

Chapitre 1

Étapes et mécanismes fondamentaux du développement et de la différenciation

1.1. Les étapes du développement

L'étude du développement embryonnaire englobe la description morphologique des transformations conduisant l'œuf fécondé à un organisme pluricellulaire, et l'étude des mécanismes impliqués dans la construction de cet organisme complexe. Le développement embryonnaire, ou embryogenèse, est composé de quatre étapes s'effectuant successivement mais dont les modalités peuvent varier en fonction de l'espèce : la fécondation, la segmentation, la gastrulation et l'organogenèse.

L'œuf fécondé, ou zygote, issu de la fusion du gamète mâle et du gamète femelle s'engage rapidement dans la segmentation. C'est le passage d'un état unicellulaire à un état pluricellulaire. La segmentation est caractérisée par une suite de divisions rapides et rapprochées, à interphases très courtes où le génome embryonnaire s'exprime peu.

Ces divisions clivent l'œuf en un certain nombre de cellules filles (ou blastomères) sans engendrer un accroissement notable de son diamètre. Au cours de la segmentation l'œuf se creuse, dans la majorité des cas, d'une cavité, le blastocœle, et devient une blastula.

La gastrulation, qui correspond à la mise en place dans l'embryon des feuilletts fondamentaux (ectoderme, mésoderme et endoderme) des métazoaires, peut alors commencer. Pendant la gastrulation, l'activité mitotique des blastomères se ralentit et les cycles cellulaires s'allongent, le génome embryonnaire s'exprimant de manière importante. La gastrulation est caractérisée par des mouvements morphogénétiques entraînant la migration de groupes de blastomères les uns par rapport aux autres, aboutissant chez certains invertébrés (Cœlentérés) à la ségrégation de deux feuilletts distincts : un

feuillet externe, l'ectoderme et un feuillet interne, l'endoderme. Ce sont des embryons diblastiques.

Chez la plupart des métazoaires, un troisième feuillet se met en place en position intermédiaire entre l'endoderme et l'ectoderme : c'est le mésoderme. L'embryon est alors triblastique. L'individualisation progressive du feuillet mésodermique est le résultat de phénomènes d'induction du feuillet endodermique, déterminé très précocement, comme nous le verrons dans les chapitres suivants, sur le feuillet ectoblastique qui est compétent, c'est-à-dire apte à recevoir le signal inducteur.

Après la gastrulation s'engage une période d'organogenèse et d'histodifférenciation où le plan d'organisation de l'espèce et les ébauches d'organes se mettent en place. Cette période, qui commence par la mise en place du système nerveux (ou neurulation), est une phase de croissance importante du jeune organisme. La construction d'un organisme pluricellulaire cohérent est un phénomène progressif impliquant des mécanismes fondamentaux, que l'on retrouve dans toutes les espèces. Les mécanismes contrôlant la prolifération, les mouvements et la migration cellulaires, permettent des interactions entre des groupes de cellules éloignés les uns des autres pouvant conduire à une spécialisation cellulaire. Ils nécessitent une coordination cellulaire importante. La formation de cellules spécialisées est le résultat de deux grands mécanismes : les interactions cellulaires conduisant à des inductions et l'existence de déterminants cytoplasmiques. Ces molécules (ARN ou protéines) localisées de manière asymétrique dans le cytoplasme, orientent de manière spécifique le devenir de la cellule fille qui en hérite au moment de la mitose.

1.2. Les étapes de la différenciation cellulaire

La différenciation cellulaire est le processus par lequel les cellules se spécialisent en un type cellulaire particulier, identifiable par l'expression de gènes spécifiques et par des caractéristiques morphologiques qui lui sont propres. Dans le corps humain, on décrit plus de deux cents types cellulaires distincts qui diffèrent très sensiblement les uns des autres par leur

organisation structurale et/ou fonctionnelle. Toutes ces cellules, qui sont issues par une succession de mitoses de la cellule initiale, l'œuf fécondé ou zygote, possèdent (à quelques exceptions près) le même matériel génétique. Cependant, elles diffèrent au niveau de l'expression de gènes spécifiques. La spécialisation cellulaire s'acquiert progressivement au cours du développement et plusieurs états cellulaires peuvent être distingués : la totipotence, la détermination et la différenciation.

La totipotence : la cellule totipotente peut donner naissance à tous les types cellulaires d'un organisme, et même à l'organisme entier, en fonction des conditions d'environnement auxquelles elle est confrontée. Le zygote apparaît donc comme la cellule totipotente par excellence. D'une manière générale, les cellules totipotentes sont caractérisées par un indice mitotique élevé et donc des cycles cellulaires courts avec des phases G1 et G2 réduites (et même dans certains cas, inexistantes). Le génome des cellules totipotentes est très largement inexprimé mais il est très accessible à tous les mécanismes de contrôle auxquels il répond rapidement. Etant donné que presque seuls les gènes de « routine », impliqués dans les mécanismes de la croissance et de la division cellulaire, sont exprimés chez les cellules totipotentes, celles-ci ne présentent pas de caractères morphologiques spécialisés.

La détermination : la cellule déterminée ne peut plus être à l'origine que d'une gamme limitée et précise de types cellulaires quel que soit l'environnement dans lequel elle se trouve. Des groupes de cellules déterminées peuvent s'associer pour former un champ morphogénétique, territoire qui ne présente aucun caractère morphologique spécialisé (par exemple le champ morphogénétique de l'œil, ou le champ morphogénétique du membre postérieur) mais dont le devenir est orienté de manière irréversible. Le modèle amphibien permet de mettre facilement en évidence la notion de champ morphogénétique (voir chapitre 7). L'acquisition par la cellule d'un état déterminé est un phénomène progressif mais qui, une fois acquis, est généralement stable et transmissible au fil des divisions de mitose. Le passage progressif de cellules totipotentes à des cellules pluripotentes puis à des cellules dont la détermination est irréversible, est dû à la limitation

progressive de la capacité d'expression du génome associé à un phénomène d'hétérochromatinisation de régions entières de celui-ci (Fig. 1.1).

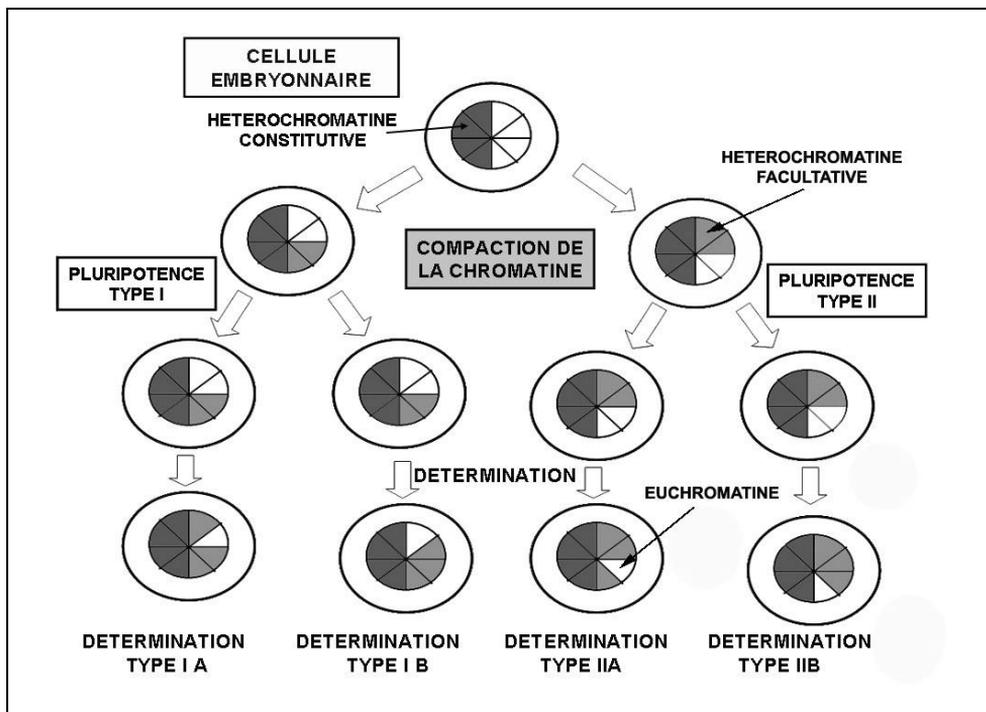


Figure 1.1 : Hétérochromatine et détermination.

Les cellules embryonnaires, comme toutes les cellules, ont une partie de leur chromatine qui demeure de façon permanente à l'état condensé : c'est l'hétérochromatine constitutive. Elle correspond à des séquences d'ADN répétitives qui n'ont pas de signification sur le plan transcriptionnel. Durant le passage de la totipotence à la pluripotence et à la détermination, des groupes de gènes, initialement non transcrits mais susceptibles d'être rapidement mobilisés en début de segmentation, sont inactivés par compaction de la chromatine : on parle alors d'hétérochromatine facultative. Cette hétérochromatinisation est durable, une fois acquise elle est transmise de génération cellulaire en génération cellulaire. Elle se met en place progressivement au fur et à mesure de la détermination dans les différents groupes de cellules sous le contrôle de facteurs internes (déterminants cytoplasmiques) ou d'événements extérieurs à la cellule (position de la cellule dans l'embryon, phénomènes d'induction). Des fractions plus ou moins importantes de la chromatine, différentes en fonction des cellules, prennent une forme compactée, et ne sont plus accessibles, d'une manière générale, à une activation par d'éventuels facteurs de transcription. Le résultat de ce phénomène global d'hétérochromatinisation durant l'embryogenèse est la mise en place de cellules caractérisées par des états de détermination différents, ne pouvant plus exprimer que des parties distinctes et limitées de leur génome (euchromatine), et dont la spécialisation est orientée de manière irréversible dans des directions différentes.

La différenciation : une cellule différenciée présente des caractères spécialisés immédiatement discernables tant au niveau morphologique qu'au niveau moléculaire. Elle est caractérisée par un cycle cellulaire long, voire par une perte totale du pouvoir mitotique. Plus précisément, la différenciation

s'établit au cours de la phase G1 du cycle cellulaire. Elle conditionne la durée du cycle, et peut même aboutir à son interruption. La réplication de l'ADN (et par conséquent la mitose) ne se produisant plus chez certains types cellulaires hautement différenciés, ceux-ci demeurent bloqués plus ou moins longtemps dans un état particulier de la phase G1 du cycle cellulaire, décrit comme une phase G0. En règle générale, l'état différencié est stable et non réversible. Outre les gènes de routine, gènes nécessaires au métabolisme de base et exprimés par toutes les cellules, la cellule différenciée n'utilise que 1 à 2% du programme génétique correspondant à des gènes codant des protéines «de luxe» très spécifiques.

Rappel : Le cycle cellulaire de la cellule eucaryote

Au sein d'un organisme pluricellulaire, quatre évènements fondamentaux sont susceptibles de marquer la vie cellulaire : la reproduction par division, ou mitose, l'expression du métabolisme général (anabolisme et catabolisme), une spécialisation éventuelle de la cellule constituant le phénomène de la différenciation, et enfin la mort cellulaire, résultant de mécanismes variés dont le phénomène de mort cellulaire programmée ou apoptose. Toutes les cellules de l'organisme fonctionnent suivant un cycle qui s'organise autour de la réplication de leur matériel génétique et où l'on peut distinguer deux étapes : la mitose (phase M), qui est une période marquée par la division cellulaire, et l'interphase, période d'activité métabolique importante. L'interphase est composée de trois étapes successives : la phase G1, la phase S, et la phase G2. La phase G1, ou phase post-mitotique, correspond au début d'un cycle cellulaire. Sa durée est très variable ; la phase G1 est plus ou moins longue en fonction du type cellulaire considéré et de l'environnement (abondance des nutriments et présence de divers facteurs de croissance).

La phase G1 est même inexistante dans le cycle des cellules embryonnaires aux stades précoces du développement (chez les amphibiens ou les diptères par exemple). Pendant la phase G1 les activités de transcription (synthèses d'ARN dans le noyau) et de traduction (synthèses de protéines dans le cytoplasme) sont intenses. D'une façon générale le métabolisme cellulaire est très actif, ce qui se traduit par l'accroissement très sensible du volume de la cellule.

C'est au cours de la phase S que l'ADN chromosomique est synthétisé dans le noyau de la cellule. Dans la mesure où le phénomène de réplication n'intéresse pas simultanément toutes les régions de toutes les molécules d'ADN du noyau, des activités de transcription se poursuivent dans le noyau durant toute la phase S ; des synthèses protéiques ont également lieu dans le cytoplasme. En phase S, chaque molécule d'ADN effectue sa réplication, on passe alors quantitativement de 2C ADN à 4C ADN. La phase G2 est une phase de relatif repos métabolique, bien que des activités de traduction s'y produisent encore ; la cellule achève de

dupliquer ses constituants. Enfin, la mitose débute par un phénomène assez rapide de répartition en deux lots des structures nucléaires (chromosomes) porteuses du programme génétique (c'est la « mitose » proprement dite), ainsi que des autres constituants cellulaires (cytokinèse).

La cellule initiale se divise ensuite en deux cellules filles qui se séparent (cytodiérèse). Ces deux cellules filles se partagent équitablement les différents constituants de la cellule mère. Le matériel génétique (ADN) ayant été répliqué pendant la phase S, la cellule qui subit la mitose possède 4C ADN. Les deux cellules filles issues de la mitose reçoivent chacune 2C ADN (Fig. 1.2).

Dans l'organisme pluricellulaire, la mitose permet d'assurer d'abord la croissance de l'individu au cours des phases embryonnaires, fœtales et juvéniles de la vie. Elle permet aussi de renouveler au fur et à mesure des besoins, les cellules de certains tissus. Enfin la mitose peut suffire à assurer la reproduction de certains organismes pluricellulaires, c'est-à-dire par reproduction asexuée. Pour un même organisme, la durée du cycle peut être très différente d'un type de cellule à l'autre. Les cellules embryonnaires, ou encore des cellules pathologiques (cellules cancéreuses) peuvent avoir un cycle particulièrement court (de 30 minutes à 1 heure). La plupart des cellules dont la différenciation est peu accentuée ont un cycle dont la durée est de quelques jours à plusieurs mois ; elles peuvent se renouveler par mitoses au sein des tissus dont elles font partie. C'est ainsi que chez certains mammifères, les cellules du foie (hépatocytes) ont un cycle qui peut durer un an. Enfin les cellules hautement spécialisées comme les cellules nerveuses (neurones) ou les cellules du muscle cardiaque, ont pratiquement perdu la capacité de se diviser, elles sont dites « permanentes ».

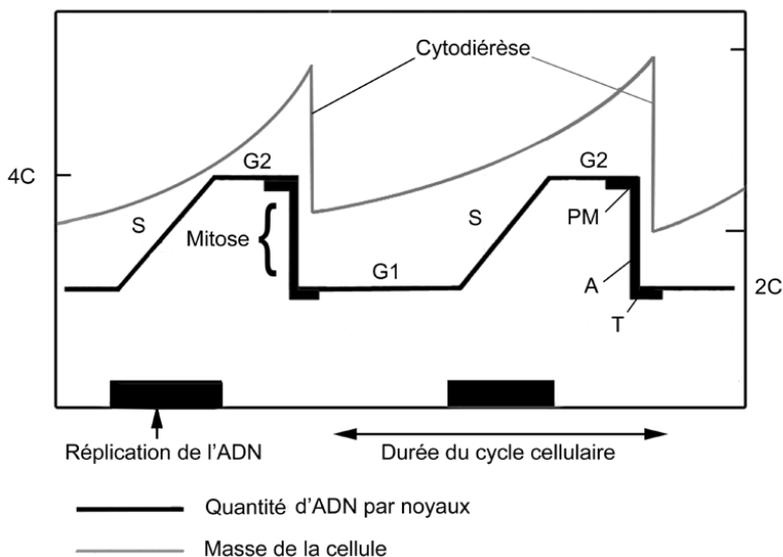


Figure 1.2 : Le cycle cellulaire de la cellule eucaryote.
 P : Prophase, M : Métaphase, A : Anaphase, T : Télophase.

1.3. Déterminants cytoplasmiques et divisions asymétriques

Les déterminants cytoplasmiques sont des molécules (ARN, protéines ou ribonucléoprotéines généralement) localisées dans une région particulière du cytoplasme. Le cytosquelette joue un rôle dynamique dans l'adressage et la localisation des déterminants cytoplasmiques qui lui sont souvent associés. Ces déterminants confèrent des caractéristiques et un devenir spécifique aux cellules qui en héritent lors des divisions cellulaires. Lorsqu'ils sont présents dans l'ovocyte ou l'œuf, on parle de déterminants maternels. Ils peuvent spécifier les axes du développement ou la détermination d'un feuillet embryonnaire. Chez le xénope, les ARNm VegT et Vg1 sont localisés dans le cortex végétatif de l'œuf tandis que l'ARNm ectodermine est détecté au niveau de l'hémisphère animal (*Fig. 1.3 A*). VegT est essentiel à la détermination de l'endoderme et Vg1 joue un rôle clé dans l'induction du mésoderme dorsal. L'ectodermine est impliquée dans la spécification des cellules de l'ectoderme.

Chez la drosophile, les déterminants moléculaires maternels sont des ARNm corticaux : bicoïd et nanos, qui spécifient l'axe antéro-postérieur (*Fig. 1.3 B*). La protéine bicoïd est un facteur de transcription à homéodomaine. Elle agit comme un morphogène, distribué suivant un gradient de concentration antéro-postérieur décroissant, impliqué dans la mise en place de la région antérieure de l'embryon. A l'inverse, la protéine nanos, répartie suivant un gradient postéro-antérieur décroissant, joue un rôle majeur dans la définition du pôle postérieur de l'embryon.

Au niveau de l'œuf d'ascidie, le déterminant maternel spécifiant les cellules musculaires primaires est un ARNm cortical, Macho-1.

Lors des étapes plus tardives du développement, on met également en évidence des déterminants cytoplasmiques. Chez la drosophile par exemple, la protéine à homéodomaine prospero, spécifie les précurseurs des neurones sensoriels.

Lors des divisions cellulaires, un déterminant cytoplasmique peut être réparti de manière homogène dans les cellules filles lors d'une division symétrique ou de manière hétérogène, lors d'une division asymétrique (*Fig. 1.4*). La division

asymétrique est un mécanisme clé de l'acquisition de la diversité et de la spécialisation cellulaire au cours de l'ontogenèse. Lors de la segmentation, il y a distribution, plus ou moins tardivement, de différents déterminants cytoplasmiques dans des groupes distincts de blastomères qui acquièrent alors des potentialités spécifiques. Si le déterminant cytoplasmique est un ARN codant un facteur de transcription (c'est le cas pour VegT), après traduction, ce facteur pourra activer des gènes spécifiquement sous son contrôle dans la cellule où il a été synthétisé. Si le déterminant cytoplasmique est un facteur de croissance (comme Vg1 par exemple), celui-ci sera sécrété par les blastomères où il a été synthétisé et agira sur des cellules compétentes, réceptrices au signal, qui seront induites à se différencier dans une direction précise. On comprend donc l'importance des déterminants cytoplasmiques et des divisions asymétriques dans le passage progressif d'un état totipotent à un état pluripotent et finalement déterminé. En effet, au cours de la segmentation, si les premiers blastomères sont totipotents et peuvent engendrer, à eux seuls, un individu complet, il n'en est pas de même après la distribution des déterminants cytoplasmiques dans des blastomères différents.

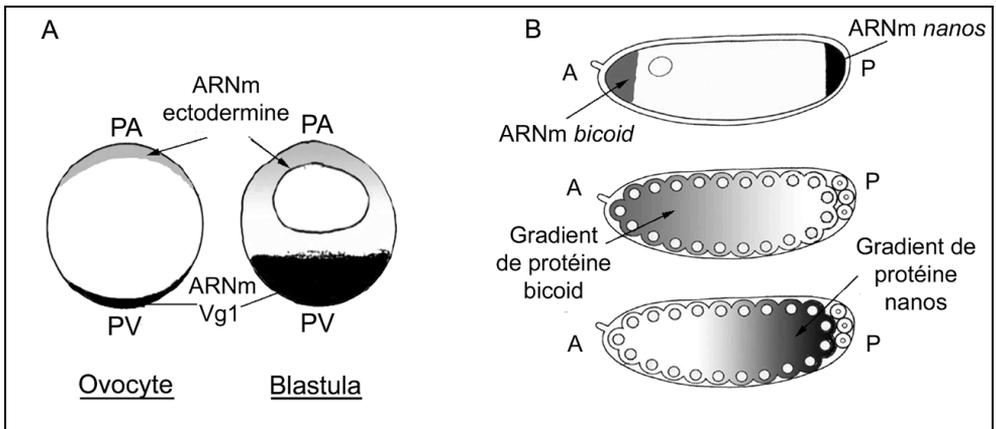


Figure 1.3 : Exemples de déterminants cytoplasmiques d'origine maternelle.

(A) : chez le xénope, l'ARNm ectodermine est localisé au niveau de l'hémisphère animal de l'ovocyte comme chez la blastula. A l'inverse, l'ARNm Vg1 est localisé au niveau de l'hémisphère végétatif. (B) : chez l'embryon de drosophile, l'ARNm nanos, localisé au pôle postérieur de l'ovocyte, est traduit juste après la fécondation en protéine nanos qui se répartit suivant un gradient décroissant du pôle postérieur vers la région antérieure de l'embryon. A l'inverse, l'ARNm bicoïd est localisé au pôle céphalique de l'ovocyte. Juste après la fécondation, cet ARNm est traduit en protéine bicoïd, répartie suivant un gradient antéro-postérieur décroissant.