

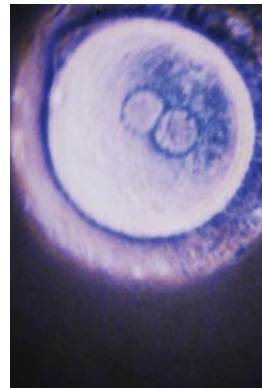
> La recherche sur les cellules souches laisse entrevoir d'extraordinaires possibilités de traitement des maladies dégénératives. En effet, la capacité de pouvoir dériver des cellules totipotentes à partir d'embryons humains donne la possibilité de développer une médecine régénérative, mais pose également le problème du statut de l'embryon qui, dans ce cas, est considéré comme matériel thérapeutique. Une alternative à l'utilisation des cellules souches embryonnaires humaines est l'utilisation de cellules souches prélevées chez l'adulte. Mais, dans un cas comme dans l'autre, nos connaissances sur les cellules totipotentes ou pluripotentes sont insuffisantes et de nombreuses questions doivent être résolues avant que l'on ne maîtrise la sélection et la différenciation de ces cellules dans un type cellulaire donné. Quelles sont les caractéristiques moléculaires d'une cellule souche adulte? Quels sont les mécanismes sous-jacents à la re-programmation d'une cellule? Quels sont les signaux qui contrôlent la multiplication et la différenciation des cellules souches? Un travail de recherche fondamentale est nécessaire pour éclaircir ces différents points. Dans ce contexte, la régénération des appendices chez les vertébrés offre un terrain d'investigation intéressant. Cet article se propose de faire le point sur nos connaissances concernant la régénération des pattes chez les tétrapodes et des nageoires chez les poissons. <

(→) m/s
2002, n° 10,
p. 917

La régénération correspond à la reconstitution, morphologique et fonctionnelle, d'une partie vivante qui a été détruite (→). Chez la plupart des vertébrés adultes, la capacité de régénérer est limitée à quelques tissus, comme par exemple le foie, la peau, les os et les muscles squelettiques. Il est toutefois possible d'observer la régénération des appendices (pattes, queue, nageoire, etc.) chez certains amphibiens et poissons. Cette régénération s'accompagne d'une restauration complète de la forme, de la segmentation et des fonctions de la portion amputée. Ce phénomène implique un renouvellement coordonné de nombreux types cellulaires à partir d'un petit

La régénération des appendices chez les vertébrés : un modèle expérimental ancien pour étudier les cellules souches chez l'adulte

Marcel Tawk, Sophie Vríz



M. Tawk :
Laboratoire de biologie moléculaire de la différenciation.
S. Vríz : UFR de biologie, Université Denis Diderot-Paris 7,
Boîte courrier 7041,
2, place Jussieu,
75005 Paris, France.
vriz@paris7.jussieu.fr

pool de cellules. Concernant l'origine des cellules qui vont participer à la régénération, les hypothèses et la nomenclature ont varié. Il peut s'agir aussi bien de cellules souches indifférenciées, recrutées dans le moignon et migrant vers l'épiderme de cicatrisation, que de cellules différenciées subissant une étape de dédifférenciation accompagnée d'un retour à la prolifération. Ce sont surtout les travaux fondés sur la seconde hypothèse qui en ont démontré définitivement l'existence [1, 2]. Pour désigner l'ensemble des cellules qui vont être mobilisées au cours de la régénération, nous utiliserons ici le terme de cellules de réserve qui paraît le plus commode, même s'il a parfois servi à désigner soit les cellules indifférenciées, soit les cellules subissant une dédifférenciation, soit les deux.

Régénération des appendices, phylogénie et ontogénie

En 1768, L. Spallanzani, qui le premier observa la régénération des pattes chez les salamandres, s'interrogeait déjà sur le fait que ce phénomène soit restreint à certaines espèces [3]. Le phénomène de régénération est



très répandu parmi les métazoaires [4] et apparaît dans des branches éloignées chez les vertébrés (Figure 1). Le phénomène de régénération des appendices correspond-t-il à plusieurs émergences au cours de l'évolution ou bien à un processus ancestral qui a été perdu dans certains phylums? S'il correspond à un mécanisme ancestral, ce qui est le plus probable [5], la comparaison des circuits moléculaires impliqués dans le recrutement de cellules de réserve doit permettre de comprendre pourquoi cette faculté est perdue dans certains phylums, en particulier chez les mammifères [6]. Chez certaines espèces, la capacité de régénérer décroît avec le développement de l'individu pour disparaître complètement chez l'adulte. Ainsi, chez les anoures comme chez le xénope, la capacité de régénérer les pattes est totale avant la métamorphose mais décroît ensuite progressivement depuis la partie distale vers la partie proximale [7]. Il a été montré, par des expé-

riences de greffes de pattes de larves sur des xénope adultes et *vice versa*, suivies d'amputation, que la capacité de régénérer est intrinsèque à la patte et ne dépend pas de l'âge de l'animal qui la porte. Chez les amniotes (sauropsides et mammifères), il semble que la capacité de régénération des membres soit perdue encore plus tôt au cours de l'ontogenèse, puisque celle-ci est observée *in utero* pour des stades de développement qui précèdent la condensation du cartilage chez la souris [8, 9]. Chez les oiseaux, la régénération des pattes n'a lieu *in ovo* que si l'amputation porte sur l'extrémité non différenciée et si la voie FGF (*fibroblast growth factor*) est stimulée artificiellement; en effet, il semble que la re-formation de la crête ectodermique apicale ou AER (*apical epidermal ridge*) ne soit pas possible [10, 11]. Chez les souriceaux nouveau-nés, il est possible d'observer une régénération de la dernière phalange des doigts [12-14]. Chez l'homme, ce phénomène

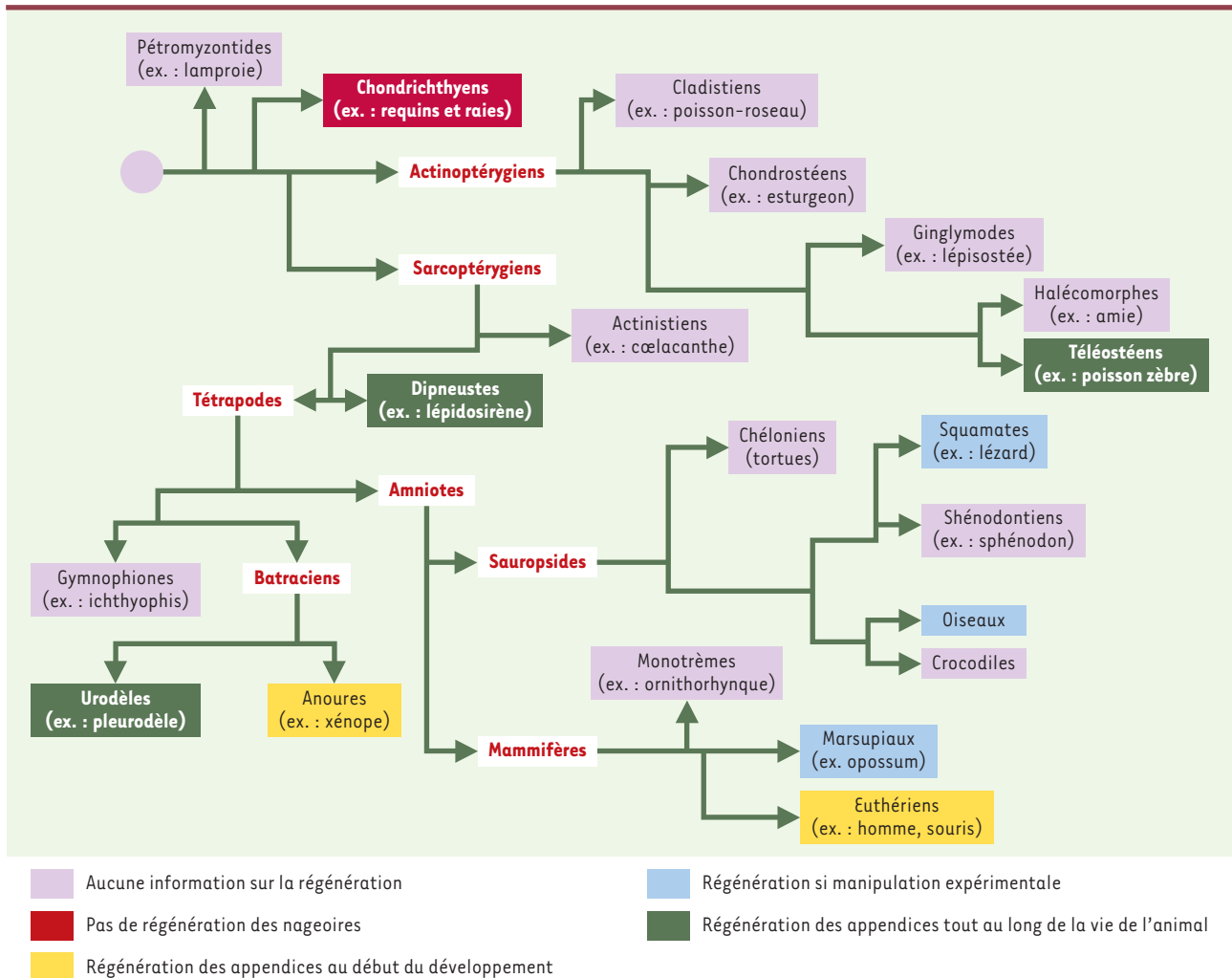


Figure 1. Régénération des nageoires et des pattes chez les vertébrés.



est restreint aux sept premières années et dépend de la présence des cellules souches de l'ongle qui fournissent un ensemble de cellules aptes à proliférer [15] ou – de manière plus générale – stimulent la croissance osseuse [16]. Des expériences récentes, réalisées sur des myotubes murins en culture, montrent qu'ils sont capables de se « dédifférencier » et d'entrer dans des cycles cellulaires prolifératifs sous l'effet d'une fraction protéique d'un extrait de blastème de régénération de pleurodèle [17], ce qui montre que les cellules de mammifères n'ont pas perdu cette capacité de dédifférenciation. L'entrée de cellules dans des cycles de division cellulaire semble être un élément essentiel à la régénération; cela implique la présence et la réponse de cellules aux signaux que provoque l'amputation. Il semble que la perte de ces cellules (absence ou non-réponse à un signal) se fasse à des moments différents de l'ontogenèse, d'une espèce à l'autre. Chez l'adulte, la régénération des appendices est restreinte aux urodèles et aux poissons (Tableau I).

Les différentes étapes

La régénération des appendices a été étudiée à l'échelon cellulaire chez le pleurodèle adulte, le xénope juvénile et, plus récemment, chez le poisson zèbre pour lequel la régénération des nageoires passe par les mêmes étapes que la régénération des membres chez les amphibiens (Figure 2). Le phénomène de régénération inclut des étapes de cicatrisation, de dédifférenciation et/ou de recrutement de cellules souches, de migration et de prolifération cellulaire, de différenciation cellulaire et d'organogenèse [19].

La cicatrisation est très rapide et se caractérise par la migration de cellules épidermiques à la surface du moignon; chez l'amphibien *Xenopus laevis*, en moins de 12 heures, ces cellules forment une couche mono- ou bicellulaire qui recouvre la surface amputée. Les cellules ne commenceront à se multiplier qu'après la fermeture de cette couche superficielle [20, 21]. La régénération va dépendre de la présence de cet épiderme de cicatrisation pendant toute la période de prolifération cellulaire. On a récemment montré que cet épiderme exprimait différents FGF, dont les signaux, relayés dans le blastème de régénération par FGFR1 (*fibroblast growth factor receptor 1*) étaient indispensables à la multiplication des cellules du blastème [18, 22]. Ainsi, l'expression, dans la nageoire, de la forme mutée dominante négative du récepteur du FGF (facteur dans lequel le domaine tyrosine kinase intracellulaire a été supprimé) n'a aucun effet sur la cicatrisation mais bloque la formation du blastème (Figure 3B) ou son développement (Figure 3D).

Formation du blastème

La prolifération cellulaire est précédée d'une phase de mobilisation des cellules de réserve [1]. La dédifférenciation cellulaire est la première hypothèse qui ait été avancée sur la base d'observations en microscopie électronique [23]. D'autres auteurs ont ensuite envisagé la présence de cellules souches recrutées après amputation [24], ces deux possibilités n'étant pas exclusives l'une de l'autre. David Stocum suggère que la formation du blastème se fait à partir d'un mélange de ces deux catégories de cellules: les cellules souches dont la prolifération est activée par l'amputation, et des cellules matures qui se dédifférencient et retournent dans des cycles de division cellulaire mais

conservent une information de position acquise au cours du développement embryonnaire, qui sera utilisée lors de la régénération de l'appendice [25]. Sur cet aspect de la régénération, les travaux les plus importants ont été réalisés par le groupe de Jeremy Brockes, qui s'est focalisé sur la dédifférenciation des myotubes chez le pleurodèle [1, 26]. Ce groupe a récemment démontré que les myotubes plurinucléés se transformaient en cellules mononucléées indif-

Poissons téléostéens Poisson zèbre	Régénération des nageoires tout au long de la vie de l'animal
Urodèles Pleurodèle	Régénération des pattes tout au long de la vie; quelques exceptions chez les salamandres pour lesquelles la régénération est hétéromorphique après la métamorphose
Anoures Xénope	Régénération des pattes complète avant la métamorphose, hétéromorphique après la métamorphose
Mammifères Souris	Régénération des pattes avant la condensation du cartilage Régénération périnatale de la dernière phalange des doigts
Marsupiaux Opossum	Régénération périnatale des pattes si greffe préalable de nerfs
Squamates Lézard	Régénération hétéromorphique des pattes si greffe préalable de nerfs
Oiseaux Poule	Régénération <i>in ovo</i> si l'amputation affecte des tissus non différenciés et s'il y a stimulation de la voie de signalisation FGF (<i>fibroblast growth factor</i>)

Tableau I. Régénération des appendices et ontogenèse.

férenciées par bourgeonnement des myotubes, sans division cellulaire [2]. Un extrait protéique du blastème de régénération de pleurodèle est capable d'induire également la dédifférenciation de myotubes murins et leur retour vers des cycles cellulaires prolifératifs [17]. Au niveau de l'extrémité amputée, la matrice extracellulaire se désorganise et libère des cellules mésenchymateuses. L'activation de plusieurs protéases favorise la dégradation de la matrice. Chez le poisson zèbre, les cellules mésenchymateuses des deux segments de nageoire sous-jacents à l'amputation se désorganisent (→). Certaines subissent une histolyse, d'autres migrent vers l'épiderme de cicatrisation. Ces cellules mésenchymateuses vont rentrer dans des cycles de division cellulaire et former rapidement un amas de cellules indifférenciées appelé blastème de régénération. L'hypophysectomie inhibe la formation du blastème, ce qui montre que le système endocrinien est impliqué dans ce processus [27]. Cet aspect est toutefois peu documenté.

Différenciation et morphogenèse

Chez les batraciens, le signe initial de la différenciation est la formation de cartilage autour de l'extrémité osseuse préservée, alors que les cellules les plus distales du blastème continuent de se diviser. Cette phase aboutit à la formation d'un ensemble de tissus structurés et fonctionnels dans un laps de temps relativement court (quelques jours), et dans des conditions qui permettent une intervention aisée de l'expérimentateur. Chez le poisson zèbre, ce processus aboutit en deux ou trois semaines à la régénération d'une nageoire caudale amputée.

Il est intéressant de noter qu'une information de position est conservée par les cellules du blastème de régénération. La partie reconstruite correspond exactement à la partie amputée quel que soit le site (proximo-distal) de l'amputation; l'orientation dorso-ventrale de l'appendice régénéré est également conservée. Enfin, la taille finale de la partie reconstruite correspond à la taille de l'appendice avant l'amputation.

À l'échelon moléculaire, ce sont essentiellement les étapes de croissance du blastème et de morphogénèse qui ont été étudiées.

L'expression de plusieurs types de gènes a été testée au cours de la régénération: gènes impliqués dans la multiplication cellulaire, comme les proto-oncogènes *c-myc* ou *c-ras*, facteurs de croissance (FGF, BMP ou *bone morphogenic protein*), facteurs de transcription HOX (*homeobox*), MSX, RAR (*retinoic acid receptor*) [28]. Dans tous les cas, il a été montré que des gènes exprimés au cours du développement dans la patte ou la nageoire en formation étaient ré-exprimés au cours de la formation de l'appendice par régénération. Cependant, les chronologies d'expression entre le développement et la régénération peuvent différer. C'est le cas, par exemple, des gènes *HoxA9* et *HoxA13* qui sont exprimés ensemble dans les cellules mésenchymateuses du moignon juste après amputation et dont l'expression ultérieure est différente de celle observée lors du développement embryonnaire du membre, tant d'un point de vue spatial que temporel [29]. L'expression de certains gènes est spécifique de la morphogénèse de la patte par régénération, comme par exemple *HoxC10* [30].

Rôle du système nerveux dans la régénération des appendices

La formation du blastème est dépendante d'une innervation correcte de l'appendice. Une section des fibres nerveuses de la moelle épinière bloque la régénération à cette étape [31, 32]. Marcus Singer a montré une relation directe entre le nombre de fibres nerveuses inner-

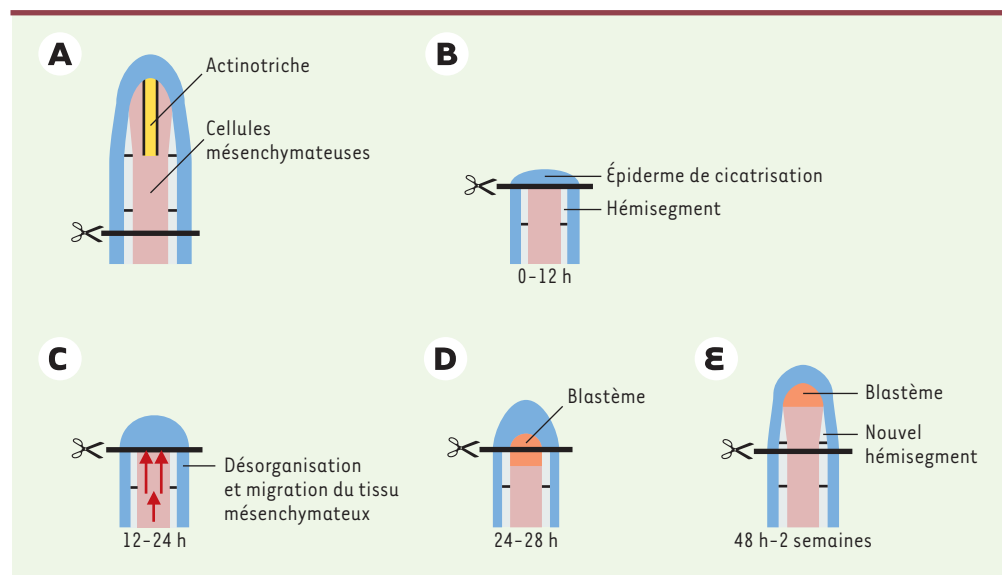


Figure 2. Les différentes étapes de la régénération. Chez le poisson zèbre maintenu à 28 °C, la régénération d'une nageoire partiellement amputée se fait selon la séquence suivante. **A.** Structure de la nageoire avant amputation. **B.** Cicatrisation. **C.** Recrutement des cellules de réserve. **D.** Formation du blastème de régénération. **E.** Différenciation et morphogénèse. La régénération est complète au bout de trois semaines (d'après [18]).

vant l'appendice et l'efficacité de régénération, aussi bien chez les urodèles [33] que chez les poissons téléostéens [34]. Par ailleurs, il semble que la nature des fibres nerveuses (motrices ou sensorielles) ne soit pas importante [35]. Il avait été postulé qu'un facteur mitogène (que M. Singer proposait malencontreusement d'appeler *neurotrophic factor* ou NTF) sécrété par les nerfs stimulait la prolifération des cellules de réserve et la formation du blastème de régénération [31]. Le rôle de différents membres de la famille des neurégulines (NRG) a été testé au cours du processus de régénération, par exemple le *glial growth factor* (GGF) [35] et, plus récemment, une NRG-1 [36]. Il a également été montré que l'axone sécrétait de la transferrine dans le blastème, ce qui pouvait stimuler les divisions cellulaires [37]. En 1930, de très élégantes expériences de greffes réalisées par E. Guyénot sur le triton avaient montré que la greffe d'un nerf brachial sur un territoire compétent induisait la régénération d'une patte. Ainsi, lorsque le nerf brachial était dévié vers une incision de la région de l'épaule, un membre accessoire apparaissait. Si le nerf était dévié loin du membre, il n'y avait pas d'induction du membre surnuméraire sauf si du tégument appartenant au territoire du membre avait été préalablement greffé [38]. Une dénervation après la formation du blastème réduit l'activité mitotique au sein du blastème de régénération, mais n'empêche pas la différenciation et la morphogénèse de l'appendice qui est toutefois plus petit. Il est possible également d'induire la régénération d'une

patte de lézard ou de xénope adulte par une greffe préalable de nerfs dans la patte [39-41]. Une patte d'opossum (étude réalisée sur *Didelphys virginiana*) amputée après la naissance dans sa partie tibiale régénère seulement (8 cas sur 30) si une greffe préalable de cortex cérébral a été réalisée dans la patte [42]. Cela indique que, chez les marsupiaux comme chez les squamates, la capacité de régénérer les pattes n'est pas complètement perdue et peut être stimulée par l'apport de fibres nerveuses.

Ces résultats suggèrent que la présence des fibres nerveuses est indispensable au recrutement des cellules de réserve, à leur entrée dans des cycles cellulaires prolifératifs, et au maintien de la prolifération cellulaire, mais pas aux étapes ultérieures de la régénération.

La compréhension du rôle du système nerveux dans la régénération des membres doit également permettre d'expliquer le développement des membres dépourvus de fibres nerveuses. Si l'on retire une partie du tube neural chez un embryon d'axolotl, on observe le développement de pattes non innervées (→). Ces pattes sont capables de régénérer (en l'absence de système nerveux) [43]; toutefois, si ces pattes sont transplantées sur un receveur et sont innervées par le nerf brachial du receveur, leur régénération devient dépendante de l'innervation [44]. Tout se passe comme si l'innervation apportait une empreinte aux cellules, qui ensuite ne peuvent plus modifier leur programme génétique (dédifférenciation et prolifération cellulaire) en l'absence de

(→) m/s
2003, n° 3,
p. 290

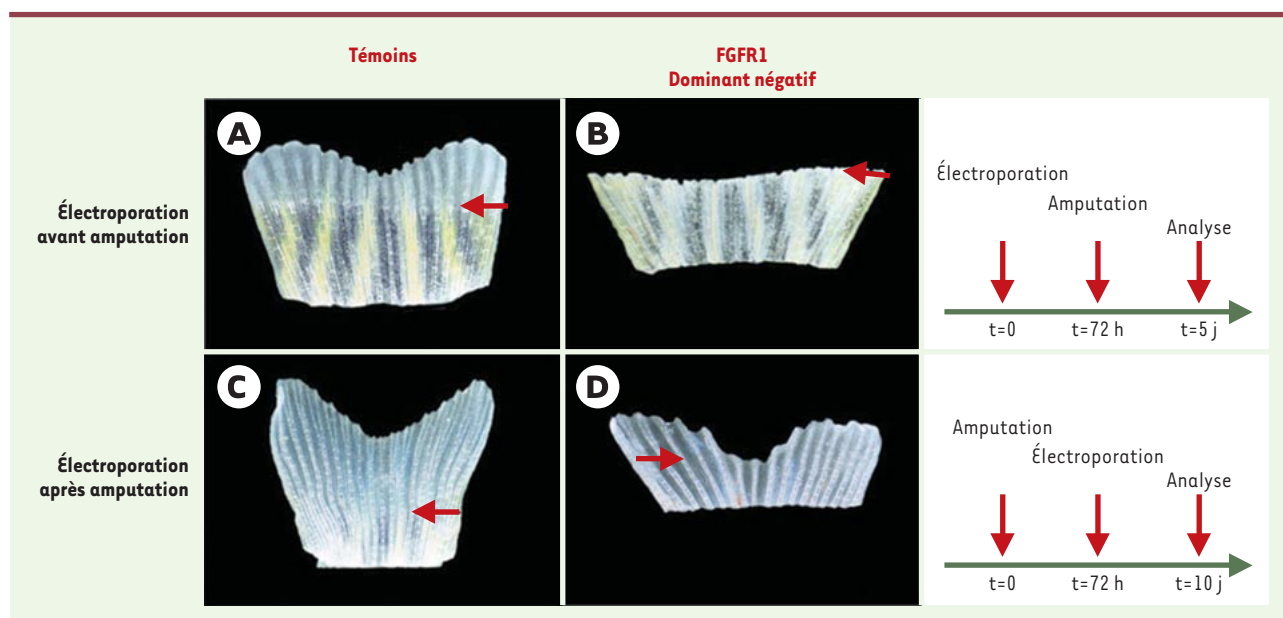


Figure 3. Rôle de FGFR1 (fibroblast growth factor receptor 1) dans la formation du blastème de régénération. L'ADN codant pour une forme mutante dominante négative de FGFR1 a été introduit par électroporation dans les cellules de la nageoire avant (B) ou après (D) amputation partielle de la nageoire caudale de poisson zèbre. Le blocage de la voie de signalisation FGF inhibe la formation du blastème et sa croissance.

fibres nerveuses. Ainsi, après une première innervation, la patte devient dépendante de la présence de nerf pour sa régénération.

Comment l'étude de la régénération des appendices peut-elle permettre de caractériser les cellules souches?

Les cellules de réserve sont potentiellement de deux types: (1) des cellules différenciées qui vont perdre leurs caractères de différenciation et entrer dans des cycles cellulaires prolifératifs; (2) des cellules souches indifférenciées, recrutées au niveau du moignon, qui vont migrer vers l'épiderme de cicatrisation et participer à la formation du blastème de régénération. Le poisson zèbre semble être un bon modèle pour identifier des marqueurs moléculaires qui permettront de caractériser les cellules de réserve dans la nageoire amputée. En effet, la génétique et la génomique sont très étudiées sur ce modèle animal [45] (→) et différents outils permettent d'altérer l'expression des gènes: morpholinos pour bloquer sélectivement l'expression [46], ARN cagés pour induire l'expression d'un ARN [47], mais aussi marquage sélectif de sous-populations de cellules *in vivo* par électroporation de vecteurs d'ADN [22].

Conclusions

L'origine et la nature des signaux qui induisent la régénération sont encore à définir. On ne sait pas notamment si ce sont des facteurs permissifs qui ont été perdus au cours de l'ontogenèse chez certaines espèces, ou bien des facteurs inhibiteurs acquis au cours du développement. S'il paraît évident qu'une meilleure connaissance de la matrice extracellulaire et du cytosquelette va permettre de répondre à un certain nombre de questions, le rôle du système nerveux dans le maintien des structures biologiques et dans le remplacement de celles-ci est un élément clé de la compréhension du phénomène de régénération. ♦

SUMMARY

Regeneration of vertebrate appendage: an old experimental model to study stem cells in the adult

The application of stem cell therapy to cure degenerative diseases offers immense possibilities, but the research in this field is the subject of ethical debates raised by the question of destructive research on early human embryos. Stem cells taken in the adult constitute an alternative to human embryonic stem cells, but our knowledge on totipotent or pluripotent cells is currently insufficient. Furthermore, many questions must be sol-

ved before selection and differentiation of these cells in a given cellular type can be controlled on a routine basis. What are the molecular characteristics of an adult stem cell? What are the mechanisms involved in cell reprogramming? Which signals control stem cell replication and differentiation? Basic research activities must be carried out in order to clarify all these points. In this context, the regeneration of vertebrate appendages provides a model for this type of research. The regeneration process is defined by both the morphological and functional reconstruction of a part of a living organism, which has previously been destroyed. But why are some vertebrates able to regenerate complex structures and others apparently not? Among most vertebrates, the capacity to regenerate is limited to some tissues. It is however possible to observe the regeneration of appendages (limb, tail, fin, jaw, etc.) among several amphibians and fish. This regeneration leads to re-forming of the amputated part with a complete restoration of its shape, segmentation and function. Why is the amputation of limbs not followed by regeneration in mammals and birds: absence of stem cells, absence of recruitment signals for these cells, or absence of signal receptivity? This review constitutes a report on the current understanding of the basis of on regeneration of legs in tetrapods and of fins in fish with an emphasis in the role of the nervous system in this process. ♦

RÉFÉRENCES

1. Brookes JP. Amphibian limb regeneration: rebuilding a complex structure. *Science* 1997; 276: 81-7.
2. Velloso CP, Kumar A, Tanaka EM, Brookes JP. Generation of mononucleate cells from post-mitotic myotubes proceeds in the absence of cell cycle progression. *Differentiation* 2000; 66: 239-46.
3. Dinsmore CE. Urodele limb and tail regeneration in early biological thought: an essay on scientific controversy and social change. *Int J Dev Biol* 1996; 40: 621-7.
4. Alvarado AS. Regeneration in the metazoans: why does it happen? *BioEssays* 2000; 22: 578-90.
5. Goss RJ. The evolution of regeneration: adaptive or inherent? *J Theor Biol* 1992; 159: 241-60.
6. Brookes JP, Kumar A, Velloso CP. Regeneration as an evolutionary variable. *J Anat* 2001; 199: 3-11.
7. Muneoka K, Holler-Dinsmore G, Bryant SV. Intrinsic control of regenerative loss in *Xenopus laevis* limbs. *J Exp Zool* 1986; 240: 47-54.
8. Wanek N, Muneoka K, Bryant SV. Evidence for regulation following amputation and tissue grafting in the developing mouse limb. *J Exp Zool* 1989; 249: 55-61.

(→) m/s
2002, n° 4,
p. 448



9. Chan WY, Lee KK, Tam PP. Regenerative capacity of forelimb buds after amputation in mouse embryos at the early-organogenesis stage. *J Exp Zool* 1991; 260: 74-83.
10. Taylor GP, Anderson R, Reginelli AD, Muneoka K. FGF-2 Induces regeneration of the chick limb bud. *Dev Biol* 1994; 163: 282-4.
11. Kostakopoulou K, Vogel A, Brickell P, Tickle C. Regeneration of wing bud stumps of chick embryos and reactivation of *Msx-1* and *Shh* expression in response to FGF-4 and ridge signals. *Mech Dev* 1996; 55: 119-31.
12. Borgens RB. Mice regrow the tips of their foretoes. *Science* 1982; 217: 747-50.
13. Reginelli AD, Wang Y, Sassoon D, Muneoka K. Digit tip regeneration correlates with regions of *Msx1* (*Hox 7*) expression in fetal and newborn mice. *Development* 1995; 121: 1065-76.
14. Zhao W, Neufeld DA. Bone regrowth in mice stimulated by nail organ. *J Exp Zool* 1995; 172: 1-10.
15. Illingsworth CM. Trapped fingers and amputated fingers tips in children. *J Pediatr Surg* 1974; 9: 853-8.
16. Mohammad KS, Day FA, Neufeld DA. Bone growth is induced by nail transplantation in amputated proximal phalanges. *Calcif Tissue Int* 1999; 65: 408-10.
17. McGann CJ, Odelberg SJ, Keating MT. Mammalian myotube dedifferentiation induced by newt regeneration extract. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13699-704.
18. Poss KD, Shen J, Nechiporuk A, et al. Roles for FGF signaling during zebrafish fin regeneration. *Dev Biol* 2000; 222: 347-58.
19. Géraudie J, Ferretti P. Cellular and molecular basis of regeneration. From invertebrates to humans. New York: John Wiley and Sons, 1998 : 458 p.
20. Poelo G, Brown CW, Laforest L, Akimenko MA. Cell proliferation and movement during early fin regeneration in zebrafish. *Dev Dyn* 2001; 221: 380-90.
21. Santos-Ruiz L, Santamaria JA, Ruiz-Sanchez J, Becerra J. Cell proliferation during blastema formation in the regenerating teleost fin. *Dev Dyn* 2002; 223: 262-72.
22. Tawk M, Tuil D, Torrente Y, Vriz S, Paulin D. High-efficiency gene transfer into adult fish: a new tool to study fin regeneration. *Genesis* 2002; 32: 27-31.
23. Chalkey DT. A quantitative histological analysis of forelimb regeneration in *Triturus viridescens*. *J Morphol* 1954; 94: 21-70.
24. Cameron JA, Hilgers AR, Hinterberger TJ. Evidence that reserve cells are a source of regenerated adult newt muscle *in vitro*. *Nature* 1986; 321: 607-10.
25. Stocum DL. Limb regeneration: re-entering the cell cycle. *Curr Biol* 1999; 9: R644-6.
26. Ferretti P, Brocques JP. Cell origin and identity in limb regeneration and development. *Glia* 1991; 4: 214-24.
27. Schotté OE, Wiber JF. Effects of adrenal transplants upon forelimb regeneration in normal and in hypophysectomized adult frogs. *J Embriol Exp Morphol* 1958; 6: 247-69.
28. Géraudie J, Ferretti P. Gene expression during amphibian limb regeneration. *Int Rev Cytol* 1998; 180: 1-50.
29. Gardiner DM, Bryant SV. Molecular mechanisms in the control of limb regeneration: the role of homeobox genes. *Int J Dev Biol* 1996; 40: 797-805.
30. Carlson MRJ, Komine Y, Bryant SV, Gardiner DM. Expression of *Hoxb13* and *Hoxc10* in developing and regenerating *Axolotl* limbs and tails. *Dev Biol* 2001; 229: 396-406.
31. Brocques JP. Mitogenic growth factors and nerve dependence of limb regeneration. *Science* 1984; 225: 1280-7.
32. Brocques JP. The nerve dependence of amphibian limb regeneration. *J Exp Biol* 1987; 132: 79-91.
33. Singer M. Neurotrophic control of limb regeneration in the newt. *Ann NY Acad Sci* 1974; 228: 308-22.
34. Géraudie J, Singer M. Relation between nerve fiber number and pectoral fin regeneration in teleost. *J Exp Zool* 1977; 199: 1-8.
35. Brocques JP, Kintner CR. Glial growth factor and nerve-dependent proliferation in the regeneration blastema of Urodele amphibians. *Cell* 1986; 45: 301-6.
36. Wang, L, Marchionni MA, Tassava RA. Cloning and neuronal expression of a type III newt neuregulin and rescue of denervated, nerve-dependent newt limb blastemas by rhGGF2. *J Neurobiol* 2000; 43: 150-8.
37. Munaim SI, Mescher AL. Transferrin and the trophic effect of neural tissue on amphibian limb regeneration blastemas. *Dev Biol* 1986; 116: 138-42.
38. Guyénot E, Ponce A. Territoires de régénération et transplantation. *Bull Biol Fr Belg* 1930; 64: 251-87.
39. Simpson S. Induction of limb regeneration in the lizard, *lygosoma laterale*, by augmentation of the nerve supply. *Proc Soc Exp Biol Med* 1961; 107: 108-11.
40. Bryant SV, Wozny KJ. Stimulation of limb regeneration in the lizard *Xantusia vigilis* by means of ependymal implants. *J Exp Zool* 1974; 189: 339-52.
41. Singer M. Induction of regeneration of the forelimb of the post-metamorphosis frog by augmentation of the nerve supply. *J Exp Zool* 1954; 126: 419-71.
42. Mizell M. Limb regeneration: induction in the newborn opossum. *Science* 1968; 161: 283-6.
43. Yntema CL. Regeneration in sparsely innervated and aneurogenic forelimbs of *Amblystoma larvae*. *J Exp Zool* 1959; 140: 101-23; 1959; 142: 423-439.
44. Thornton CS, Thornton MT. Recuperation of regeneration in denervated limbs of *Ambystoma larvae*. *J Exp Zool* 1970; 173: 293-302.
45. Fishman M. Zebrafish: the canonical vertebrate. *Science* 2001; 294: 1290-1.
46. Nasevicius A, Ekker SC. Effective targeted gene knockdown in zebrafish. *Nat Genet* 2000; 26: 216-20.
47. Ando H, Furuta T, Tsien RY, Okamoto H. Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos. *Nat Genet* 2001; 28: 317-25.

TIRÉS À PART

S. Vriz