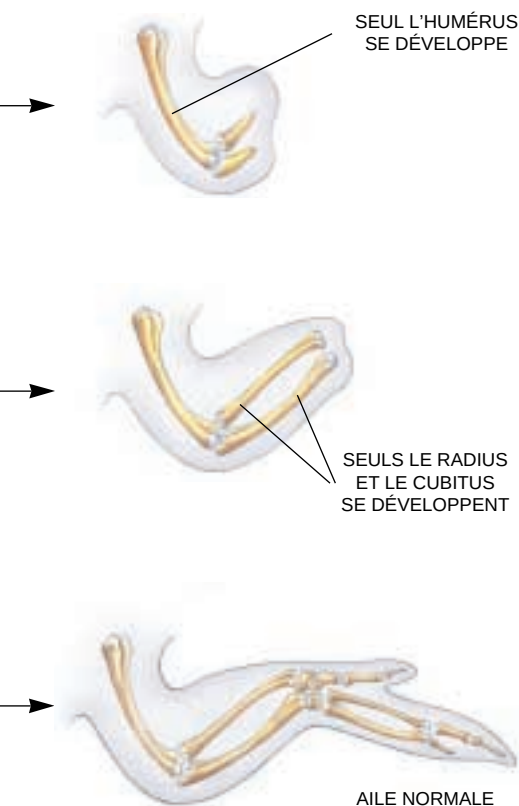
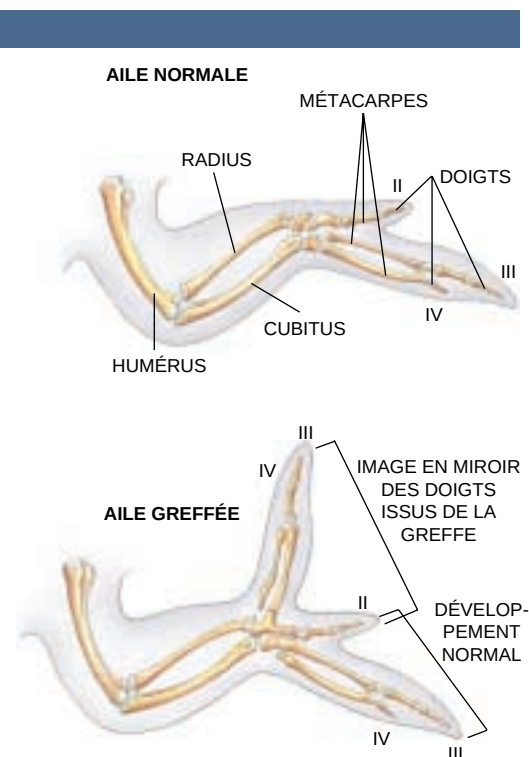




Aux tout premiers stades du développement, les cellules d'un bourgeon de membre ne sont pas «programmées» pour devenir telle partie du pouce ou de l'auriculaire (c'est-à-dire qu'un groupe de cellules, transplantées, n'engendre pas spécifiquement tel ou tel doigt), mais elles portent la clé des mécanismes qui aboutiront à l'un ou à l'autre. Les expérimentateurs les utilisent pour comprendre les règles qui régissent le développement des membres.

Dans chaque bourgeon, il existe des meneurs et des suiveurs. Ainsi, les embryologistes ont déterminé que chaque axe d'un membre en cours de développement – l'axe antéro-postérieur, l'axe proximal-distal et l'axe dorso-ventral – est commandé par des types cellulaires distincts, présents dans des zones distinctes des bourgeons : ces cellules sont des centres de signalisation.

L'ectoderme, par exemple, est à l'origine d'une partie de la peau de l'adulte, mais il établit aussi l'axe dorso-ventral qui détermine l'emplacement et la formation de tous les muscles et de tous les tendons : quand on enlève l'ectoderme d'un bourgeon de membre et qu'on le fait tourner de 180 degrés avant de le replacer, les muscles qui auraient dû se développer sur la face dorsale de l'aile du poussin se retrouvent sur la face ventrale, et *vice versa*. Cette transformation résulte d'une signalisation chimique : l'ectoderme envoie des molécules servant de signaux aux cellules sous-jacentes, qui forment les muscles et les tendons.

À la fin des années 1940, John Saunders et ses collègues de l'Université d'Albany observèrent qu'un amas de cellules de l'ectoderme situées à l'extrémité de chaque bourgeon de membre de poulet en cours de développement – qu'ils nommèrent crête apicale ectodermique – est responsable de l'agencement antéro-postérieur du membre. Lorsqu'ils enlevaient cet amas de cellules, seul un moignon de membre se développait ; lorsqu'ils greffaient un tel amas cellulaire sur un bourgeon normal, deux membres se développaient. Le moment où était pratiquée cette intervention microchirurgicale déterminait le degré d'achèvement du

membre et la distance entre les deux ailes. Ces expériences démontraient que la crête apicale ectodermique est à la fois nécessaire et suffisante à la croissance des membres. De surcroît, comme la croissance des structures proximales des membres précède celle des structures distales, les expériences montraient que la crête apicale ectodermique dirige le développement le long de l'axe proximo-distal.

L'équipe américaine identifia aussi un autre groupe de cellules, qui commande l'axe antéro-postérieur d'un bourgeon. Ces cellules sont juste sous l'ectoderme, le long du bord postérieur du bourgeon. Lorsque les embryologistes transplantaient les cellules de la face postérieure d'un bourgeon de membre de poussin sur la face antérieure d'un autre bourgeon, ils observaient un ensemble complet de doigts surnuméraires, orientés à l'envers (comme si l'équivalent de notre auriculaire était tourné vers l'avant) : les cellules transplantées avaient contraint les cellules antérieures à former des doigts surnuméraires et, aussi, à les retourner (on dit à les repolariser), de sorte que le groupe de J. Saunders nomma la région d'où provenaient ces cellules, la zone d'activité polarisante.

Au milieu des années 1970, à l'Université de Dundee, Cheryll Tickle constata que l'activité de la zone polarisante dépendait du nombre de cellules transplantées : le nombre de doigts surnuméraires augmente avec celui des cellules transplantées. Ch. Tickle en déduisit que la zone d'activité polarisante sécrète un signal chimique, nommé morphogène, qui s'atténue à mesure qu'il diffuse dans le bourgeon de membre. La notion de morphogène, proposée dès 1900, s'imposa vers la fin des années 1960. Selon cette hypothèse, les doigts antérieurs se forment à partir des cellules les plus éloignées de la zone d'activité polarisante, qui reçoivent très peu de morphogène, tandis que les doigts postérieurs se forment à proximité de la zone d'activité polarisante, où les concentrations en morphogène sont supérieures. Toutefois, on ignorait la nature du morphogène et son action exacte.

2. UN BRAS HUMAIN ET UNE AILE DE POULET (*en haut à gauche*) se développent de la même façon le long des trois axes : dorso-ventral, antéro-postérieur et proximo-distal. En manipulant, chez l'embryon de poulet, des groupes de cellules de bourgeons de membre – tant des cellules qui deviendront des ailes que des cellules qui deviendront des pattes (*en bas à gauche, en haut et en bas à droite*) –, des biologistes ont déterminé quelles sont les cellules indispensables à la formation correcte des trois axes chez les vertébrés. Ils ont aussi identifié certaines des protéines qui dirigent la formation des membres chez l'embryon.

La protéine «hérisson»

Aujourd'hui, la biologie moléculaire offre aux chercheurs la possibilité d'identifier les gènes du développement et, notamment, ceux qui commandent le développement des membres. Une fois qu'un gène est isolé – c'est-à-dire que son ADN est connu –, il devient un puissant outil de recherche. En identifiant les «lettres chimiques» qui le constituent, on prévoit la structure de la protéine qu'il code. En outre, les généticiens utilisent des fragments de cet ADN comme sondes pour déterminer où et quand le gène est activé dans l'embryon. De surcroît, quand un gène est connu, on peut modifier son expression en l'activant en des endroits où, normalement, il ne fonctionne pas ou en l'inactivant là où il devrait fonctionner. On décode ainsi la fonction des gènes au cours du développement normal.

Au cours des années 1980 et 1990, des biologistes qui étudiaient les drosophiles découvrirent que les parties postérieures des différents segments qui forment le patron de l'embryon produisent une protéine indispensable au développement de la mouche. Cette protéine fut nommée *hedgehog* (ce qui, en anglais, signifie «hérisson»), car les larves de drosophile dont ce gène est muté ne se développent pas normalement : elles sont enroulées et ressemblent à des hérissons en boule.

Nous avons alors voulu savoir si une protéine analogue joue le même rôle dans le développement des vertébrés ; à l'aide de sondes extraites du gène *hedgehog* de la drosophile, nous avons essayé de «pêcher» des gènes similaires dans le génome de la souris, du poulet et du poisson. Nous n'avons pas trouvé une version de ce gène, mais trois ! Nous les avons nommées *Desert hedgehog* (un hérisson commun d'Afrique du Nord), *Indian hedgehog* (une variété du sous-continent indien) et *Sonic hedgehog* (d'après le nom du héros des consoles de jeux *Sega*).

Ces trois gènes existent chez la souris, chez le poulet et chez le poisson, mais ils ne jouent pas le même rôle au cours du développement de ces organismes. Ainsi, le gène *Desert hedgehog* joue un rôle important dans la production du sperme : les souris mâles dont ce gène est muté sont stériles. Le gène *Indian hedgehog* est exprimé dans le cartilage en cours de croissance. Quant au gène *Sonic hedgehog*, il est

exprimé dans diverses régions de l'organisme, notamment dans les zones d'activité polarisante des bourgeons de membres et dans une région de la moelle épinière qui se comporte comme un centre de signalisation autonome. Enfin, il déclenche la croissance de doigts surnuméraires après introduction dans un bourgeon de membre.

La protéine *hedgehog* de la drosophile étant sécrétée hors des cellules, nous avons pensé que la protéine *Sonic hedgehog* pourrait être l'un des signaux qui gouverne la croissance des membres des vertébrés. Pour le savoir, nous avons introduit le gène *Sonic hedgehog* dans des cellules embryonnaires de poulet cultivées en laboratoire ; puis nous avons implanté ces cellules qui produisent la protéine *Sonic hedgehog* sur la face antérieure d'un bourgeon de membre de poulet. Comme dans les expériences de J. Saunders, les cellules transplantées ont déclenché la formation d'une deuxième rangée de doigts, orientés vers l'arrière.

Depuis, on a montré que la protéine *Sonic hedgehog* purifiée a le même effet que les cellules où l'on a introduit le gène, ce qui prouve que la protéine est bien responsable de la mise en place de l'axe antéro-postérieur au cours du

développement des membres des vertébrés. De surcroît, la protéine fonctionne exactement comme nous l'attendions d'un morphogène : des concentrations élevées entraînent la fabrication de tout un jeu de doigts surnuméraires inversés, tandis que des concentrations plus faibles produisent moins de doigts, orientés vers l'arrière.

Le début des années 1990 a été faste pour la biologie du développement. Au moment où nous découvriions que la protéine *Sonic hedgehog* est le signal chimique qui détermine l'axe antéro-postérieur des membres en développement, d'autres biologistes isolaient les facteurs responsables de l'axe proximo-distal, qui sont fabriqués par les cellules de la crête apicale ectodermique. Ces cellules fabriquent plusieurs protéines, nommées facteurs de croissance des fibroblastes, qui assurent la prolifération des cellules sous-jacentes.

Les facteurs de croissance des fibroblastes purifiés dirigent la croissance d'un membre tout comme des cellules de la crête apicale ectodermique : quand on retire la crête apicale ectodermique d'un bourgeon, le membre est atrophié ; en revanche, quand on fixe de minuscules perles enrobées de facteurs de croissance des fibroblastes à l'extrémité d'un tel bourgeon, le membre se développe normalement.

Aujourd'hui, on sait même que, dans un membre en développement, la production de la protéine *Sonic hedgehog* et celle des facteurs de croissance des fibroblastes sont coordonnées, ce qui assure une harmonisation de la croissance selon l'axe antéro-postérieur et selon l'axe proximo-distal. Quand on retire d'un bourgeon de membre de poulet la crête apicale ectodermique, qui produit le facteur de croissance des fibroblastes, la zone d'activité polarisante de ce bourgeon ne fabrique plus la protéine *Sonic hedgehog*. De la même façon, la suppression de la zone d'activité polarisante empêche la crête apicale ectodermique de produire des facteurs de croissance des fibroblastes. En revanche, la protéine *Sonic hedgehog* recommence à être fabriquée quand on ajoute des facteurs de croissance. De même, la réintroduction de la protéine *Sonic hedgehog* stimule la production des facteurs de croissance des fibroblastes.

Le gène *Sonic hedgehog* est nécessaire au bon fonctionnement de la zone d'activité polarisante et de la crête apicale ectodermique chez la souris. Des



Robert D. Riddle

3. LES BOURGEONS DE MEMBRE, chez un embryon de poulet, ne se développent en ailes et en pattes, avec la bonne orientation antéro-postérieure, qu'en présence d'une protéine nommée *Sonic hedgehog* (en noir). La protéine est fabriquée sur le bord postérieur de chaque bourgeon.

souris dépourvues de ce gène ont des membres très courts, qui ne se développent correctement ni selon l'axe antéro-postérieur ni selon l'axe proximo-distal.

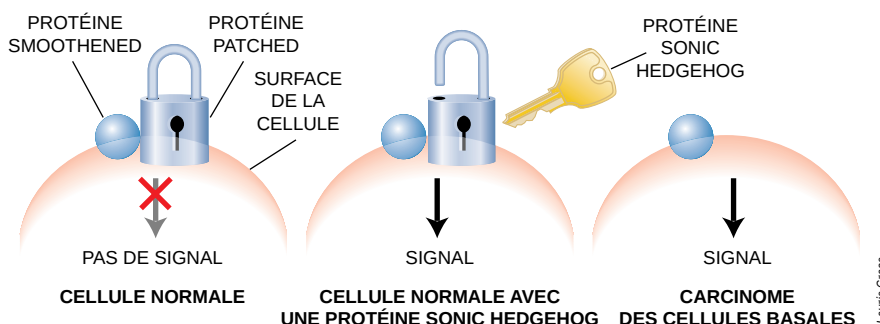
Les souris qui ne produisent pas la protéine Sonic hedgehog présentent d'autres déficits : dans le cerveau et dans la moelle épinière, la protéine indique aux cellules nerveuses primitives de devenir soit des neurones moteurs, soit des neurones sensoriels. Ainsi, les souris dépourvues du gène *Sonic hedgehog*, en plus de leurs pattes trop courtes, n'ont qu'un seul œil et une grave malformation du cerveau, une holoprosencéphalie : le cerveau antérieur n'est pas divisé en deux lobes. Ainsi, le développement normal de neurones moteurs et sensoriels, la formation des deux yeux et celle d'un cerveau bilobé dépendent de l'activité de la protéine Sonic hedgehog dans le tube neural – le précurseur du système nerveux central de l'adulte – et dans les cellules sous-jacentes.

Chez l'homme, l'holoprosencéphalie est l'anomalie congénitale du cerveau la plus fréquente. Elle survient généralement de façon sporadique, mais, parfois aussi, c'est une maladie héréditaire. Le degré d'holoprosencéphalie varie notablement selon les personnes : certaines ont des déficiences cognitives légères, d'autres un handicap grave, et des déformations du squelette du crâne et de la face.

Des mutations inactivant le gène *Sonic hedgehog* sont responsables de certaines formes sporadiques et héréditaires d'holoprosencéphalie. En l'absence d'une protéine Sonic hedgehog fonctionnelle, qui détermine l'axe dorso-ventral du cerveau en développement, les tissus cérébraux et oculaires ne forment pas de structures bilatérales.

Protéines hedgehog et cancer

Qu'un gène, tel *Sonic hedgehog*, intervenant dans la régulation du développement soit responsable de malformations n'a rien d'étonnant. En revanche, les biologistes ont découvert avec surprise des relations entre ce gène et le cancer. La protéine Sonic hedgehog est une protéine de signalisation : elle se lie à une protéine de surface des cellules basales de l'épithélium qui est impliquée dans le déclenchement de carcinomes, des cancers de la peau.



4. LA PROTÉINE SONIC HEDGEHOG active une protéine nommée Patched, qui, à son tour, module l'activité d'une autre protéine, nommée Smoothened ; cette dernière envoie des signaux de croissance à des cellules cutanées. Dans les carcinomes des cellules basales, la protéine Patched est absente ou non fonctionnelle, ce qui permet aux cellules de la peau de se multiplier jusqu'à former des tumeurs.

La plupart des molécules interagissent avec leurs cellules cibles en se fixant à des protéines de surface, nommées récepteurs. La fixation de ces molécules sur leurs récepteurs spécifiques déclenche, dans les cellules, une série de réactions qui conduit à l'activation ou à l'inhibition de certains gènes.

Les récepteurs de la protéine Sonic hedgehog sont constitués de deux sous-unités : l'une, Smoothened, transmet les signaux vers l'intérieur des cellules, et l'autre, Patched, empêche Smoothened d'agir. Lorsque la protéine Sonic hedgehog se fixe sur Patched, la sous-unité de signalisation Smoothened est activée. Néanmoins, dans des cellules dont le génome muté les empêche de fabriquer des protéines Patched fonctionnelles, la protéine Smoothened est activée en permanence, comme si la protéine Sonic hedgehog inondait sans fin les cellules. Toutefois, on ignore encore comment Sonic hedgehog intervient dans le développement normal de la peau et comment la signalisation ininterrompue de Smoothened rend les cellules basales tumorales.

Le carcinome des cellules basales est un cancer de l'épiderme ou des cellules qui tapissent les follicules pileux ; il résulte souvent de mutations provoquées par une surexposition aux rayonnements solaires ultraviolets. Un cancer se déclenche quand les deux exemplaires du gène *Patched* sont mutés dans les cellules de follicules pileux. Ces mutations peuvent apparaître après la naissance, mais certaines personnes naissent avec une mutation dans l'un des deux exemplaires, ce qui augmente les risques de carcinome des cellules basales, puisqu'une seule mutation dans l'autre exemplaire suffit alors à déclencher la maladie. Le carcinome des cellules basales se traite bien, mais les récives sont fréquentes.

Si l'on parvenait à bloquer l'activité de la protéine Smoothened, on réussirait à prévenir ces cancers.

A posteriori, le rôle de la protéine Sonic hedgehog dans les cancers n'est pas surprenant : les biologistes moléculaires ont montré que les mécanismes du développement et ceux du cancer se ressemblent souvent. Ainsi, les facteurs de la régulation de la croissance cellulaire et du développement chez l'embryon interviennent aussi chez l'adulte. Lorsque, chez l'embryon, les gènes codant ces facteurs sont mutés, des malformations de naissance surviennent ; lorsque ces mutations apparaissent chez l'adulte, des tumeurs risquent de se développer.

La surprise vient plutôt de la variété des effets de la protéine Sonic hedgehog. Le gène *Sonic hedgehog* est apparu il y a longtemps : tant la drosophile que les vertébrés utilisent de plusieurs façons les protéines codées par ce gène et par d'autres gènes du développement. Une fois qu'une voie de signalisation moléculaire est tracée, la nature trouve souvent différentes façons de l'utiliser. L'un des thèmes récurrents de la symphonie de la vie pourrait être la participation de la protéine Sonic hedgehog...

Robert RIDDLE est professeur à la Faculté de médecine de Pennsylvanie ; il a travaillé dans le laboratoire que dirige Clifford TABIN à la Faculté de médecine de Harvard.

Scott F. GILBERT, *Developmental Biology*, 5^e édition, Sinauer Associates, 1997.

Neil SHUBIN, Cliff TABIN et Sean CARROLL, *Fossils, Genes and the Evolution of Animal Limbs*, in *Nature*, vol. 388, pp. 639-648, 14 août 1997.

John GERHARD et Marc KIRSCHNER, *Cells, Embryos and Evolution*, Blackwell Science, 1998.

