

Facteurs de croissance et développement embryonnaire

Danièle EVAIN-BRION

Laboratoire de Physiopathologie du Développement, CNRS-Ecole Normale Supérieure
46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05.

Summary. *Growth factors and embryonic development.*

Embryonic development involves five major cellular events: division, migration, selective cell-cell contact, differentiation and planned cell death. Among these numerous cellular events the growth factors play a major role in regulating cell growth and differentiation by an autocrine or paracrine mechanism. The growth factors may be defined as polypeptides that stimulate cell proliferation directly through binding to specific high affinity cell membrane receptors. The best characterized group of growth factors includes the epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF), insulin and insulin-like growth factors (IGF) and the transforming growth factors TGF α and TGF β . These factors are chemically characterized by their requirement for intact disulfide bridges for biological activity and have a very broad target cell specificity.

A second group of polypeptide growth factors includes fibroblast growth factors (FGF) which bind specifically to heparin and induce angiogenesis both *in vivo* and *in vitro*. Their ability to stimulate cell proliferation is mainly restricted to cells from mesodermal and neuroectodermal origin, including endothelial cells.

Some very small peptides, called neuropeptide-like growth factors have been recently described.

The role of these growth factors during embryogenesis is studied *in vivo* in mouse embryos or in *Xenopus* eggs or *in vitro* in cell cultures such as murine or human teratocarcinoma cells. Some of these growth factors such as PDGF or TGF β are chemotactic agents, and are able to modify the extracellular matrix improving the cell migrations. For example in the *Xenopus*, FGF and TGF β induce the mesoderm from the ectoderm before gastrulation. In teratocarcinoma cells, PDGF and IGF II are secreted and modulate the growth and differentiation of endodermal cells.

Le développement embryonnaire fait intervenir cinq processus fondamentaux: la division, la migration, la reconnaissance et l'adhérence sélective des cellules entre elles, la différenciation et la mort cellulaire programmée.

L'interaction des cellules avec les molécules adhésives de la matrice extracellulaire et des cellules entre elles par les jonctions serrées ou par des signaux diffusibles joue donc un rôle essentiel dans l'organogenèse. Parmi ces signaux diffusibles, les facteurs de croissance, facteurs polypeptidiques, ont un rôle central pour réguler par un mécanisme autocrine ou paracrine la croissance et la différenciation cellulaire.

Principaux facteurs de croissance.

Les facteurs de croissance sont une famille de polypeptides, stimulant en règle générale la prolifération cellulaire, circulant avec ou sans transporteur sous une forme active ou inactive, mais dont l'action essentielle s'exerce au niveau cellulaire par la liaison et l'activation d'un récepteur spécifique. Cette interaction déclenche un message intracellulaire transitoire aboutissant éventuellement à la duplication de l'ADN et à la division cellulaire (Goustin *et al.*, 1986).

Un *premier groupe de facteurs de croissance* rassemble l'EGF (epidermal growth factor), le PDGF (platelet derived growth factor) les IGFs (insuline like growth factor) et le TGF α et β (transforming growth factor). Ces facteurs sont des polymères nécessitant la présence de ponts disulfures intacts pour être biologiquement actifs.

L'EGF est un polypeptide de 53 acides aminés stimulant *in vitro* la prolifération des cellules ectodermiques (keratinocytes), mésodermiques (granulosa, chondrocytes, fibroblastes) et endodermiques (hépatique, thyroïde) (Stoscheck et King, 1986). Des taux très élevés d'EGF sont en particulier présents dans la glande sous maxillaire de souris, principale source de production de cette hormone. *In vivo* l'EGF stimule la croissance et différenciation des cellules basales des épithéliums d'origine ectodermique. Son taux sérique est de 0,6 ng/ml chez l'homme, plus élevé dans le lait 25 ng/ml, très élevé dans le liquide prostatique 300 ng/ml.

Le PDGF est le facteur mitogénique des cellules dérivées du mésoderme (fibroblastes, muscles lisses) et de la glie (Ross *et al.*, 1986). Glycoprotéine cationique de PM 30 000, hétérodimère (A/B) chez l'homme, il est sécrété par les cellules circulantes (plaquettes monocytes, macrophage) mais aussi par les cellules endothéliales, mégacaryotiques, cellules placentaires humaines. Au niveau plasmatique il est lié à des protéines porteuses et notamment 2 macroglobulines. Son taux sérique est de 14 à 25 ng/ml ; indétectable au niveau urinaire et plasmatique, il est retrouvé dans le lait (20 ng/ml surtout en début de lactation).

Ces facteurs de croissance se lient à un récepteur dont la partie intracellulaire est une tyrosine phosphokinase (Hunter et Cooper, 1985). Cette interaction entraîne l'hydrolyse du phosphatidyl inositol diphosphate, l'accumulation de diacylglycérol et d'inositol triphosphate (Nishizuka, 1986) qui active la protéin kinase C. Cette dernière enzyme a un rôle clé dans la régulation du Ca⁺⁺ intracellulaire, activant entre autre l'échangeur Na⁺/H⁺ et l'ornithine décarboxylase.

Le TGF α est un facteur proche de l'EGF, se liant à son récepteur ayant des propriétés identiques à l'EGF, exprimé seulement par les cellules embryonnaires et tumorales (Todaro *et al.*, 1982).

Le TDGF β est un homodimère de 112aa pour chaque sous unité, très conservé au cours de la phylogénèse, décrit pour la première fois comme un facteur de transformation fibroblastique, il est connu maintenant pour modifier le comportement de presque tous les types cellulaires, régulant soit leur prolifération ou leur différenciation (Sporn *et al.*, 1987). Ainsi il inhibe ou stimule la prolifération des fibroblastes, inhibe la différenciation des adipocytes, stimule la

production de la matrice extracellulaire, stimule la formation du cartilage. Son récepteur est ubiquitaire. Sécrété par un grand nombre de cellules sous une forme inactive, il est activé par acidification, le mécanisme physiologique d'activation restant inconnu. Il semble avoir un rôle clef dans l'embryogenèse.

Les IgF (insuline like growth factor) regroupent des facteurs polypeptidiques ayant une action mimant celle de l'insuline sur ses cellules cibles, une activité mitogénique et de sulfatation. L'IgF I ou somatomédine C n'a pas de rôle connu dans la carcinogenèse et l'embryogenèse. L'IgF II est retrouvé à des taux très élevés pendant la vie fœtale mais son rôle reste à définir.

— Un *deuxième groupe* rassemble les facteurs polypeptidiques FGF (fibroblast growth factor) qui se lient de façon spécifique à l'héparine, identifiés sous une forme acide ou basique et qui ont la propriété d'induire l'angiogenèse *in vivo* ou *in vitro* (Lobb *et al.*, 1986). Ces FGF stimulent la croissance des cellules dérivées du mésoderme et du neurectoderme incluant les cellules endothéliales. Le FGF stimule l'angiogenèse normale (corps jaune, placenta, fœtus, cicatrisation) ou pathologique (rétinopathie diabétique, arthrite, néovascularisation tumorale). *In vitro*, par ailleurs, l'FGF augmente la migration et la mobilité des fibroblastes, modifie la forme et l'adhésivité cellulaire.

— *Certains petits peptides*, formés de 10 à 15 aa peuvent stimuler la croissance cellulaire, ces facteurs de croissance neuropeptidique, tel la bombésine ont été récemment décrits (Rozengurt *et al.*, 1983).

— La *prolifération et différenciation des cellules hématopoïétiques* est elle régulée par de nombreux facteurs polypeptidiques parmi lesquels les interleuki-nes, le CSF, les interférons (Dexter et Moore, 1986). Enfin le tableau 1 révèle que ces facteurs polypeptidiques décrits au départ comme facteurs de croissance ont une activité pléiotropique souvent inattendue.

TABLEAU 1

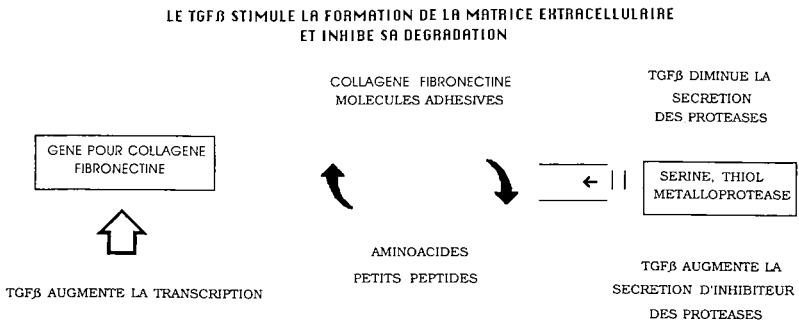
Multiples fonctions des facteurs de croissance.

Facteur de croissance	Effet prolifératif	Effet antiprolifératif	Autres effets
EGF	Kératinocytes Fibroblastes	Follicule pileux	Suppression de la sécrétion gastrique acide
FGF	Cellules du mésenchyme endothélium	Cellule du sarcome d'Ewing	Régulation de la fonction ovarienne et hypophysaire
TGF β	Fibroblastes Oestoblastes	Fibroblastes Cellules épithéliales Lymphocytes T	Suppression de la sécrétion d'immunoglobulines et de la stéroïdogénèse surrénalienne

Facteurs de croissance et embryogenèse.

L'étude du rôle de ces facteurs de croissance au cours de l'embryogenèse est bien sûr limitée par la quantité de matériel obtenue dans la phase pré- ou postimplantatoire de l'embryon. Elle se fait sur des modèles animaux, embryon de souris, œuf de xénope ou sur des cultures cellulaires, cellules de tératocarcinome murines ou humaines ayant de nombreuses propriétés communes avec les cellules du début de l'embryogenèse (Martin, 1980). Il faut souligner que certains facteurs de croissance tels le PDGF et le TGF β , ont une activité certes mitogénique sur les cellules cibles, mais aussi, fait essentiel dans l'embryogenèse, chimiotactique. Ils peuvent par ailleurs tel le TGF β entraîner un ramaniement de la matrice extracellulaire, favorisant ainsi les migrations cellulaires indispensables à l'organogenèse (tabl. 2).

TABLEAU 2. — Effet du TGF β sur la matrice extracellulaire.



Ainsi des études récentes révèlent chez le xénope que le FGF et le TGF β sont les inducteurs naturels de l'apparition du mésoderme à partir de l'ectoderme avant la gastrulation (Kimelman et Kirschner, 1987 ; Weeks et Melton, 1987).

La présence de TGF β a été, par ailleurs, détectée par immunohistochimie au cours de l'embryogenèse murine avec une augmentation nette au cours de la morphogenèse et de l'histogenèse des dérivés du mésoderme (Heine *et al.*, 1987).

Dans le système de différenciation *in vitro* des cellules de tératocarcinome, il apparaît que les cellules de l'endoderme pariétal sécrètent de l'IgF II qui semble agir par un mode paracrine sur la prolifération des cellules souches du bouton embryonnaire (Nagarajan *et al.*, 1987). Les cellules de l'endoderme pariétal sécrètent un facteur très proche du PDGF ayant une activité mitogénique et chimiotactique sur les cellules de l'endoderme viscéral (Grotendorst *et al.*, 1988).

Relation entre facteurs de croissance et oncogènes.

Les virus cancérogènes (particulièrement les rétrovirus) contiennent des séquences d'acides nucléiques appelés oncogènes, qui sont capables d'induire la transformation maligne de la cellule infestée. Les oncogènes viraux (v-onc)

codent pour des protéines qui sont semblables soit au facteur de croissance (sis-oncogène/chaîne B du PDGF), soit à leur récepteur (erb β -oncogène/EGF récepteur). Les protéines codées par les oncogènes entraînent une activation permanente des voies métaboliques, stimulées habituellement, mais de façon transitoire par les facteurs de croissance (Heldin et Westermark, 1984).

Des séquences nucléotidiques similaires à celles des oncogènes viraux ont été décelées dans l'ADN de tous les organismes multicellulaires. Ces séquences appelées protooncogènes sont impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire et le développement embryonnaire. Les proto-oncogènes peuvent accidentellement être activés en oncogènes cellulaires entraînant la transformation tumorale chez le sujet adulte. Ces oncogènes cellulaires activés codent pour des protéines très proches de leurs analogues d'origine viral et induisent la transformation cellulaire suivant un mécanisme semblable.

L'expression de certains proto-oncogènes a été démontrée au cours de l'embryogenèse, avec une expression très précise et transitoire suivant la différenciation tissulaire et le stade de développement (Slamon et Cline, 1984). Ainsi l'oncogène c-sis est exprimé tout au long du développement prénatal de la souris, c-src dans la deuxième partie de la gestation, c-fos durant les premières phases de l'embryogenèse, c-myc serait exprimé par l'ovocyte fécondé.

Il apparaît ainsi que facteurs de croissance et oncogènes sont sécrétés de façon transitoire à un moment donné de l'embryogenèse, agissant soit sur la même cellule (mécanisme autocrine), soit sur une cellule différente (mécanisme paracrine). Ils interagissent entre eux au niveau d'une même cellule. Ainsi le TGF β peut *in vitro* stimuler la croissance de certains fibroblastes en présence de PDGF et l'inhiber en présence d'EGF. Au niveau cellulaire par ailleurs, l'interaction d'un facteur de croissance avec son récepteur peut moduler la présence ou l'affinité d'un récepteur pour un autre facteur de croissance.

Une meilleure connaissance de ces signaux diffusibles et de leur interaction avec la matrice extracellulaire permettra donc de progresser dans l'étude de l'embryogenèse normale et pathologique.

*27^e Réunion de la Société française pour l'Etude de la Fertilité
Paris, 29, 30 sept., 1^{er} oct. 1988.*

Références

- DEXTER T. M., MOORE M., 1986. Growth and development in the haematopoietic system : The role of lymphokines and their possible therapeutic potential in disease and malignancy. *Carcinogenesis*, **7**, 509-516.
- GOUSTIN A. S., LEOF F. B., SHIPLEY G. D., MOSES H. L., 1986. Growth factors and cancer. *Cancer Res.*, **46**, 1015-1029.
- GROTENDORST G. R., HARVEY A. K., NAGARAJAN L., ANDERSON W. B., 1988. Differentiation dependent production of a PDGF like mitogen by endoderm cells derived from embryonal carcinoma cells. *J. Cell Phys.*, **134**, 437-444.
- HEINE V. I., MUNOZ E. F., LANDERS K., ELLINGSWORTH L. R., PETER LAM H. Y., THOMPSON N. L., ROBERTS A. B., SPORN M. B., 1987. Role of transforming growth factor- β in the development of the mouse embryo. *J. Cell Biol.*, **105**, 2861-2876.

- HELDIN C. H., WESTERMARK B., 1984. Growth factors: Mechanism of action and relation to oncogenes. *Cell*, **37**, 9-20.
- HUNTER T., COOPER J. A., 1985. Protein tyrosine kinases-A. *Rev. Biochem.*, **54**, 897-930.
- KIMELMAN D., KIRSCHNER M., 1987. Synergistic induction of mesoderm by FGF and TGF β and the identification of an mRNA coding for FGF in the early *Xenopus* embryo. *Cell*, **51**, 869-877.
- LOBB R., SASSE J., SULLIVAN R., SHING Y., D'AMORE P., JACOBS J., KLAGSBRUN M., 1986. Purification and characterization of heparin-binding endothelial growth factors. *J. biol. Chem.*, **261**, 1924-1926.
- MARTIN G., 1980. Teratocarcinoma and mammalian embryogenesis. *Science*, **209**, 768-775.
- NAGARAJAN L., ANDERSON W. B., NISSLEY P., RECHLER M. M., JETTEN A. M., 1987. Production of insulin like growth factor II (MSA) by endoderm like cells derived from embryonal carcinoma cells/Possible mediator of embryonic cell growth. *J. Cell Physiol.*, **105**, 480-486.
- NISHIZUKA Y., 1986. Perspectives on the role of protein kinase C in stimulus-responsive coupling. *J. nat. Cancer Inst.*, **76**, 363-370.
- ROSS R., RAINES E. W., BOWEN POPE D. F., 1986. The biology of platelet derived growth factor. *Cell*, **46**, 155-169.
- ROZENGURT E., SINNELT-SMITH J., 1983. Bombesin stimulation of DNA synthesis and cell division in cultures of Swiss 3T3 cells. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **80**, 2936-2940.
- SLAMON D. J., CLINE M. J., 1984. Expression of cellular oncogenes during embryonic and fetal development of the mouse. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **81**, 7141-7145.
- SPORN M. B., ROBERTS A. B., WAKEFIELD L. M., DE CROMBRUGGHE B., 1987. Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J. Cell Biol.*, **105**, 1039-1045.
- STOSCHECK C. M., KING L. E., 1986. Functional and structural characteristics of transforming proteins. *J. Cell Biochem.*, **31**, 135-152.
- TODARO G. J., MARQUARDT H., TWARDZIK D. R., JOHNSON P. A., FRYLING C. M., 1982. Transforming growth factor produced by tumor cells. In OWENS C., COFFEY J., BAYLIN T., *Tumor cell heterogeneity: origins and implications*. Bristol-Meyers Cancer Symposia. Vol. 4. Acad. Press, New York. pp. 205-224.
- WEEKS D. L., MELTON D. A., 1987. A maternal mRNA localized to the vegetal hemisphere in *Xenopus* eggs codes for a growth factor related to TGF- β . *Cell*, **51**, 861-867.
-