

## Le facteur de transcription ATF2 coopère avec v-Jun au cours de l'oncogenèse

La protéine ATF2 (*activating transcription factor 2*) appartient à la famille des facteurs de transcription « bZip » qui se fixent à l'ADN sous forme de dimères grâce à un domaine de liaison caractéristique comprenant une partie basique « b » d'interaction directe associée du côté carboxy-terminal à une hélice  $\alpha$  de dimérisation de type glissière de leucines (*leucine zipper*). ATF2 contrôle l'expression de gènes contenant des motifs palindromiques à 8 paires de bases de type ATF/CREB dans leur promoteur (*m/s 1996, n° 4, p. 516*) [1, 2] et agit, soit sous forme d'homodimère, soit sous forme d'hétérodimère avec d'autres protéines bZip, dont l'oncoprotéine c-Jun [3, 4].

La fonction biologique d'ATF2 est mal comprise. La protéine est présente constitutivement dans la plupart des tissus et son activité semble essentiellement réglée au niveau post-transcriptionnel, par phosphorylation par les MAP kinases de type JUNK/SAPK et p38, en réponse à l'exposition des cellules à des agents de *stress* génotoxiques [5, 6]. Bien qu'ATF2 constitue un partenaire présumé de l'oncoprotéine c-Jun et de son homologue viral aviaire v-Jun [7], son implication dans l'oncogenèse induite par Jun, n'avait jamais été mise en évidence.

Récemment, nos expériences [8] ont montré que, bien que ATF2 soit incapable par lui-même de transformer les cultures primaires de fibroblastes embryonnaires aviaires, sa surexpression exacerbe la transformation par v-Jun. De façon remarquable, la coopération ATF2 + v-Jun ainsi observée stimule spécifiquement la prolifération indépendante des facteurs de croissance (croissance dite « en bas sérum »), sans affecter de façon significative un autre phénotype majeur caractéristique des cellules transfor-

mées qui est la capacité de croître en absence de support (« en agar ») [9]. Ces résultats nous ont suggéré l'hypothèse selon laquelle l'augmentation du niveau d'activité de l'hétérodimère ATF2-v-Jun serait directement responsable de l'indépendance des cellules cancéreuses vis-à-vis des facteurs de croissance.

Nous avons alors accumulé des arguments en faveur de cette hypothèse. Nous avons tout d'abord répété les expériences de coopération avec un mutant de dimérisation de v-Jun, appelé v-Jun-m1, qui présente une affinité accrue envers ATF2: la substitution de v-Jun par v-Jun-m1 entraîne un net gain de croissance « en bas sérum ». Puis nous avons mesuré l'activité transactivatrice dépendante

de l'hétérodimère ATF2-v-Jun dans les cellules transformées par les diverses combinaisons naturelles et mutantes de ces protéines. Pour cette analyse, nous avons utilisé un gène rapporteur codant pour la luciférase, sous le contrôle d'un promoteur artificiel minimum et contenant un motif à 8 paires de bases pour lequel le dimère ATF2-v-Jun possède une forte affinité. L'activité d'un tel promoteur est proportionnelle à la quantité d'hétérodimère ATF2-v-Jun actif dans la cellule. Le résultat montre que la substitution de v-Jun par v-Jun-m1 correspond là aussi à un gain de transactivation. Mises ensemble, les données de croissance « en bas sérum » et de transactivation montrent une corrélation directe entre

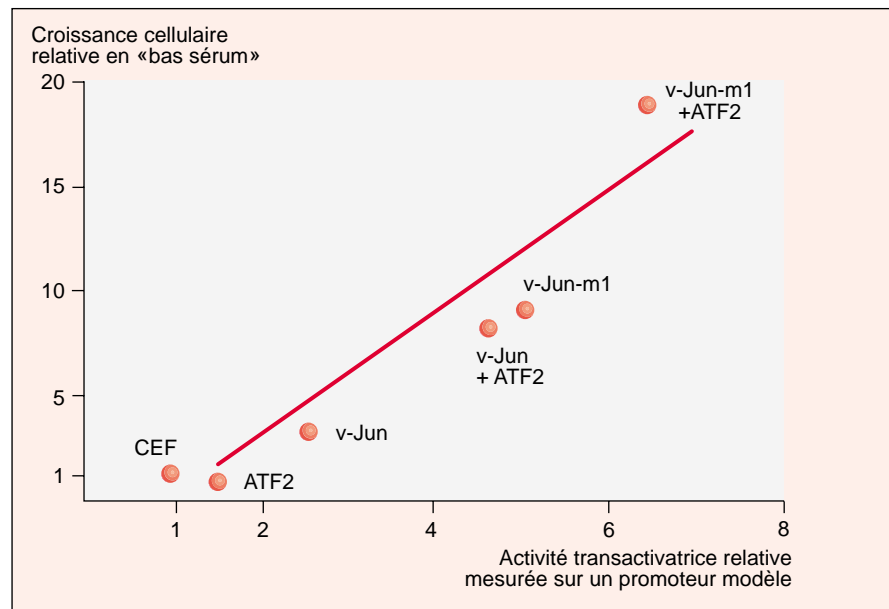


Figure 1. **Corrélation directe entre croissance en « bas sérum » et activité transactivatrice sur un motif à forte affinité pour l'hétérodimère ATF2-Jun.** Les cultures primaires de fibroblastes aviaires surexpriment de façon stable différentes combinaisons des protéines ATF2 et v-Jun(-m1), comme indiqué. CEF: culture primaire aviaire non transformée (chicken embryo fibroblasts).

ces deux phénomènes, dans les différentes combinaisons ATF2 + v-Jun transformantes analysées (figure 1). Ces résultats, joints à ceux d'un travail précédent réalisé en collaboration avec une équipe allemande [10], nous ont permis de postuler l'existence d'une « voie de prolifération dépendante de l'hétérodimère ATF2-Jun » [8]. Mais on ne sait pas encore : (1) quelle est la contribution respective des domaines transactivateurs des protéines Jun et ATF2 dans l'hétérodimère ; (2) si cette voie correspond à une voie « pathologique » ou si elle est active et sous la dépendance de l'hétérodimère ATF2-c-Jun, dans une cellule non transformée, au cours du développement embryonnaire ou/et chez l'adulte, par exemple lors de la régénération tissulaire ; (3) si cet hétérodimère exerce un contrôle direct sur le déroulement du cycle cellulaire ou plutôt indirect par l'activation d'un facteur de croissance ou d'un récepteur de facteur de croissance.

Finalement, au cours du même travail, nous avons réussi à étendre la coopération ATF2 + v-Jun observée *in vitro* à la tumorigénèse chez l'animal : des fibroblastes surexprimant une combinaison v-Jun + ATF2 induisent des tumeurs plus efficacement, en nombre et en rapidité de développement, que des fibroblastes surexprimant v-Jun seul. Il s'agit de la première preuve expérimentale directe de l'implication du facteur de transcription ATF2 dans la tumorigénèse.

S.H.  
J.B.  
S.P.  
H.V.D.  
M.C.

1. Hurst HC. Transcription factors. 1: bZIP proteins. *Protein Profile* 1995; 2: 101-68.
2. Maekawa T, Sakura H, Kanei-Ishii C, Sudo T, Yoshimura T, Fujisawa J, Yoshida M, Ishii S. Leucine zipper structure of the protein CRE-BP1 binding to the cyclic AMP response element in brain. *EMBO J* 1989; 8: 2023-8.
3. Hai T, Curran T. Cross-family dimerization of transcription factors Fos/Jun and ATF/CREB

- alters DNA binding specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3720-4.
4. van Dam H, Duyndam M, Rottier R, Bosch A, Devriessmits L, Herrlich P, Zantema A, Angel P, van der Eb AJ. Heterodimer formation of cJun and ATF2 is responsible for induction of c-jun by the 243-amino acid adenovirus E1A protein. *EMBO J* 1993; 12: 479-87.
  5. van Dam H, Wilhelm D, Herr I, Steffen A, Herrlich P, Angel P. ATF-2 is preferentially activated by stress-activated kinases to mediate c-jun induction in response to genotoxic agents. *EMBO J* 1995; 14: 1798-811.
  6. Livingstone C, Patel G, Jones N. ATF2 contains a phosphorylation-dependent transcriptional activation domain. *EMBO J* 1995; 14: 1785-97.
  7. Bos TJ, Monteclaro FS, Mitsunobu F, Ball AR, Chang CHW, Nishimura T, Vogt PK. Efficient transformation of chicken embryo fibroblasts by c-Jun requires structural modification in coding and non-coding sequences. *Genes Dev* 1990; 4: 1677-87.
  8. Huguier S, Baguet J, Perez S, van Dam H, Castellazzi M. Transcription factor ATF2 cooperates with v-Jun to promote growth factor independent proliferation *in vitro* and tumor formation *in vivo*. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 7020-9.
  9. Jove R, Hanafusa H. Cell transformation by the viral src oncogene. *Annu Rev Cell Biol* 1987; 3: 31-56.
  10. van Dam H, Huguier S, Kooistra K, Baguet J, Vial E, van der Eb A, Herrlich P, Angel P, Castellazzi M. Autocrine growth and anchorage independence: two complementing Jun-controlled genetic programs of cellular transformation. *Genes Dev* 1998; 12: 1227-39.

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Caractérisation de deux protéines spécifiques des membranes acellulaires et des biominéraux de l'oreille interne.** L'oreille interne des mammifères est composée de deux organes: la cochlée, organe de l'audition, et le vestibule, organe de l'équilibre. Ce dernier comprend le saccule et l'utricule, sensibles aux accélérations linéaires, et trois canaux semi-circulaires qui détectent les accélérations angulaires. Les différentes aires sensorielles, appelées organe de Corti dans la cochlée, macules sacculaire et utriculaire et crêtes ampullaires dans le vestibule, sont formées de cellules de soutien et de cellules sensorielles ciliées recouvertes d'une structure acellulaire gélatineuse, appelée membrane tectoriale dans la cochlée, membrane otoconiale dans le saccule et l'utricule, et cupule dans les ampoules des canaux semi-circulaires. Sur les deux membranes otoconiales, reposent des cristaux, appelés otoconies, constitués de carbonate de calcium et de protéines. La fonction de ces biominéraux est de lester la structure gélatineuse. Le déplacement des

membranes acellulaires par rapport aux épithéliums sensoriels, provoqué par un son dans la cochlée ou par un mouvement de la tête dans le vestibule, entraîne la déflexion des stéréocils des cellules sensorielles. Ce mouvement est couplé à l'ouverture mécanique d'un canal cationique de mécanotransduction. La dépolarisation qui en résulte permet la libération du neurotransmetteur. En suivant une stratégie d'amplification soustractive fondée sur la méthode RDA (*representational difference analysis of cDNA* [1]), Christine Petit et ses collègues de l'Unité de génétique des déficits sensoriels de l'Institut Pasteur ont identifié deux transcrits murins spécifiquement exprimés dans l'oreille interne. Le premier [2] code pour une glycoprotéine apparentée aux mucines épithéliales sécrétées. Cette protéine, appelée otogéline, est un des constituants de l'ensemble des membranes acellulaires de l'oreille interne. Le deuxième transcrit [3] code pour une glycoprotéine de 469 acides aminés contenant deux domaines d'homologie avec les phos-

pholipases A<sub>2</sub> sécrétées. Cette protéine, nommée otoconine-95, constitue l'essentiel du matériel organique des otoconies. Sécrétée très tôt au cours du développement embryonnaire, l'otoconine-95 semble jouer un rôle déterminant dans la formation de ces biominéraux. Cette glycoprotéine entre également dans la composition des cupules et de granules transitionnels situés au-dessus de la membrane tectoriale. Les déficits en otoconine-95 sont donc sans doute à l'origine de troubles de l'équilibre, éventuellement associés à un déficit auditif. L'implication de l'otoconine-95 dans des troubles vestibulaires congénitaux sera toutefois difficile à mettre en évidence chez l'homme car ces atteintes sensorielles sont très vite compensées par les systèmes visuels et proprioceptifs.

- [1. Hubank M, Schatz DG. *Nucleic Acids Res* 1994; 22: 5640-8.]
- [2. Cohen-Salmon M, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14450-5.]
- [3. Verpy E, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 529-34.]