figure par la flèche qui indique également la direction de la transcription des gènes *Hox*. (b) Représentation simplifiée des domaines d'expression des gènes *Hox* chez l'embryon de souris de 12 jours selon les axes antéro-postérieur du corps et proximo-distal des membres. p : proximal ; d : distal.

ZOOM 4

Un centre inducteur : la crête apicale ectodermique

La croissance proximale-distale et la différenciation du bourgeon de membre sont rendues possibles par une série d'interactions, de communications intercellulaires entre le mésenchyme et l'ectoderme de l'AER. Ces interactions ont été démontrées à la suite de plusieurs expériences réalisées sur des embryons de poulet et résumées dans la figure ci-dessous.

Si une AER est retirée à tout moment au cours de la croissance du bourgeon, alors le développement ultérieur des éléments squelettiques distaux cesse (figure a ci-dessous).

Si une AER supplémentaire est greffée sur un bourgeon de membre receveur, alors des structures surnuméraires se forment, généralement vers l'extrémité distale du membre (figure b ci-dessous).

Si du mésenchyme du bourgeon de membre inférieur est placé directement sous l'AER du bourgeon supérieur (aile), alors les structures distales des membres inférieur (patte) se développent à l'extrémité du membre (figure c ci-dessous).

Si du mésenchyme du bourgeon de membre supérieur ou inférieur est remplacé par du mésenchyme autre que celui des bourgeons, alors l'AER régresse, le développement du bourgeon cesse conduisant à l'absence de membre (figure d ci-dessous).

Ces expériences suggèrent que :

- les structures proximo-distales sont spécifiées progressivement au cours du temps : spécification précoce des structures proximales, tardives des structures distales ;
- l'AER est nécessaire à la croissance du bourgeon de membre : maintien du mésenchyme dans une phase de prolifération qui permet la croissance linéaire (proximale-distale) du bourgeon de membre ;
- le mésenchyme induit et entretient l'AER et détermine le type de structures à former.

Ainsi, l'AER est responsable de la croissance et du développement soutenus du membre. Ces interactions requièrent l'expression de facteurs paracrines et de facteurs de transcription contrôlant l'initiation du bourgeon de membre et sa croissance proximo-distale.

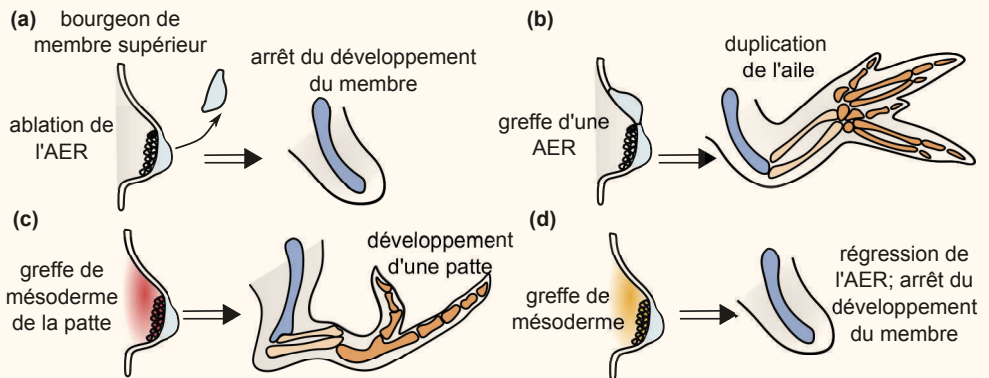


Schéma résumant les expériences réalisées sur le bourgeon de membre supérieur de poulet démontrant le rôle de l'AER et l'existence d'interactions entre l'AER et le mésenchyme.

(Modifié d'après Wessells, 1977. *Tissue Interaction and Development*. Benjamin Cummings, Menlo Park, CA).

ZOOM 5

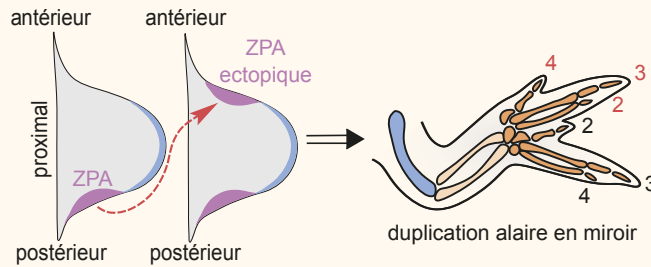
La zone d'activité polarisante : centre inducteur antéro-postérieur

L'existence d'une région polarisante conférant une information de position antéro-postérieure aux cellules du mésenchyme du bourgeon de membre provient des résultats de l'expérience princeps présentée dans la figure ci-dessous.

Lorsque la région d'activité polarisante d'un bourgeon alaire de poulet est greffée sur le bord antérieur d'un autre bourgeon alaire, une aile avec trois doigts supplémentaires disposés en miroir se développe. Le patron des muscles et des tendons du membre montre également, une organisation en miroir. Des expériences permettant de suivre l'évolution du greffon montrent que les doigts supplémentaires proviennent du bourgeon de membre hôte et non du greffon. La région polarisante greffée a donc modifié le destin de développement des cellules hôtes dans la région antérieure du bourgeon de membre sans participer aux structures produites, c'est la définition même d'une induction. L'inducteur a été identifié, il s'agit de la protéine Sonic hedgehog (Shh).

ZOOM 1

Les facteurs paracrines



La ZPA confère une identité antéro-postérieure.

La ZPA est prélevée sur un bourgeon d'aile et greffée sur le bord antérieur d'un autre bourgeon alaire au-dessus de l'AER. Le greffon détermine la formation de 3 doigts supplémentaires disposés en miroir (4, 3, 2, 2, 3, 4). Une polarité inverse est générée. (D'après Honig and Summerbell 1985. *J. Embryol. Exp. Morph.* 87, 163-174).

Voir TP 6, § 4

ZOOM 1

Les facteurs paracrines

Des fibroblastes de poulet transfectés avec un rétrovirus permettant de faire exprimer *Shh*, acquièrent les propriétés d'une région polarisante ; ils provoquent le développement d'un membre en miroir lorsqu'ils sont greffés sur le bord antérieur d'un bourgeon de membre, tout comme des billes imbibées de protéine *Shh*. Les souris, chez lesquelles le gène *Shh* est inactivé, développent des structures proximales (stylopodés) mais les développements des zeugopodes et des autopodes sont sévèrement affectés avec, par exemple pour le membre supérieur, la perte de l'ulna et des doigts 2 à 5. Cela suggère que la voie de signalisation *Shh* n'est pas requise pour l'initiation du développement des membres.

Chez l'humain, le syndrome de céphalopolysyndactylie de Greig, autosomique dominant, est une anomalie congénitale rare du développement embryonnaire qui se manifeste par une duplication des doigts, une polydactylie. La cause du syndrome est la perte de fonction sur le chromosome 7 du gène qui code le facteur de transcription *Gli*, messager secondaire de la voie de signalisation *Shh*.

ZOOM 6

La mort cellulaire programmée lors du développement embryonnaire

La mort cellulaire programmée ou **apoptose** intervient tout au long du développement des vertébrés et chez l'adulte. Initialement identifiée en 1972 chez des organismes modèles tels que le ver à soie et le têtard, l'apoptose repose sur des mécanismes conservés au cours de l'évolution.

C'est un processus actif nécessitant des signaux d'activation, une transduction de signal, l'expression de gènes et une synthèse protéique.

L'apoptose passe par plusieurs étapes clés. De nombreux moyens de déclenchement sont possibles faisant intervenir des **molécules de la famille TNF** (*Tumor necrosis factor*). Puis il y a un stade de contrôle avec l'intervention de systèmes de régulation de gènes. Enfin, il y a un stade d'exécution mettant en jeu l'activité de protéases, les **caspases**, capables de protéolyse ménagée aboutissant notamment à l'activation d'endonucléases.

Lorsqu'une cellule entre en apoptose, les premiers événements morphologiques observables sont la ségrégation de la chromatine à la périphérie de l'enveloppe nucléaire, la condensation du cytoplasme et la formation d'invaginations des membranes plasmique et nucléaires, donnant un aspect de bourgeon à la surface membranaire périphérique. L'évolution des invaginations membranaires aboutit à la fragmentation de la cellule en corps apoptotiques, vésicules membranaires contenant le cytoplasme et les organites dégradés.

Voir chapitre 8, § 4

In vivo, les corps apoptotiques sont rapidement phagocytés principalement par les macrophages ou les cellules voisines. Ce processus de phagocytose rapide empêche la libération du cytoplasme de la cellule apoptotique dans le milieu environnant et évite ainsi toute réaction inflammatoire.

À chaque étape du développement, l'apoptose sculpte les embryons, les tissus ou les organes : le creusement du cœur ; la réalisation du phénotype sexuel par disparition des cellules du canal de Wolff chez la femme, ou des cellules du canal de Müller chez l'homme ; la morphogenèse des doigts chez les vertébrés terrestres ; la mise en place du système nerveux car les neurones qui n'ont pas effectué de connexion avec leur cible (environ 50 % des neurones formés dans l'embryon) sont éliminés ; la sélection du répertoire immunitaire par élimination des lymphocytes autoréactifs ou dysfonctionnels ; la métamorphose ; la régression de l'appendice caudal chez l'humain.

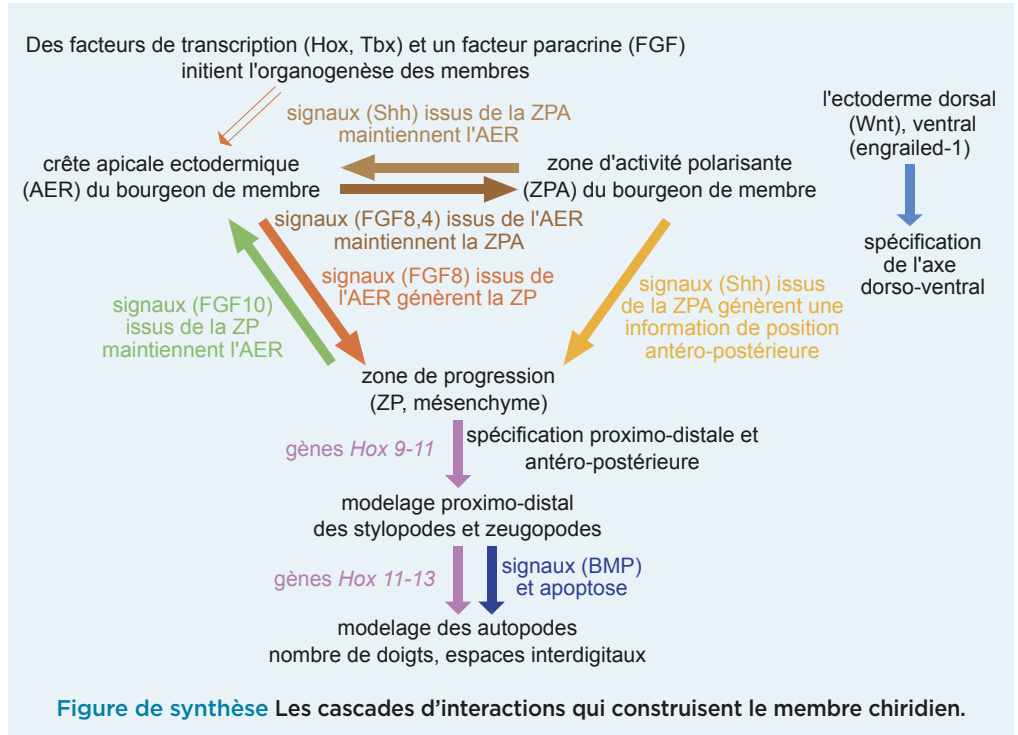
Contrairement à l'apoptose, la **nécrose**, considérée comme une mort cellulaire non coordonnée, est caractérisée par une modification de la perméabilité membranaire entraînant une dilatation du cytoplasme et des organites. La cellule se gorge d'eau, la chromatine nucléaire floccule et la synthèse protéique diminue. La rupture des membranes conduit à la libération dans le milieu environnant du contenu cytoplasmique, déclenchant une réaction inflammatoire.

Des défauts de contrôle des processus apoptotiques peuvent aboutir à des **pathologies**. Un déclenchement anormal de l'apoptose est observé lors de maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson et au cours de la pathogenèse du SIDA. Au contraire, une inhibition du processus peut conduire à l'apparition de maladies auto-immunes et est impliquée dans l'apparition de cancers. La compréhension des mécanismes qui contrôlent l'apoptose est donc d'une importance capitale tant pour la recherche fondamentale que dans la perspective d'applications médicales.

Réviser

Résumé

Le positionnement et le modelage des membres des vertébrés tétrapodes sont générés par des interactions cellulaires et tissulaires qui confèrent une information de position aux cellules. La position du bourgeon de membre le long de l'axe antéro-postérieur du corps est contrôlée par l'expression des gènes *Hox* et *Tbx* qui codent des facteurs de transcription et la diffusion de l'acide rétinoïque. Ensuite, trois centres inducteurs se mettent en place dans le bourgeon de membre. L'un correspond à la crête ectodermique apicale qui spécifie une zone de prolifération des cellules dans le mésenchyme sous-jacent où les cellules acquièrent progressivement leur identité de position. Cette identité est fournie par les signalisations FGF qui sont essentielles pour la croissance proximo-distale du bourgeon. Le second, situé dans la région postérieure et distale du bourgeon de membre, est un territoire à activité polarisante. Il spécifie les cellules le long de l'axe antéro-postérieur du bourgeon via la signalisation autocrine et paracrine médiée par la protéine Sonic hedgehog (morphogène). Le gradient spatio-temporel de protéine Shh génère une signalisation qui permet le modelage du zeugopode et de l'autopode ainsi que la régulation du nombre de doigts. Chez les oiseaux et les mammifères, les espaces interdigitaux sont sculptés par apoptose. L'ectoderme est le troisième centre inducteur qui, via une signalisation Wnt, confère une information dorso-ventrale aux cellules mésenchymateuses du bourgeon.



S'entraîner

QCM de connaissances

- 1 À propos des facteurs paracrines...
 - a. Ce sont des morphogènes.
 - b. Ils interagissent directement avec les promoteurs des gènes cibles.
 - c. Ils activent une voie de signalisation.
 - d. Ils peuvent conduire à donner une information de position aux cellules.
 - e. Ils sont codés par les gènes *Hox*.
- 2 À propos du membre chiridien...
 - a. Le nombre d'éléments osseux composant l'autopode est invariant entre les tétrapodes.
 - b. Le basipode comprend les carpes et les tarses.
 - c. Les nerfs moteurs du membre chiridien proviennent d'axones issus de la crête neurale.
 - d. L'acropode correspond aux métacarpes et métatarses.
 - e. Le patron d'organisation des membres lors du développement est commun à tous les tétrapodes.
- 3 À propos des gènes *Hox*...
 - a. Ils codent des facteurs paracrines.
 - b. Ils codent des morphogènes diffusibles.
 - c. Ils sont organisés en gènes paralogues.
 - d. Leurs produits d'expression agissent au sommet d'une cascade de régulation de gènes.

- e. Leurs domaines d'expression se chevauchent de la région antérieure à la région postérieure tout au long de l'embryon.
- 4 À propos de la région d'activité polarisante...
 - a. Elle se situe dans le mésenchyme antérieur du bourgeon de membre.
 - b. Elle sécrète un morphogène conférant une information de position proximo-distale.
 - c. Elle permet le maintien de la crête apicale ectodermique.
 - d. Greffée dans la région antérieure d'un bourgeon de membre, elle provoque l'arrêt de la croissance proximo-distale du bourgeon.
 - e. C'est un centre organisateur de l'autopode.
- 5 À propos de la zone de progression du bourgeon de membre...
 - a. Elle se situe dans le mésenchyme proximal du bourgeon de membre.
 - b. Elle sécrète un morphogène conférant une information de position proximo-distale.
 - c. Elle permet le maintien de l'activité proliférative des cellules du mésenchyme.
 - d. Les cellules qui quittent tôt cette zone forment le stylo-pode.
 - e. Elle permet l'acquisition d'une valeur de position en fonction du temps que les cellules passent dans cette zone.
- 6 À propos de la crête apicale ectodermique du bourgeon de membre...
 - a. Elle est induite par la signalisation FGF10 issue du mésenchyme du bourgeon.
 - b. Elle sécrète le FGF8 dont la voie de signalisation active l'expression du gène *FGF10* dans les cellules du mésenchyme distal.
 - c. C'est une structure ectodermique au bord distal du bourgeon qui sépare sa face dorsale de sa face ventrale.
 - d. Son ablation conduit à la troncation du membre.
 - e. Chez le poulet, sa greffe sur un bourgeon alaïre receveur provoque la formation d'une patte surnuméraire.
- 7 À propos de la protéine Sonic hedgehog...
 - a. Elle a les propriétés d'un morphogène qui spécifie des valeurs de position sur l'axe antéro-postérieur du bourgeon de membre.
 - b. Elle est à l'origine d'une voie de signalisation autocrine et paracrine.
 - c. Sa voie de signalisation contrôle la largeur du bourgeon du membre.
 - d. Chez la souris, l'inactivation du gène qui la code provoque la perte des doigts 2 à 5.
 - e. Sa voie de signalisation contribue au maintien de la région postérieure de la crête apicale ectodermique.

Question de synthèse courte

Les centres organisateurs des bourgeons de membre chiridien.

Sujet sur documents (analyse et mise en relation)

On s'intéresse à l'acquisition de la polarité dorso-ventrale du bourgeon de membre. Des expériences d'expressions ectopiques et d'inactivations de gènes ont été réalisées. Elles sont présentées ci-dessous ainsi que les résultats obtenus.

- Les résultats d'hybridations *in situ* avec des sondes nucléotidiques *Wnt* et *Engrailed-1* (*En1*) (codant un facteur de transcription) sont présentés respectivement dans la [figure 8.10 a, b](#).
- L'expression ectopique du gène *Wnt* dans l'ectoderme est suffisante pour induire et maintenir l'expression du gène *Lmx-1* (qui code un facteur de transcription) au niveau du mésenchyme sous l'ectoderme.

- L'expression ectopique du gène *Lmx-1* dans le mésenchyme ventral entraîne l'adoption par les cellules d'un destin dorsal, conduisant à un autopode à deux régions dorsales en image miroir, phénotype « double dorsal ».
- L'inactivation du gène *Lmx-1* conduit aux phénotypes présentés dans la [figure 8.10c](#).
- Les modèles murins, où le gène *En1* est invalidé, présentent une expression des gènes *Wnt* et *Lmx-1* qui s'étend dans tout le mésenchyme ventral, entraînant un phénotype « double-dorsal ».
- L'inactivation de la voie de signalisation BMP dans l'ectoderme ventral aboutit à un phénotype « double-dorsal ».

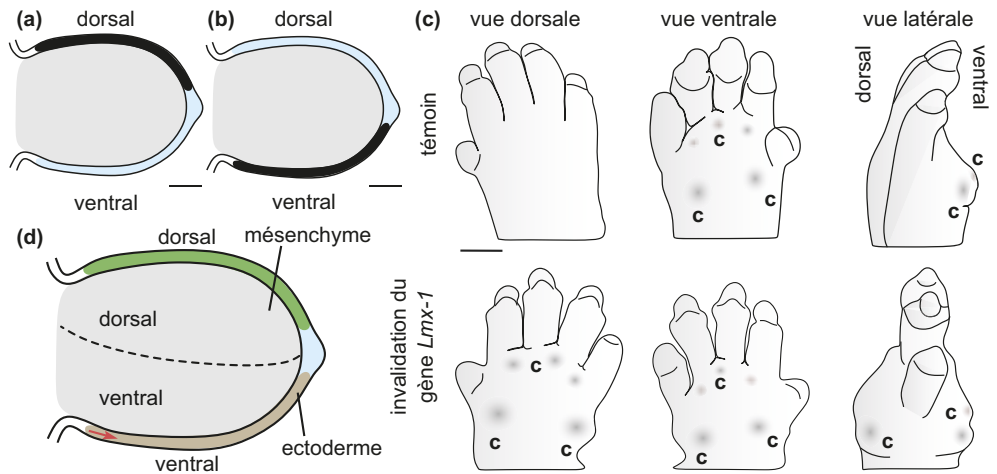


Figure 8.10 Analyse de la polarité dorso-ventrale du bourgeon de membre.

(a-b) Schémas de coupes transversales de bourgeon de membre de poulet. Hybridation *in situ* avec des sondes nucléotidiques *Wnt* (a) et *engrailed-1* (b). Échelles : 50 µm. Les hybridations sont figurées en noir.

(c) Souris, 16,5 jours. Représentation schématique d'une main sauvage (en haut), et d'une main après l'inactivation du gène *Lmx-1* (en bas). Échelle : 0,5 mm. c : coussinet. (D'après Chen *et al.*, 1998. *Nat Genet* 19, 51-5).

- 1 Interprétez les différents résultats de ces expériences.
- 2 À partir de votre interprétation des résultats et en vous aidant du schéma présenté dans la [figure 8.10d](#), construisez un schéma proposant un modèle pour le déterminisme moléculaire qui contrôle la polarisation dorso-ventrale du bourgeon de membre chridien.