

## FGF-2 : la traduction bat son plein

Le facteur de croissance fibroblastique 2 (FGF-2 ou bFGF, *fibroblast growth factor-2* ou *basic fibroblast growth factor*) fait partie de la famille sans cesse grandissante des FGF. Cette famille compte actuellement 19 gènes codant pour des mitogènes, des facteurs de différenciation ou des protéines oncogéniques. Le FGF-2, qui est un puissant mitogène, joue un rôle majeur dans l'angiogenèse ainsi que dans les processus de réparation tissulaire [1]. Il est impliqué dans des physiopathologies aussi différentes que l'athérosclérose et le cancer.

La multiplicité des rôles du FGF-2 peut s'expliquer en partie par l'existence de quatre isoformes de ce facteur (figure 1). Ces isoformes résultent d'initiations alternatives de la traduction à un codon AUG et à trois codons non

usuels CUG situés en amont, dans la même phase de lecture [2]. Elles se distinguent donc par leurs extrémités amino-terminales qui leur confèrent des localisations, des fonctions et des modes d'action différents.

La petite forme de 18 kDa est cytoplasmique et sécrétée : elle a un mode d'action paracrine ou autocrine qui passe par la reconnaissance de récepteurs spécifiques à la surface cellulaire. Les isoformes de FGF-2 de 22, 22,5 et 24 kDa, en revanche, sont transférées dans le noyau grâce à une séquence de localisation nucléaire (NLS) [3]. Elles agissent sur des cibles nucléaires indépendamment de toute liaison au récepteur du FGF-2 ce qui est tout à fait original pour un facteur de croissance [4]. Ces localisations et modes d'action différents s'accompagnent de fonctions

distinctes. Le FGF-2 de 18 kDa, s'il est exprimé constitutivement dans des cellules endothéliales d'aorte bovine, induit la transformation cellulaire alors que les FGF-2 de 22 à 24 kDa immortalisent ces mêmes cellules sans les transformer (figure 1) [5].

Avec ses quatre codons d'initiation alternatifs, l'ARNm du FGF-2 est devenu un système modèle pour l'étude du processus d'initiation alternative de la traduction. Ce processus, décrit pour d'autres gènes cellulaires (majoritairement des gènes de contrôle), augmente la diversité génétique et permet à un même gène de coder pour des protéines de fonctions différentes dont la stoechiométrie peut ainsi être réglée. La régulation de l'expression relative des isoformes du FGF-2 fait intervenir des éléments de l'ARNm situés à

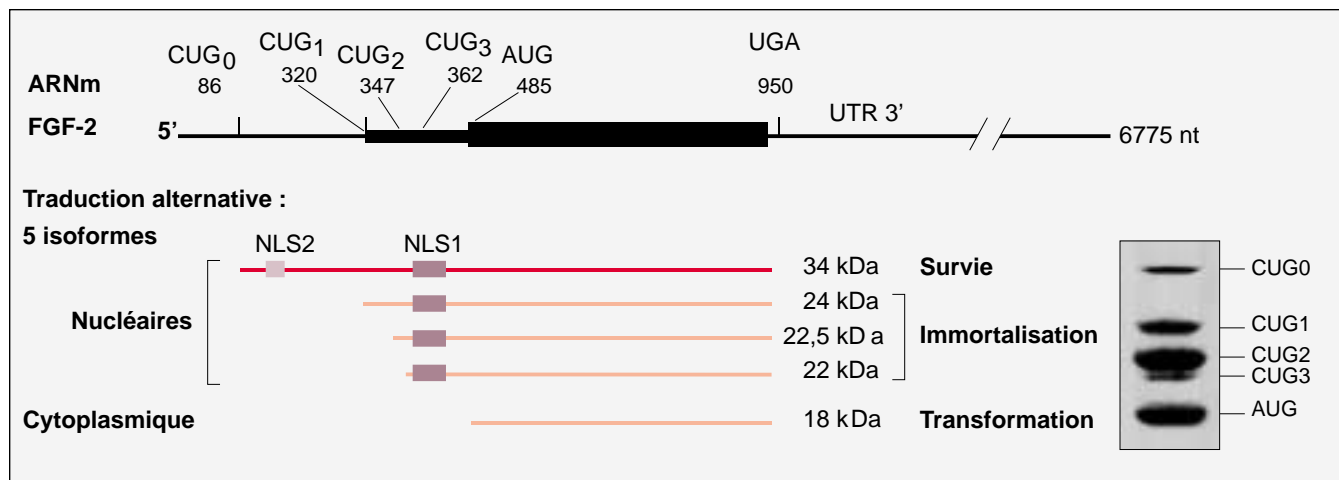


Figure 1. **Cinq protéines sont exprimées à partir de l'ARN messager du FGF-2.** L'ARN messager du FGF-2, d'une taille de 6775 nt, possède cinq codons initiateurs incluant quatre codons CUG et un codon AUG qui permettent l'expression de cinq isoformes de FGF-2 de localisations et de fonctions différentes. Les positions des codons par rapport à l'extrémité 5' de l'ARN sont indiquées. La région située entre les nucléotides 950 et 6775 correspond à la région 3' non traduite (UTR 3'). Les isoformes sont schématisées avec leurs séquences de nucléarisation (NLS). Sur la droite, une expérience de Western blot et d'immunodétection avec un anticorps anti-FGF-2 permet de visualiser l'expression des cinq isoformes dans des cellules humaines cancéreuses (SK-Hep-1). L'isoforme de 34 kDa découverte le plus récemment est représentée en rouge.

S  
E  
T  
E  
N  
O  
M

proximité des différents codons initiateurs [6]. En outre, la traduction du messager du FGF-2 se fait par un mécanisme peu classique grâce à un site d'entrée interne des ribosomes ou IRES (*internal ribosome entry site*) situé juste en amont des trois codons CUG. Le mécanisme classique dépendant de la coiffe prévoit une liaison du ribosome à l'extrémité 5' coiffée de l'ARNm\* grâce au facteur d'initiation de la traduction eIF-4E suivie d'un balayage de la molécule d'ARN jusqu'au codon initiateur. Grâce à l'IRES, la liaison des ribosomes survient directement à l'intérieur de la molécule d'ARN, indépendamment du facteur d'initiation eIF-4E. Cela permet à un tel messager d'être traduit dans des conditions dans lesquelles la traduction dépendante de la coiffe est bloquée, ce qui se produit en cas de *stress*. L'expression des isoformes du FGF-2 de 22 à 24 kDa est effectivement activée en réponse à un choc thermique ou à un *stress* oxydatif, dans des fibroblastes de peau humains [7].

Avec l'identification de ce processus d'initiation de la traduction impliquant quatre codons initiateurs, nous pensions avoir éclairci toutes les possibilités d'expression de l'ARNm du FGF-2. Cependant, il n'en était rien ! L'étude de l'expression des isoformes du FGF-2 dans des lignées cellulaires humaines transformées a révélé l'existence d'une protéine de 34 kDa, reconnue spécifiquement par l'anticorps anti-FGF-2 (*figure 1*). Cette observation suggérait qu'une initiation de la traduction supplémentaire pouvait être à l'origine de l'expression de ce nouveau FGF-2, ce qui a été démontré à l'aide d'un anticorps polyclonal dirigé contre un peptide déduit de la séquence nucléotidique du domaine amino-terminal présumé de la nouvelle isoforme [8]. Le codon initiateur du FGF-2 de 34 kDa, localisé par mutagenèse dirigée, est un codon non usuel CUG (apparemment usuel dans le messager du FGF-2!) situé à 86 nucléotides de l'extrémité 5' de l'ARNm.

Ainsi le processus d'initiation alternative de la traduction de l'ARNm du

FGF-2 s'est-il encore complexifié par la découverte de ce cinquième codon initiateur. Contrairement aux autres isoformes, le FGF-2 de 34 kDa est traduit selon un mécanisme exclusivement dépendant de la coiffe. Ainsi des paramètres capables de modifier la balance entre les deux mécanismes d'initiation dépendant de la coiffe et de IRES permettent-ils de moduler l'expression relative des isoformes.

Cependant quel serait l'intérêt d'un mécanisme de régulation traductionnelle aussi subtil si les différents produits de la traduction n'avaient pas de fonction spécifique ? Effectivement, il est apparu que le nouveau FGF-2, lorsqu'il est constitutivement exprimé dans des fibroblastes murins NIH-3T3, permet la survie et la prolifération cellulaires en présence de faibles concentrations de sérum, alors que les FGF-2 de 18 et de 24 kDa, pour un même niveau d'expression, n'ont pas cette capacité [8]. Le FGF-2 de 34 kDa est très clairement nucléaire, cette localisation lui étant conférée par une séquence NLS riche en résidus arginine présente dans son domaine amino-terminal spécifique de 78 acides aminés. Cette NLS présente une singularité similaire avec la NLS de la protéine rev du rétrovirus VIH1, qui permet une nucléarisation par un mécanisme différent des autres protéines à NLS.

L'existence de deux NLS différentes (et atypiques) dans le FGF-2 de 34 kDa et dans les autres isoformes nucléaires de 22, 22,5 et 24 kDa peut engendrer une diversité dans la localisation nucléaire de ces isoformes. Les différences de leurs séquences amino-terminales suggèrent aussi que ces isoformes ont des cibles distinctes dans le noyau cellulaire. Les FGF-2 de 22, 22,5 et 24 kDa possèdent un domaine riche en acides aminés glycine et arginine qui pourrait intervenir dans des interactions protéine-protéine, alors que le domaine N-terminal très basique du FGF-2 de 34 kDa serait plus spécifique d'interactions protéine-acides nucléiques.

Le FGF-2 nous a fait atteindre le paroxysme (sans doute provisoire) de la complexité du contrôle traductionnel. Avec ses cinq isoformes de fonc-

tions distinctes, provenant d'initiations alternatives de la traduction, et exprimées par deux mécanismes d'initiation différents (dépendant de la coiffe ou de IRES), le gène du FGF-2 démontre de façon éclatante le rôle essentiel de la régulation traductionnelle de l'expression génique. Qui plus est, ce n'est sans doute pas un hasard si les autres gènes réglés de la sorte sont essentiellement des gènes de contrôle tels que facteurs de croissance, récepteurs et facteurs de transcription. Ce mode de régulation de l'expression génique permet en effet à la cellule d'ajuster finement et rapidement, en réponse à des stimulus exogènes, le niveau d'expression de protéines qui contrôlent sa physiologie.

**Anne-Catherine Prats**  
**Hervé Prats**

*Inserm U. 397, CHU Rangueil, Bâtiment L3, 1, avenue Jean-Poulhes, 31054 Toulouse Cedex, France.*

1. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocrinol Rev* 1997; 18: 26-45.
2. Prats H, Kaghad M, Prats AC, *et al*. High molecular mass forms of basic fibroblast growth factor are initiated by alternative CUG codons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1836-40.
3. Bugler B, Amalric F, Prats H. Alternative initiation of translation determines cytoplasmic or nuclear localization of basic fibroblast growth factor. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 573-7.
4. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Quarto N, Mignatti P, Rifkin DB. Differential modulation of cell phenotype by different molecular weight forms of basic fibroblast growth factor: possible intracellular signaling by the high molecular weight forms. *J Cell Biol* 1995; 129: 233-43.
5. Couderc B, Prats H, Bayard F, Amalric F. Potential oncogenic effects of basic fibroblast growth factor requires cooperation between CUG and AUG-initiated forms. *Cell Regul* 1991; 2: 709-18.
6. Prats AC, Vagner S, Prats H, Amalric F. *Cis*-acting elements involved in the alternative translation initiation process of human basic fibroblast growth factor. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 4796-805.
7. Vagner S, Touriol C, Galy B, *et al*. Translation of CUG- but not AUG-initiated forms of human fibroblast growth factor 2 is activated in transformed and stressed cells. *J Cell Biol* 1996; 135: 1391-402.
8. Arnaud E, Touriol C, Boutonnet C, *et al*. A new 34 kDa isoform of human fibroblast growth factor-2 is cap-dependently synthesized using a non-AUG start codon and behaves as a survival factor. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 505-14.

\* La coiffe correspond à une modification de l'extrémité 5' de tous les ARN messagers eucaryotes.