

neurale chez l'embryon des vertébrés supérieurs. La méthode utilisée consiste à remplacer, chez un embryon de poulet, des fragments bien définis du territoire neural par leurs équivalents provenant d'un embryon de caille au même stade de développement.

Cette substitution, dite isotopique et isochronique, reconstitue un embryon complet, mais où une partie du «soi» est remplacé par l'équivalent provenant d'une espèce différente et qualifié de «non-soi». On construit ainsi des chimères hétérospécifiques, où les tissus de deux espèces différentes sont associés. L'état indifférencié du système immunitaire de l'embryon a pour résultat que les tissus appartenant au greffon sont acceptés, car non identifiés comme «non-soi». De plus, les interactions cellulaires, si importantes dans l'organogenèse, se déroulent normalement chez les chimères. Ceci tient certainement au fait que les deux espèces d'oiseaux mises en présence appartiennent à la famille des Gallinacés et sont proches sur le plan taxonomique.

La crête neurale est une structure particulièrement intéressante, car son développement soulève la plupart des questions posées par l'embryogenèse. Non seulement les cellules qui en sont issues sont douées de propriétés migratoires, mais elles donnent naissance à des dérivés très diversifiés. Par conséquent, comme l'œuf lui-même, à l'origine de toutes les cellules de l'organisme, la crête neurale est une structure pluripotente.

Quand j'ai commencé à m'intéresser au développement de la crête neurale, au début des années 1970, il convenait d'établir tout d'abord quels sont les différents types cellulaires qui en dérivent chez les vertébrés supérieurs et comment s'effectue la diversification des types cellulaires qu'elle produit. Il est fréquent en effet que le «choix de différenciation» de cellules pluripotentes précède l'expression morphologique ou biochimique du phénotype différencié.

Ainsi, quand une cellule est déterminée à se différencier en un type cellulaire donné, elle se différencie selon son destin normal, même si elle est expérimentalement transposée dans un environnement différent, par exemple au cours d'une greffe hétérotopique (dans un territoire de l'embryon autre que le sien).

Au contraire, lorsque la cellule n'a pas un devenir déterminé, son choix de différenciation est influencé par l'environnement dans lequel elle se trouve. Donc, en situation de greffe hétérotopique, elle se différencie en accord avec le nouveau milieu où elle se trouve plutôt que selon son devenir normal.

L'identification des voies de migration

L'exploration systématique du devenir des cellules de la crête neurale par la méthode décrite précédemment nous a permis de découvrir des dérivés de cette structure jusque-là insoupçonnés, de montrer le rôle essentiel qu'elle joue

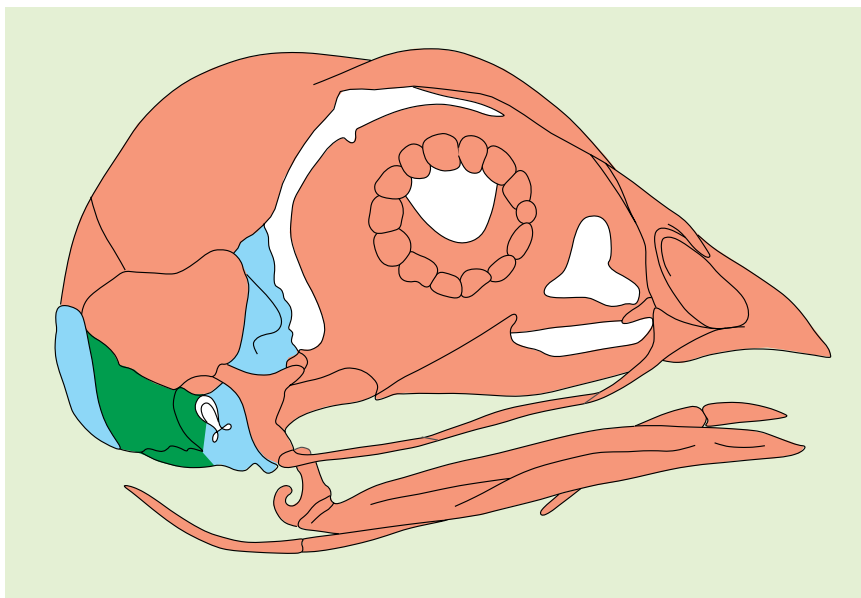
dans la formation de la tête chez les vertébrés et de connaître les niveaux précis de l'axe neural, dont chacun des dérivés de la crête neurale est issu. Les voies de migration de ces cellules à travers les tissus de l'embryon ont aussi été identifiées dans ces expériences. Enfin, les transplantations hétérotopiques de tube neural, où l'on modifie la position d'un territoire donné le long de l'axe antéropostérieur de l'embryon, ont permis de mettre en évidence le rôle décisif joué par l'environnement dans la différenciation de la plupart des dérivés de la crête neurale.

Ces expériences ont révélé qu'après transposition hétérotopique les cellules de crête atteignent les tissus cibles correspondant à leur position sur l'axe neural (et non pas ceux qu'elles colonisent en l'absence de transposition). Ensuite, elles se différencient en fonction de leur nouvel environnement plutôt qu'en fonction de leur destinée normale, régie par leur emplacement d'origine.

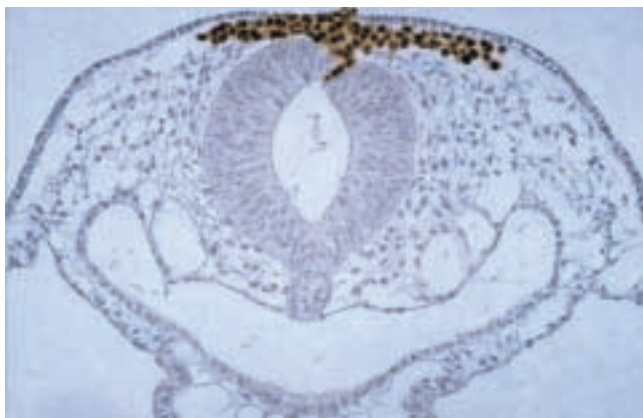
Une autre façon d'évaluer la pluripotentiaité des cellules de crête est de les transplanter *in vitro* dans un milieu qui permet l'expression de la totalité des phénotypes auxquels elles donnent naissance chez l'embryon. Si les cellules sont transplantées isolément, elles donnent naissance, par divisions cellulaires successives, à une colonie, ou clone. Dans le cas où la cellule initiale est pluripotente, plusieurs phénotypes cellulaires sont représentés dans le clone. Au contraire, quand la cellule est monopotentielle ou bipotentielle, respectivement un ou deux types cellulaires sont présents dans le clone.

Quand elles commencent à migrer, les cellules de la crête neurale sont pour la plupart pluripotentes, c'est-à-dire que leur descendance se compose par exemple de neurones, de cellules gliales, ou de mélanocytes. *In vivo*, le «choix» de différenciation est dicté par des facteurs spécifiques des différentes régions de l'embryon : les mélanocytes se développent dans la peau, ou les neurones dans les ganglions du système nerveux périphérique. Ainsi, la différenciation des dérivés de la crête neurale dépend des interactions qui ont lieu entre les cellules de la crête et celles des tissus embryonnaires environnants.

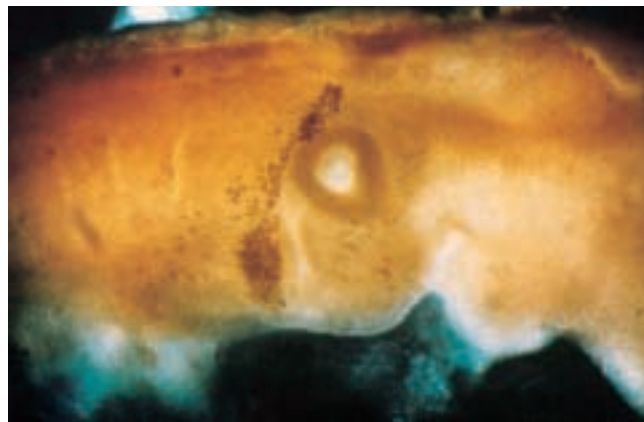
Nous avons également étudié le rôle de la crête neurale dans l'embryogenèse de la tête chez les vertébrés supérieurs. Mes premières recherches sur ce sujet ont été effectuées en collabo-



4. LE CRÂNE DES VERTÉBRÉS dérive, pour l'essentiel, de la crête neurale (en rouge). Les quelques zones qui ne dérivent pas de la crête neurale proviennent d'autres régions de l'embryon nommées mésenchyme céphalique (en bleu) ou mésoderme somitique (en vert).



5. DES ANTICORPS spécifiques des cellules de caille (*en marron*) servent aujourd'hui à visualiser la migration des cellules de caille greffées sur les embryons de poulet. Le suivi des cellules de caille est ainsi rapide



et aisé. On visualise généralement les cellules de caille sur des coupes (*à gauche*), mais parfois sur l'embryon entier qui, lorsqu'il est tout jeune (quelques heures), est transparent (*à droite*).

Institut d'embryologie

ration avec Christiane Le Lièvre, au début des années 1970. Elles ont été reprises et développées, à partir de 1987, avec Gérard Couly. Il est apparu que la contribution de la crête neurale aux structures céphaliques est plus importante que ne l'avaient laissé supposer les travaux réalisés sur les œufs de grenouille et de triton.

En fait, il est maintenant établi que tous les os de la face, ainsi que la majeure partie de la boîte crânienne, dérivent de la crête neurale. Au cours de l'évolution, le développement de la tête des vertébrés s'est effectué essentiellement à partir de l'ectoderme dont sont issus le cerveau, les os de la face, la voûte crânienne, qui recouvre le cerveau et le protège. Il en est de même de la plupart des capsules osseuses qui abritent les organes sensoriels céphaliques, par exemple le squelette des fosses nasales, les orbites et certains des os du canal auditif.

La transition entre l'ébauche neurale primitive, ou plaque neurale, et le cerveau qui en dérive fait intervenir des mécanismes morphogénétiques complexes et met en œuvre de nombreux gènes. Les centres nerveux et les faisceaux de fibres qui assurent les connexions neuronales sont engendrés par les cellules les plus internes de l'épithélium neural qui, pendant le processus de neurogenèse, fonctionne comme une assise génératrice. Elle est constituée de cellules «souches», qui produisent par division asymétrique une autre cellule souche et une cellule différente qui donnera des neurones ou des cellules gliales.

L'activité prolifératrice des différentes régions du tube neural est variable et responsable de la croissance particulièrement active de certaines

zones, comme celles qui donnent naissance aux hémisphères cérébraux, très développés chez l'homme, ou aux lobes optiques volumineux chez les oiseaux, dont la vision est perfectionnée.

Les neurones ainsi produits effectuent, au sein même de l'épithélium neural, des migrations qui les conduisent à former les centres nerveux. Ils émettent des axones (ou fibres nerveuses) qui établissent un réseau de connexions interneuronales d'une extrême complexité. La possibilité de marquer sélectivement des zones définies de l'épithélium neural à un stade précoce du développement embryonnaire permet d'en suivre l'évolution au cours de la morphogenèse du cerveau. Ainsi le trajet des cellules marquées peut être observé lorsqu'elles migrent hors du greffon de caille dans l'épithélium de l'hôte pour venir se positionner dans les centres nerveux où elles achèvent leur différenciation. Les chimères ont permis d'une part d'identifier, sur la plaque neurale, les territoires destinés à fournir les divers constituants du cerveau antérieur et, d'autre part, de localiser dans le cerveau les centres responsables de certains comportements innés.

L'intégration des tissus nerveux d'embryon de caille dans le poulet étant suivie du développement normal des structures nerveuses, nous nous sommes demandé si les chimères neurales ainsi construites sont capables d'éclore. Les premières expériences ont montré que des greffes dans le territoire de la moelle épinière permettent le développement normal des chimères jusqu'à l'éclosion et au-delà. Environ dix pour cent des embryons opérés éclosent et produisent des poussins normaux. Le seul signe de leur statut

de chimère est la présence d'une bande transversale de plumes pigmentées particulièrement visible lorsque le poulet hôte appartient à une race blanche. Cette pigmentation provient de la migration des précurseurs des mélanocytes, c'est-à-dire des cellules productrices de pigment, ou mélanine, contenus dans la crête neurale de caille greffée. Ceux-ci migrent dans les bourgeons plumaires du poulet hôte comme ils l'auraient fait dans ceux de l'embryon de caille dont ils proviennent.

Le chant des chimères

Le fait que ces animaux composites présentent un comportement moteur normal indiquait que des synapses fonctionnelles pouvaient s'établir entre les neurones de caille et les neurones ou les cellules musculaires de poulet, et validait le modèle expérimental des chimères, tant du point de vue morphogénétique que fonctionnel. Avec Marie-Aimée Teillet et Evan Balaban (ce dernier est aujourd'hui à l'Institut des neurosciences de San Diego), nous avons tenté de construire des chimères selon le principe de remplacement isotopique et isochronique des territoires de l'encéphale. Les greffes sont en général réalisées en prenant le poulet comme receveur et la caille comme donneur, et le territoire greffé s'intègre parfaitement dans le cerveau de l'hôte. Les connexions nerveuses s'établissent d'une façon apparemment normale, et les chimères peuvent éclore.

Nous avons recherché si certains comportements innés sont transférables d'une espèce à l'autre par la transplantation de régions définies de l'ébauche de cerveau. E. Balaban a choisi d'étudier le chant. Étant donné les phé-