

DÉCEMBRE 2011 numéro 12 p 1039 > 1134 volume 27

> www.medecinesciences.org

REVUES

Les jeunes biologistes à l'Académie ADAMTS13 et facteur von Willebrand PP2A, virus et tumeurs La migration des phagocytes

REPÈRES
Pèlerinage à La Mecque et maladies infectieuses

> CHRONIQUES GÉNOMIQUES Séquencer pour soigner ?



lieu à une réponse transcriptionnelle classique, mais peut également affecter directement le fonctionnement de nombreux processus cellulaires. ◊ Tales of the Wnt pathway: how GSK3 got locked up inside multivesicular endosomes

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Lise Zakin, René Plouhinec, et Hélène Plouhinec pour leur relecture attentive du manuscrit.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Clevers H. Wnt/β-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127: 469-80.
- Taelman VF, Dobrowolski R, Plouhinec JL, et al. Wnt signaling requires sequestration of glycogen synthase kinase 3 inside multivesicular endosomes. Cell 2010; 143: 1136-48.
- MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/β-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. Dev Cell 2009; 17: 9-26.
- Platta HW, Stenmark H. Endocytosis and signaling. Curr Opin Cell Biol 2011; 23: 1-11.
- Van den Heuvel M, Nusse R, Johnston P, Lawrence PA. Distribution of the wingless gene product in Drosophila embryos: a protein involved in cell-cell communication. *Cell* 1989; 59: 739-49.
- Sutherland C. What are the bona fide GSK3 substrates? Int J Alzheimer Dis 2011; 2011: 505-607.

NOUVELLE

- Fiol CJ, Wang A, Roeske RW, Roach PJ. Ordered multisite protein phosphorylation. Analysis of glycogen synthase kinase 3 action using model peptide substrates. J Biol Chem 1990; 265: 6061-5.
- Dajani R, Fraser E, Roe SM, et al. Crystal structure of glycogen synthase kinase 3β: structural basis for phosphate-primed substrate specificity and autoinhibition. Cell 2001; 105: 721-32.
- Mosesson Y, Mills GB, Yarden Y. Derailed endocytosis: an emerging feature of cancer. Nat Rev Cancer 2008; 8:835-50.
- Rocques N, Abou Zeid N, Sii-Felice K, et al. GSK-3-mediated phosphorylation enhances Maftransforming activity. *Mol Cell* 2007; 28: 584-97.

La morphogenèse

de l'enroulement intestinal

Thierry Savin

ETH Zürich, Department of Materials, 8093 Zürich, Suisse. savin@mat.ethz.ch

corps humain, mais demeure l'un des moins étudiés par les biologistes [1]. Le tube intestinal présente pourtant une architecture fascinante, nettement conditionnée par sa fonction, qui est assurée par un agencement de villosités et de courbures servant à maximiser la surface d'absorption des nutriments. Dans un article récemment publié dans la revue *Nature* [2], nous avons étudié la morphogenèse des boucles intestinales. Une démarche interdisciplinaire en biologie et en physique, à la fois expérimentale et théorique, nous a permis de montrer que l'enroulement intestinal a pour origine un équilibre tissulaire de forces élastiques. Ces dernières sont générées par la croissance différentielle entre le tube intestinal et la membrane mésentérique qui le lie à l'abdomen.

> L'intestin est l'un des plus gros organes du

Développement de l'intestin

Entre la conception et la naissance, le tube intestinal humain se développe pour

atteindre plus de deux mètres de long, en formant un enroulement complexe à l'intérieur de l'abdomen. Pour les individus d'une même espèce de vertébrés, l'intestin moyen (ou intestin grêle) se développe de façon similaire et présente toujours la même structure de boucles. Dans les premiers instants de son développement, l'intestin est un tube droit, en bordure de l'embryon, qui croît plus rapidement que les tissus environnants. Il devient alors plus long que le tronc, et forme une première anse qui, en émergeant, vrille invariablement dans le sens antihoraire. Cette immuable chiralité est déclenchée par une asymétrie dans l'arrangement cellulaire du mésentère dorsal, un tissu initialement épais qui connecte l'intestin à la paroi abdominale [3, 4]. Le mésentère s'affine par la suite jusqu'à devenir un feuillet épithélial de deux cellules d'épaisseur sans asymétrie apparente. Dans le même temps, l'intestin continue sa croissance en formant d'autres boucles tout en restant attaché sur toute sa longueur au mésentère, lui permettant ainsi de rester confiné dans la cavité abdominale. La *Figure 1* montre des exemples de l'enroulement intestinal pour quatre espèces différentes, et illustre la remarquable diversité dans la taille et la forme de cet organe, qui est souvent associée au régime alimentaire de l'animal. Jusqu'à présent, la morphogenèse de ces boucles était restée inexpliquée.

Rôle de la croissance différentielle

Afin de comprendre l'organogenèse de l'intestin, nous avons d'abord testé plusieurs hypothèses à l'aide d'embryons de poulet. En premier lieu, cet enroulement pourrait provenir des contraintes spatiales de la cavité abdominale. Nous avons cependant pu écarter cette hypothèse, car les boucles restent intactes et identiques à leur structure *in ovo* lorsque l'intestin est dégagé de l'abdomen



par dissection. Une seconde hypothèse, empruntant des idées classiques de la biologie du développement, suppose une prolifération cellulaire inhomogène dans le tube, ou dans le mésentère, aux endroits mêmes où l'intestin se courbe. Grâce à un marqueur mitotique. nous avons cependant mesuré que la croissance cellulaire est uniforme dans le tube, le long de son axe cranio-caudal ainsi que dans ses sections latérales. Un comptage mitotique effectué séparément dans le mésentère a également révélé une prolifération cellulaire uniforme. Cette observation disqualifie donc aussi une éventuelle croissance inhomogène du mésentère qui, à la manière d'un marionnettiste, agirait pour forcer la courbure de portions spécifiques du tube.

En examinant nos mesures de prolifération, il nous est toutefois apparu que le tube croît plus rapidement que le mésentère. Ceci est très clairement apparu lorsque nous avons séparé le mésentère de l'intestin le long du tube avec des ciseaux de dissection : nous avons remarqué que le mésentère se rétracte, diminuant son périmètre d'un facteur 2 ou 3. Nous avons en outre observé que le tube, une fois isolé du mésentère, se déroule de lui-même et adopte une configuration linéaire. Ces tissus manifestent donc une réponse élastique aux déformations, et à cause d'un taux de croissance différent entre le

tube intestinal et le tissu mésentérique auquel il est attaché, le tube est comprimé alors que le mésentère est sous tension. Ces observations suggèrent que les forces impliquées dans l'enroulement intestinal agissent à l'échelle du tissu.

Modèle physique

Nous avons alors créé une réplique du système composite tube-mésentère à l'aide d'une fine feuille élastique en latex et d'un tuyau flexible en silicone. Alors que la membrane était maintenue étirée jusqu'à deux fois sa longueur initiale, nous avons cousu le tuyau sur son bord. En relâchant la tension, nous avons observé la formation spontanée de boucles du tuyau se distribuant de façon régulière de part et d'autre de la membrane élastique. Comme le montre la Figure 2, l'apparence des boucles est de fait très similaire à celle observée dans l'intestin embryonnaire du poulet. Pour obtenir cette image de l'intestin, nous avons disséqué l'artère mésentérique supérieure, sans retirer le reste du mésentère, afin de mettre en évidence la remarguable périodicité dans l'enchaînement des boucles intestinales.

Biophysique quantitative

D'avoir ainsi identifié le contexte mécanique pour la formation de l'enroulement nous a aidé à élaborer un modèle théorique et une simulation numérique qui prédisent la géométrie des boucles. La méthode Figure 1. Intestins embryonnaires de plusieurs espèces. De gauche à droite, les intestins de poulet, caille, passereau (diamant mandarin) et souris ont été disséqués à un temps intermédiaire de l'organogenèse. Le poulet et la caille sont tous deux des galliformes de la même famille, et les aspects très similaires de leur intestin témoignent de cette classification. Le diamant mandarin est un passériforme dont le tube intestinal est remarguablement différent de celui des deux autres oiseaux. La souris est ici utilisée comme modèle de mammifère. L'artère mésentérique supérieure, qui traverse le mésentère pour la vascularisation de l'intestin, est visible sur ces images. Elle peut être découpée pour déployer l'enroulement, comme le montre la *Figure 2*, afin de révéler la périodicité des boucles (images modifiées à partir de [2]).

numérique avait déjà été exploitée pour montrer comment la croissance différentielle induisait les ondulations visibles sur les bords des feuilles d'arbres ou des pétales de fleurs [5, 6]. Grâce à notre modèle, il suffit alors de connaître les paramètres élastiques et morphologiques du tube intestinal et du mésentère (ou du tuyau et de la feuille de latex), ainsi que leurs taux de croissance relative (ou l'étirement initial de la feuille de latex), pour déterminer le rayon des boucles et leur nombre dans l'intestin.

Afin de valider nos prédictions, nous avons mesuré les paramètres de notre modèle sur les tissus biologiques de poulet à plusieurs stades du développement embryonnaire. En particulier, les modules d'élasticité du tube et du mésentère ont pu être évalués à l'aide d'une nouvelle technique de « pinces magnétiques » spécialement élaborée pour ce type de biomatériaux. Nous avons alors comparé la forme, la taille et le nombre de boucles prédits par notre modèle avec des mesures directes sur l'intestin embryonnaire de poulet, à différentes étapes de son développement. Nous avons trouvé que notre modèle physique permet effectivement de décrire les diverses formes et dimensions d'enroulement adoptées par l'intestin au cours de sa genèse.



Figure 2. Les différentes étapes de la modélisation de l'enroulement intestinal. La première image est celle de l'intestin de poulet, dont on a séparé l'artère mésentérique supérieure. Cette technique, qui conserve la structure des boucles (puisque le mésentère n'a pas été séparé du tube) permet de souligner la périodicité de l'enroulement. Chaque boucle a un rayon de l'ordre du millimètre. Au milieu, la réplique en latex (voir le texte) présente les mêmes formes que l'intestin, mais à des échelles 100 fois plus grandes. Cette concordance révèle le rôle essentiel des forces élastiques dans la morphogenèse de l'intestin. Enfin, le modèle numérique (en bas) nous a permis d'établir la théorie physique qui prédit la forme des boucles (dissection : A.E. Shyer ; modèle en latex : P. Florescu).



Nous avons déjà mentionné que l'intestin peut différer d'une espèce à l'autre. Sur la Figure 1, les tubes intestinaux de poulet et de caille ont une forme semblable à des stades de développement comparables, même si leur taille diffère. En revanche, l'intestin du passereau est beaucoup plus condensé avec des boucles relativement petites, malgré un diamètre de tube similaire à celui du tube des deux autres espèces d'oiseaux. Enfin chez la souris, les boucles de l'intestin sont plus amples, mais très rapprochées. Nous avons répété nos mesures biophysiques des paramètres élastiques et morphologiques sur les tissus intestinaux de ces trois animaux supplémentaires. Nous avons alors comparé les simulations utilisant ces paramètres avec les observations expérimentales des trois animaux, pour finalement montrer que notre modèle physique explique également la diversité de la morphologie intestinale entre différentes espèces.

Perspectives

Du point de vue de la physique, nous pouvons noter que le mécanisme décrit ici est particulièrement efficace pour induire le confinement de l'intestin dans l'abdomen, tout en assurant au tube une vascularisation portée par le mésentère. Mais ce mécanisme garantit aussi un enroulement régulier et continu, sans plier ou tordre (et donc obstruer) le tube lors de sa croissance. En ayant identifié et compris ce mécanisme, nous sommes plus à même de comprendre certaines anomalies congénitales, comme la malrotation intestinale qui touche près d'un nouveau-né sur cinq cents, ou de prédire l'occurrence de pathologies similaires, telles que le volvulus, qui peuvent apparaître chez l'adulte.

Notre modèle montre de façon quantitative comment la modification de paramètres biophysiques, comme le taux de croissance relative ou l'élasticité des tissus, peut altérer la forme du tube intestinal. Ainsi, l'approche physique permet d'isoler un petit nombre de propriétés sur lesquelles la sélection naturelle a pu agir pour faire évoluer l'organe à travers les espèces. Des morphologies d'intestin très différentes peuvent en effet être observées dans d'autres espèces qui n'ont pas été abordées dans notre étude. Par exemple chez l'amphibien Xenopus, le tube forme une spirale d'une remarquable régularité [7], et il semble raisonnable de penser que le mécanisme physique décrit dans notre étude s'applique également dans ce cas. En fait, il nous reste à étudier plus ouvertement toutes les morphologies possibles auxquelles peuvent conduire la croissance différentielle et autres contraintes mécaniques soulignées dans notre étude.

La méthodologie employée ici s'inspire clairement de celle élaborée par D'Arcy Thompson, le célèbre biomathématicien du début du xx^e siècle et auteur de l'éminent On growth and form [8]. Ce livre sans précédent illustre le rôle prépondérant des forces mécaniques et des mathématiques dans notre compréhension de la morphogenèse des organismes vivants. Les méthodes qu'il expose, fondées sur des analogies physiques et des transformations géométriques, contrastent singulièrement avec les techniques moléculaires et génétiques prédominantes dans les études qui ont cours en biologie du développement. Pourtant, l'approche de D'Arcy Thompson est bel et bien d'actualité, et il est fort probable qu'elle ouvre la porte à une plus large compréhension de la morphogenèse d'autres organes. Un effort conjoint doit être effectué pour déterminer à la fois les propriétés biophysiques qui contrôlent la morphogenèse et la signalisation moléculaire qui régit ces propriétés au niveau cellulaire. ◊ Gut looping morphogenesis

CONFLITS D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie Jérôme Flakowski, Anne-Ruxandra Carvunis, Daphne Warlamis, Romain Koszul, Guillaume Adelmant, Monique Savin et Michel Savin pour leurs commentaires sur ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Stainier DYR. No organ left behin: tales of gut development and evolution. Science 2005; 307: 1902-4.
- Savin T, Kurpios NA, Shyer AE, et al. On the growth and form of the gut. Nature 2011; 476: 57-62.
- Davis NM, Kurpios NA, Sun X, et al. The chirality of gut rotation derives from left-right asymmetric changes

NOUVELLE

In cauda venenum ou de l'importance de (la) TET(2)

Thomas Mercher, Cyril Quivoron, Lucile Couronné, William Vainchenker, Christian Bastard, Olivier A. Bernard

> Le gène ten-eleven-translocation (TET) 2 fait partie d'une famille de trois gènes codant pour des oxygénases dépendantes du Fe⁺⁺ et du 2-oxoglutarate. Les trois protéines, TET1, TET2 et TET3, sont capables d'oxyder les cytosines méthylées (5mC) en hydroxyméthylcytosines (5hmC) ainsi qu'en 5-formylcytosines (5fC) et 5-carboxylcytosines (5caC) [1-4] (Figure 1). Ces cytosines modifiées peuvent à leur tour être modifiées par des glycosylases ou par des désaminases. Le système de réparation par excision de base, base excision repair (BER), interviendrait ensuite pour réintroduire une cytosine non méthylée [5]. L'oxydation des méthylcytosines par les facteurs TET semble donc constituer une étape vers leur déméthylation active. De plus, les 5hmC pourraient posséder une fonction propre [6], et TET1 elle-même pourrait réguler la transcription indépendamment des 5hmC [7].

Des mutations acquises du gène TET2 ont d'abord été décrites dans les hémopathies malignes humaines de type myéloïde [8]. Elles sont observées dans tous ces sous-types d'hémopathies, avec une fréquence variable atteignant 50 % dans les échantillons de LMMC (leucémies myélomonocytaires chroniques). Ces mutations sont principalement des insertions ou des délétions de petite taille, entraînant des sauts de phase, et des mutations ponctuelles non-sens créant des codons stop. Des mutations faux-sens qui touchent des acides aminés conservés dans l'évolution ont également été décrites (Figure 2). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que TET2 est un gène de type suppresseur de tumeurs et que les mutations observées dans les hémopathies conduisent à une perte de fonction de la protéine. La présence de deux mutations, indiquant l'atteinte des deux copies du gène TET2, n'est détectée que chez une partie des patients, suggérant un effet d'une inactivation hétérozygote (haplo-insuffisance).

Pour étudier la fonction de Tet2, quatre groupes ont généré des lignées de souris invalidées pour *Tet2* chez lesquelles le gène peut être éteint de façon condiin the architecture of the dorsal mesentery. *Dev Cell* 2008 ; 15 : 134-45.

- Kurpios NA, Ibañes M, Davis NM, et al. The direction of gut looping is established by changes in the extracellular matrix and in cell:cell adhesion. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 8499–506.
- Liang H, Mahadevan L. The shape of a long leaf. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106: 22049-54.
- Liang H, Mahadevan L. Growth, geometry and mechanics of the blooming lily. *Proc Natl Acad Sci* USA 2011; 108: 5516–21.
- Schreiber AM, Cai L, Brown DD. Remodeling of the intestine during metamorphosis of *Xenopus laevis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 3720-5.
- Thompson DW. On growth and form. Cambridge : Cambridge University Press, 1917 : 794 p.

T. Mercher, C. Quivoron, L. Couronné, O. Bernard : Inserm U985, Villejuif, France ; Université Paris-Sud, Orsay, France ; Institut Gustave Roussy, Villejuif, France. W. Vainchenker : Inserm U1009, Villejuif, France ; Université Paris-Sud, Orsay, France ; Institut Gustave Roussy, Villejuif, France. C. Bastard : Inserm U918, Université de Rouen, Centre Henri Becquerel, Rouen, France. thomas.mercher@inserm.fr olivier.bernard@inserm.fr

tionnelle [9-12]. Les souris porteuses de mutations homozygotes de Tet2 transmises de façon germinale sont viables et leur phénotype est semblable à celles qui présentent une inactivation somatique du gène. L'invalidation de Tet2 entraîne une baisse du niveau global de 5hmC dans les cellules hématopoïétiques. Toutes les publications décrivent un phénotype similaire d'amplification des populations hématopoïétiques immatures (cellules souches et progéniteurs multipotents) ainsi que des anomalies de différenciation des lignées myéloïdes, mais aussi lymphoïdes B et T. Ces anomalies sont intrinsèques puisqu'elles sont observées chez des souris sauvages syngéniques greffées avec de la moelle osseuse de souris invalidées pour Tet2, et que des anomalies de différenciation des progéniteurs sont observées également dans des tests *in vitro*. De plus, les cellules invalidées pour Tet2 présentent un avantage compétitif par rapport aux cellules sauvages dans des expériences de greffe de moelle, aussi bien à partir de moelle totale que de cellules