

eIF-4E, régulation de la traduction et progression tumorale

Denis Rousseau

Au cours du développement tumoral, les perturbations des fonctions biologiques sont nombreuses et variées. Issues de mutations géniques, ces modifications fonctionnelles confèrent aux cellules cancéreuses des propriétés prolifératives et invasives. Ces modifications fonctionnelles affectent les mécanismes de transduction des signaux, de transcription, de traduction, de réplication et d'ancrage à la matrice extracellulaire. Des études récentes concernant la régulation de la traduction ont montré que celle-ci est susceptible de jouer un rôle-clé dans le processus de transformation maligne. eIF-4E appartient désormais à la grande famille des oncogènes. *In vitro*, sa surexpression d'eIF-4E induit la transformation maligne. De même, *in vivo*, la protéine eIF-4E est surexprimée dans plusieurs types de tumeurs. eIF-4E semble donc être un marqueur de la transformation maligne et sa quantification dans les biopsies pourrait être utilisée comme un paramètre permettant le pronostic de l'évolution tumorale, ainsi que le contrôle des marges chirurgicales après résection des tumeurs solides.

La réponse aux multiples questions concernant le processus de cancérisation réside dans une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires qui permettent aux mutations géniques d'induire une altération des processus normaux de prolifération et de différenciation, capables d'induire ultérieurement la progression tumorale.

Au cours de ces dix dernières années, un grand nombre d'investigations ont permis de découvrir plusieurs caractéristiques de la transformation

maligne, et plus particulièrement de caractériser les protéines dont les fonctions sont altérées dans les cellules cancéreuses. Les produits des oncogènes (ou oncoprotéines telles que Ras, Myc, Myb...) furent découverts en premier, l'augmentation de leur activité étant l'une des caractéristiques des tumeurs. Les origines de l'activation de ces protéines peuvent être diverses : augmentation du nombre de copies géniques, mutation dans le promoteur, mutation dans les facteurs de transcription contrôlant l'expression du gène,

ADRESSE

D. Rousseau : Institut de biologie structurale CEA/CNRS/UJF, 41, rue Jules-Horowitz, 38027 Grenoble Cedex 1, France.
e.mail : denis.rousseau@ibs.fr

mutation dans la séquence codante, intégration d'un génome viral... Plus récemment, les anti-oncogènes, dont l'activité est diminuée au cours de la cancérisation, ont été découverts (p53, Rb...). La caractérisation des oncogènes et des anti-oncogènes permet aujourd'hui de réaliser des pronostics de progression tumorale (ou de résection) dans certains types de tumeurs, grâce aux techniques d'analyse des protéines et de l'ADN (*western blot*, séquençage, carte de restriction...).

L'analyse moléculaire des oncogènes et des anti-oncogènes permet de découvrir et de mieux comprendre l'effet anti-cancéreux de molécules naturelles ou artificielles (l'acide rétinolique, le butyrate de sodium, la vitamine D3, les prostaglandines, les cytokines), ainsi que de développer et de tester de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Parmi les fonctions cellulaires altérées au cours du processus de tumorigénèse, la synthèse protéique est apparue au cours de ces dix dernières années comme une étape essentielle dans le processus de transformation cellulaire [1-3]. La synthèse protéique est à l'évidence nécessaire à la vie et plus particulièrement au cycle cellulaire. Lorsqu'une cellule a les moyens de se diviser (en présence de nutriments et de facteurs de croissance), elle s'engage dans un processus de répllication et de division cellulaire nécessitant une néo-synthèse protéique importante (associée à une protéolyse). De même, la cellule cancéreuse est caractérisée par une forte synthèse protéique [1-3]. La néosynthèse est donc nécessaire à la prolifération et à la différenciation (modifications phénotypiques) et semble « s'emballer » dans les cellules cancéreuses.

Le dérèglement de la traduction peut-il être à l'origine du processus de cancérisation (augmentation de la traduction d'oncoprotéines) ou s'agit-il au contraire d'un effet indirect et de la conséquence de l'activation d'autres oncogènes (ou de l'inactivation d'autres anti-oncogènes) ? Les investigations concernant l'étude de la protéine eIF-4E ont permis de montrer que le dérèglement de la traduction (par surexpression d'eIF-4E) est capable de

provoquer la transformation maligne, mais aussi que la protéine eIF-4E est surexprimée dans plusieurs types de tumeurs (cancer du sein, du cou et de la tête). La détection d'eIF-4E pourrait donc permettre d'améliorer les diagnostics cliniques et le contrôle des marges chirurgicales, correspondant aux bordures saines obtenues après résection des tumeurs. Le contrôle de ces marges se fait visuellement par le chirurgien, et par l'anatomo-pathologiste en microscopie, afin d'assurer l'absence de cellules et de lésions tumorales. Il peut cependant exister, en bordure ou à distance, des lésions difficiles à détecter et à analyser (dysplasies).

Enfin, l'inhibition de l'expression d'eIF-4E induit une réversion du phénotype transformé [4, 5], et cette caractéristique permet d'envisager de nouvelles stratégies de thérapie anti-cancéreuse à l'aide d'antagonistes synthétiques d'eIF-4E.

eIF-4E et cancérogenèse : de la théorie...

La synthèse protéique, processus coûteux en énergie, est strictement contrôlée [6]. Chez les mammifères, la plupart des régulations identifiées concernent l'initiation, plutôt que l'élongation ou la terminaison de la traduction [7]. L'initiation de la traduction a lieu en trois étapes (pour revues, voir [8, 9]) : (1) la formation du complexe ribosomal 43S (sous-unité ribosomale 40S + eIF-2 + eIF-3 + Met-tRNA + GTP) ; (2) la formation du complexe de pré-initiation 48S ([ARNm + eIF-4] + 43S) ; (3) la formation du complexe d'initiation 80S (48S + sous-unité ribosomale 60S).

La réaction de liaison du complexe 43S à l'ARNm (réaction 2) est l'étape dont le contrôle est le plus précis, et la seule au cours de laquelle pourrait s'opérer une discrimination entre les ARNm à traduire.

Parmi les facteurs mis en jeu dans la réaction d'initiation de la traduction, eIF-4E apparaît donc comme le facteur limitant. L'utilisation d'ARN anti-sens d'eIF-4E a d'ailleurs permis de montrer que le taux de synthèse protéique cellulaire est directement proportionnel à la quantité d'eIF-4E [5]. Il n'existe qu'une copie du gène d'eIF-4E dans le génome haploïde

humain (2 gènes par cellule), même si de nombreux pseudogènes ont été décrits. Bien qu'eIF-4E soit ubiquitaire dans la cellule, il ne semble pas exister de pression de sélection favorisant sa surexpression.

eIF-4E interagit avec les ARNm à traduire dès leur sortie du noyau, et se lie spécifiquement à la structure CAP située à l'extrémité 5' des ARNm (m7GpppN), permettant ainsi la mise en place du complexe eIF-4F (*figure 1*). L'activité ARN hélicase de ce complexe (relayée par eIF-4A et eIF-4B) permet probablement la découverte du codon d'initiation AUG le long de la partie 5' non traduite (*5' untranslated region*) selon le processus de balayage (*scanning*), initialement décrit par M. Kozak [10]. La grande sous-unité ribosomale 60S se positionne alors sur le codon d'initiation et l'élongation de la traduction de l'ARNm peut démarrer. Notons qu'un certain nombre d'ARNm échappent à cette loi et qu'il existe, dans de rares occasions, des phénomènes d'initiation interne. Cette initiation alternative emploie des séquences IRES (*internal ribosome entry site*), qui permettent une initiation « cap-indépendante » employée par certains virus (picornavirus) et quelques ARNm cellulaires [9].

La faible quantité relative d'eIF-4E dans la cellule crée une situation de compétition parmi les différents ARNm, en particulier pour les ARNm possédant une extrémité 5'UTR longue et structurée (riche en G/C), qui sont difficilement traduits [11]. Dans différents systèmes, les parties 5' UTR longues et structurées inhibent fortement l'initiation de la traduction [12]. L'analyse des séquences de 700 ARNm de vertébrés a montré que 90 % d'entre eux possèdent un 5'UTR inférieur à 200 nucléotides sans AUG en amont, il s'agit des ARNm « forts », qui sont facilement traduits [13] alors que 10 % des ARNm, dits « faibles », contiennent des 5' UTR longues et structurées et sont traduits plus difficilement [1]. Il est tout à fait remarquable que cette deuxième catégorie d'ARNm code pour des oncoprotéines, des facteurs de croissance, leurs récepteurs... [14]. On s'accorde alors à dire qu'une augmentation du taux d'activité d'eIF-4E peut permettre à des ARNm « faibles » d'être

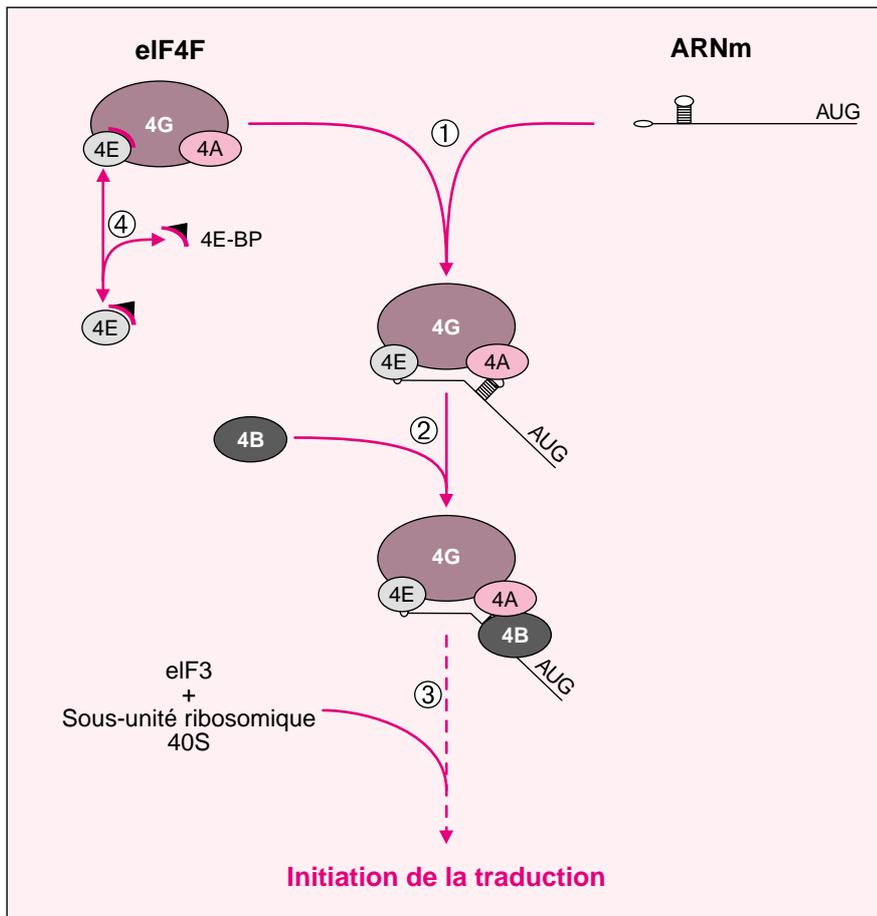


Figure 1. **Schéma récapitulatif des mécanismes d'initiation de la traduction.** eIF4E, au sein du complexe eIF-4F (eIF4A + eIF4E + eIF4G), se lie à la structure « cap » située à l'extrémité 5' de l'ARNm (1). eIF4B se lie consécutivement (2) et permet au complexe d'exercer une activité ARN hélicase qui déstabilise les structures secondaires de l'ARNm. Ce mécanisme permet le recrutement de la petite sous-unité ribosomale 40S sur le codon d'initiation AUG (3). La disponibilité d'eIF4E, qui permet la réaction de pré-initiation, est contrôlée par la liaison aux protéines 4E-BP, qui exercent une inhibition compétitive sur la liaison eIF4E/eIF4G (4).

traduits, alors que les ARNm « forts » ont déjà atteint leur maximum de traduction, même en présence d'un faible taux d'eIF-4E [3, 15] (figure 2). Ainsi une augmentation de l'activité d'eIF-4E peut aboutir à une expression inappropriée des facteurs régulateurs du cycle cellulaire, pouvant conduire à des instabilités génétiques, à des mitoses aberrantes, puis à la sélection de cellules tumorales agressives (figure 2).

L'activité d'eIF-4E est contrôlée par des phosphorylations, qui modifient son affinité pour la structure CAP, pour eIF-4G, ainsi que pour les sous-unités inhibitrices que sont les 4E-Bin-

ding Proteins [16]. La phosphorylation d'eIF-4E est généralement corrélée avec le taux de traduction cellulaire. Ainsi, eIF-4E est déphosphorylée lors de la mitose et durant la phase G0 lorsque la traduction est limitée, alors qu'elle est phosphorylée lors de traitements par des hormones, des facteurs de croissance ou des cytokines [16]. La corrélation entre la phosphorylation d'eIF-4E et la synthèse protéique n'est cependant pas systématique car des facteurs comme le TNF (*tumor necrosis factor*) ou l'interleukine 1, qui stimulent la phosphorylation d'eIF-4E, n'induisent pas d'augmentation de la synthèse pro-

téique. Le site de phosphorylation d'eIF-4E est le résidu Ser 209. Ce site est susceptible d'être phosphorylé par l'intermédiaire de la protéine kinase C (PKC) ainsi que par la MNK1 (*MAP kinase interacting kinase 1*), impliquée dans la cascade de signalisation des MAPK (*mitogen activated protein kinase*) [8] (figure 3). L'implication de MNK1 peut ainsi expliquer la sensibilité de la phosphorylation d'eIF-4E à l'effet de drogues comme le PD98059 ou le SB203580, inhibiteurs des voies de signalisation des MAPK [16] (figure 3). D'autres événements post-traductionnels affectent l'activité d'eIF-4E de manière indirecte, par le biais des sous-unités inhibitrices 4E-BP (*eIF-4E binding proteins*). Ces protéines de petite taille (12 kDa) peuvent inhiber la traduction « cap-dépendante » en liant eIF-4E et en inhibant ainsi sa liaison à eIF-4G (figures 2 et 3). Les protéines 4E-BP possèdent un motif de liaison commun à eIF-4E et eIF-4G [16]. Ce site correspond au motif peptidique YXXXXLØ, dans lequel X est un acide aminé quelconque et Ø un acide aminé aliphatique (figure 3). La phosphorylation des 4E-BP contrôle l'affinité pour eIF-4E. En effet, l'hyperphosphorylation des 4E-BP empêche l'interaction alors que l'hypophosphorylation l'augmente, contrôlant ainsi l'activité d'eIF-4E (figure 3). La phosphorylation de 4E-BP1 est stimulée par l'insuline, l'angiotensine, les facteurs de croissance, les cytokines et d'autres agents mitogènes. Cinq sites de phosphorylation (Ser 64, 82 et Thr 36, 45, 69) semblent être impliqués dans la régulation de l'activité de 4E-BP1. Parmi ces sites, la sérine 64 et la thréonine 45 pourraient participer à la liaison à eIF-4E. Ces phosphorylations sont, semble-t-il, effectuées par la kinase mTOR. Certaines drogues comme la rapamycine, la wortmannine ou le SQ20006 inhibent la phosphorylation des 4E-BP et plusieurs résultats suggèrent l'implication des voies PI3K, Akt/PKB et FRAP/mTOR [16] (figure 3). Les signaux relayés par les facteurs de croissance, les hormones, les agents mitogènes et les cytokines activent la voie PI3K (phosphoinositide 3-OH kinase), qui active la sérine/thréonine kinase Akt, mobilisée sur la membrane plasmique. Cette translocation permet la phosphorylation d'Akt par PDK2 et l'acti-

eIF-4E et cancérogenèse : ...à la pratique

eIF-4E est une protéine transformante

Les premières expériences concernant les liens entre la traduction et l'oncogenèse ont été menées sur des cellules en culture. La surexpression d'eIF-4E dans différentes lignées cellulaires (NIH3T3, CHO, REF) aboutit à leur transformation, caractérisée par des changements morphologiques, la perte d'inhibition de contact, l'accélération du cycle cellulaire, l'acquisition du potentiel de croissance en agar mou, ainsi que chez des souris *nude*. Dans des cellules dont la prolifération est bloquée par élimination du sérum dans le milieu de culture, la micro-injection de la protéine purifiée induit leur entrée dans le cycle cellulaire. eIF-4E peut également être un puissant inducteur de la transformation cellulaire, en coopération avec v-myc, E1A ou Max [1]. A l'inverse, la diminution de l'expression d'eIF-4E, par l'utilisation d'ARN anti-sens, induit la réversion du phénotype transformé de différentes lignées cancéreuses [17, 18]. Ces différentes caractéristiques confèrent à eIF-4E le rôle d'oncogène potentiel.

Les expériences de surexpression ont permis de constater que seules certaines protéines étaient préférentiellement synthétisées [19]. Cette observation est en accord avec le modèle de compétition des ARNm, décrit ci-dessus (figure 2). L'analyse systématique des ARNm « sur-traduits » lors de la surexpression d'eIF-4E pourrait valider définitivement cette hypothèse, mais jusqu'à présent aucune méthode d'investigation n'a permis d'aboutir à cette conclusion.

C'est en analysant au hasard différents ARNm possédant des parties 5'UTR longues et structurées, que certaines observations ont pu être faites. Ainsi, parmi les ARNm d'oncoprotéines « sur-traduits » lors d'une augmentation d'eIF-4E, on trouve la cycline D1 [19, 20], des enzymes du métabolisme des polyamines [21, 22], le FGF-2 [23, 24] ainsi que le VEGF et c-Myc, tous nécessaires à l'entrée en phase S, liés à la transformation, et préférentiellement synthétisés lors d'une augmentation d'eIF-4E. C'est également le cas de la

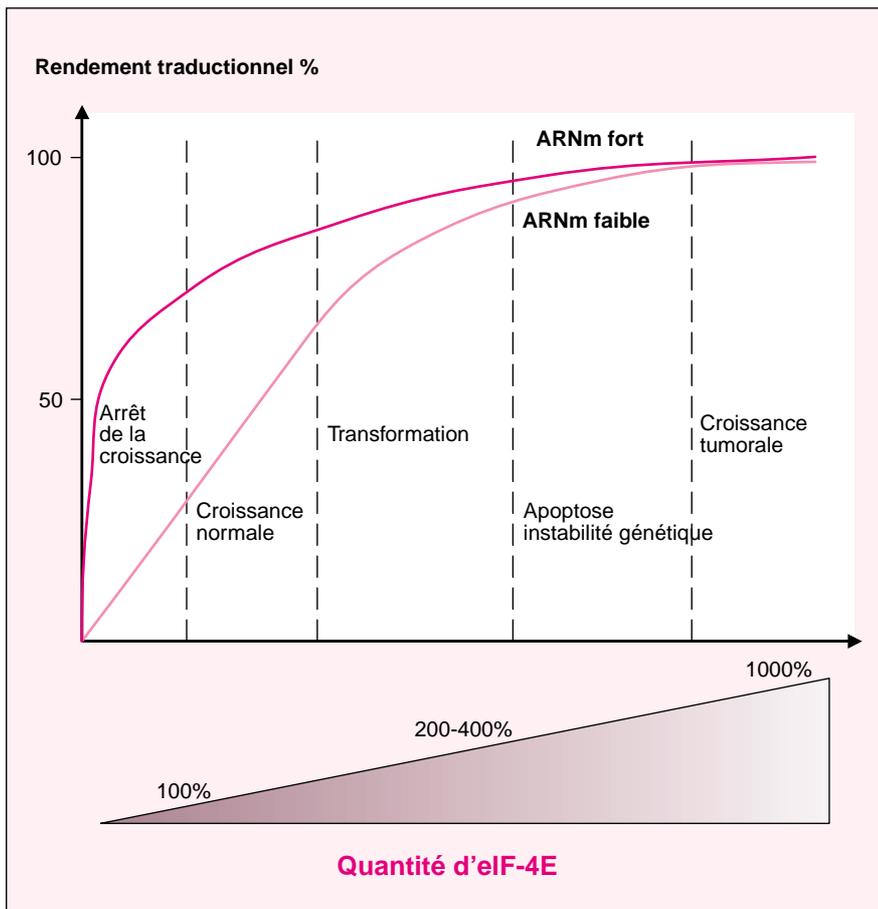


Figure 2. **Modèle d'induction de la transformation maligne par la surexpression d'eIF-4E: principe de compétition des ARNm pour la traduction.** Les ARNm sont traduits avec des efficacités très variables. Les ARNs dits « forts » codent pour des protéines généralement ubiquitaires (actine, tubuline...) et sont facilement traduits. Les ARNs dits « faibles », difficilement traduits, codent pour des protéines de régulation, souvent des oncoprotéines (cycline D1, ornithine décarboxylase, myc, fibroblast growth factor 2, vascular endothelial growth factor). Dans le cas de l'augmentation d'expression (ou de l'activité) d'eIF4E, les produits de traduction des ARNm dits « faibles » augmentent sélectivement. Cette augmentation de la synthèse d'oncoprotéines pourrait être responsable de l'induction de la transformation cellulaire et de la progression tumorale. In vitro, une augmentation de la quantité d'eIF4E d'environ 400% est nécessaire et suffisante pour induire la transformation (surexpression ectopique). Dans les tumeurs en formation, la quantité d'eIF4E peut être multipliée par 30.

vation en aval de la kinase FRAP/mTOR (cible de l'immunosuppresseur FKBP12-rapamycin) selon un mécanisme encore inconnu [16]. La conjonction des mécanismes de phosphorylation d'eIF-4E et des 4E-BP constitue un mode de régulation complexe, qui n'est pas encore totalement élucidé, alors que la famille des 4E-BP continue de s'agrandir [16]. Concernant les mécanismes de cancérogenèse liés à la protéine eIF-4E,

nous nous focaliserons ci-dessous sur l'augmentation de l'expression d'eIF-4E qui semble, à elle seule, jouer un rôle considérable dans la régulation de la traduction. Il est cependant clair que la caractérisation des kinases et des voies de traduction qui contrôlent l'activité d'eIF-4E représente un pôle d'intérêt incontestable dans l'analyse du rôle d'eIF-4E dans la transformation maligne.

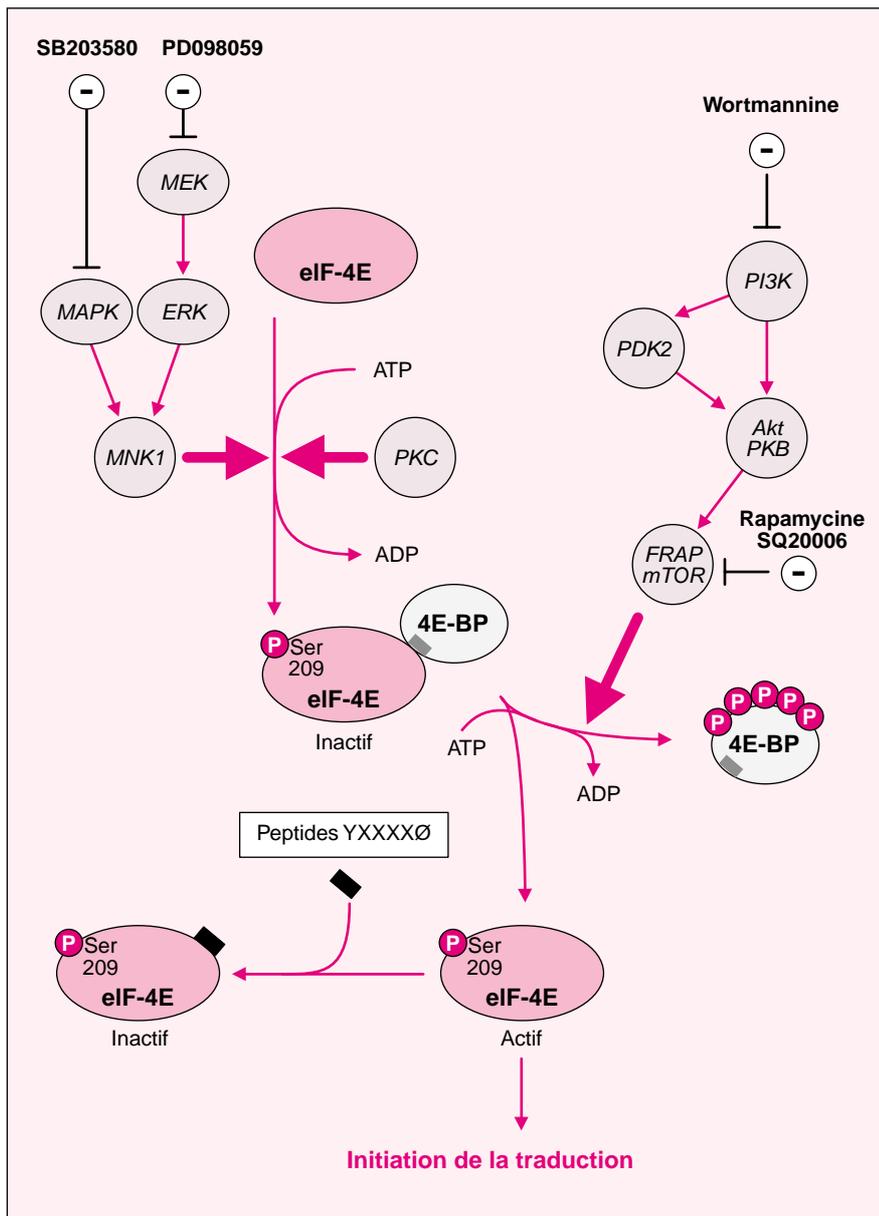


Figure 3. **Modèle de régulation des activités d'eIF-4E et des 4E-BP par phosphorylation.** L'activation d'eIF-4E nécessite (1) sa libération du complexe eIF-4E/4E-BP après phosphorylation de 4E-BP par la kinase FRAP/mTOR (FKBP-rapamycin associated protein/mammalian target of rapamycin) en aval des kinases Akt/PKB (sérine/thréonine kinase) et PDK2, toutes deux activées par les lipides produits par la kinase PI3K (phosphoinositide 3-OH kinase). (2) Sa phosphorylation sur la sérine 209 est effectuée par la kinase PKC (proteine kinase C) et/ou la MNK1 (MAP kinase interacting kinase 1). Ces voies de signalisation sont sensibles à plusieurs inhibiteurs spécifiques (SB203580, PD098059, SQ20006, rapamycine et wortmannine) qui inhibent l'initiation de la traduction. Le site de liaison de 4E-BP à eIF-4E correspond à la séquence peptidique YXXXXØ (dans laquelle X est un acide aminé quelconque, et Ø un acide aminé aliphatique). Cette séquence pourrait être utilisée pour inhiber l'activité d'eIF-4E *in vivo*, et induire éventuellement un ralentissement ou un arrêt de la croissance tumorale.

collagénase IV, protéase impliquée dans l'évolution tumorale, et dont la synthèse est inhibée par des anti-sens d'eIF-4E [3].

Les cellules tumorales sont très souvent caractérisées par des taux d'expression élevés de la cycline D1, de l'ornithine décarboxylase et de Myc, et ces observations confirment l'hypothèse d'une compétition des ARNm pour l'initiation de la traduction.

L'augmentation de la traduction par eIF-4E induit la traduction de certains ARNm possédant des IRES (*internal ribosome entry site*), tels que ceux du FGF-2, du VEGF et de myc [8]. La traduction d'ARNm possédant des IRES rend leur traduction « cap-indépendante », donc insensible à eIF-4E, et il devient nécessaire d'imaginer un nouveau modèle intégrant cette contradiction. Le modèle de repositionnement interne, appelé aussi *shunting* ou *jumping*, permet de concilier les différentes observations [3]. Dans ce modèle, l'entrée du ribosome se fait de manière « cap-dépendante » (eIF-4E-dépendante) par *scanning* de la partie 5'UTR jusqu'à un *IRPE* (*internal repositioning element*) qui permettra l'initiation de la traduction. Le *scanning* (activité d'eIF-4F/E) peut cependant se poursuivre, afin d'initier la traduction sur un AUG interne. Ce modèle est compatible avec la traduction différentielle des ARNm de myc et de FGF2, et permet d'associer l'existence de mécanismes de traduction différentielle avec l'augmentation de leur traduction par eIF-4E.

En résumé, eIF-4E présente toutes les caractéristiques d'un oncogène, puisque sa surexpression relative (d'au moins 200-400 %) est suffisante pour induire une transformation maligne *in vitro* [19] (figure 2).

La protéine eIF-4E est surexprimée dans les carcinomes humains

Parallèlement aux propriétés tumorigènes d'eIF-4E démontrées *in vitro*, il a fallu déterminer si une augmentation d'expression d'eIF-4E apparaît au cours du processus de cancérisation. Plusieurs études permettent aujourd'hui de conclure que eIF-4E est fréquemment surexprimée dans les tumeurs. Les cas les plus étudiés concernent les cancers du sein ainsi

que ceux du cou et de la tête. Des études plus limitées ont également été faites dans des lymphomes, des carcinomes pulmonaires et colorectaux, et ont mis en évidence une surexpression significative d'eIF-4E [3]. La surexpression est généralement liée à une double duplication du gène (présence de 4 copies géniques au lieu de deux), aboutissant à une augmentation d'un facteur 10 de l'expression de la protéine. Ce taux d'expression est largement suffisant pour conduire à une transformation *in vitro* (figure 2) [19]. La double duplication allélique est probablement le résultat d'une sélection clonale, qui pourrait indiquer un rôle précoce d'eIF-4E dans la cancérisation.

L'analyse de l'expression d'eIF-4E par *Western blot* dans de nombreux échantillons de cancer du sein a mis en évidence une corrélation très étroite entre la progression tumorale et le taux d'eIF-4E [3, 25-28]. L'absence d'eIF-4E semble d'ailleurs être un très bon indicateur de la qualité des marges chirurgicales puisque, après résection de la tumeur, les marges chirurgicales présentant de forte quantité d'eIF-4E sont récurrentes (tumeur récidivante) alors que les marges avec peu d'eIF-4E ne sont pas récurrentes et ne nécessitent donc pas de complément thérapeutique [29, 30].

Ces premiers résultats permettent de conclure que la détection d'eIF-4E est un indice de bon pronostic pour les stades I à III du cancer du sein [29]. L'analyse du taux d'expression de la protéine met en évidence une surexpression d'eIF-4E pouvant varier d'un facteur 3 à 30, associée à une amplification génique correspondant à une double duplication [31]. L'analyse quantitative d'eIF-4E par *Western blot* pourrait donc représenter une méthode appropriée pour le diagnostic et le contrôle des marges chirurgicales dans ce type de tumeurs.

Le même type d'approche (*Western blot*) a été réalisé sur des carcinomes de la tête et du cou ou HNSCC (*head and neck squamous cell carcinoma*) et a permis de mettre en évidence qu'eIF-4E représente là aussi un très bon contrôle pour l'analyse des marges chirurgicales [3]. En effet, eIF-4E n'est pas surexprimée dans les lésions bénignes mais l'est clairement

dans les tumeurs HNSCC. De nombreuses études montrent que l'apparition et le développement d'une tumeur sont liés à une augmentation d'eIF-4E, pouvant atteindre un facteur 14, ainsi qu'à une amplification génique (double duplication soit 4 gènes) [32-37]. L'analyse quantitative d'eIF-4E semble ici encore appropriée pour le diagnostic d'évolution tumorale, puisqu'elle permet d'analyser les marges chirurgicales et de connaître les risques de récurrence [3, 32, 37]. Ce paramètre semble de première importance, car ce type de tumeur présente de fort taux de récurrence locale.

L'ensemble de ces résultats montre que le taux d'expression d'eIF-4E, mesurable par *Western blot*, est un paramètre particulièrement intéressant pour appréhender l'état et le devenir d'un tissu dans le contexte de la transformation maligne. Sa généralisation en diagnostic clinique améliorerait incontestablement la qualité des traitements.

Perspectives

Le contrôle de la traduction, exercé par eIF-4E, semble jouer un rôle crucial dans la régulation de l'expression génique. La surexpression d'eIF-4E induit la transformation maligne *in vitro* et est également observée dans de nombreux types de tumeurs (suite à la duplication des deux allèles). La surexpression d'eIF-4E pourrait être pré-requise afin d'échapper à l'anoxie liée au confinement des cellules tumorales, et d'assurer une bonne vascularisation de la tumeur [3]. En effet, l'augmentation de la traduction par eIF-4E peut permettre de répondre plus rapidement à des impératifs d'oxygénation (vascularisation, modification matricielle...), suggérant également que les cellules tumorales ayant un taux élevé d'eIF-4E peuvent être particulièrement résistantes aux traitements.

eIF-4E apparaît donc comme un nouveau marqueur tumoral, permettant à la fois de pronostiquer l'évolution d'une tumeur et de contrôler les marges chirurgicales.

L'augmentation de l'activité traductionnelle induite par eIF-4E devient alors la cible potentielle d'un traitement anti-cancéreux. Les approches

permettant d'obtenir une sous-expression d'eIF-4E (à l'aide d'oligonucléotides antisens) bloquent son activité, induisant ainsi un ralentissement de la croissance cellulaire et une réversion du phénotype transformé [17, 18].

Plusieurs drogues, déjà connues et employées en médecine, inhibent la traduction et la prolifération. C'est le cas de la rapamycine, de la wortanine ou du LY294002 qui, en induisant la déphosphorylation des facteurs d'initiation, possèdent un effet anti-prolifératif permettant des traitements immunosuppresseurs [16].

Enfin, une dernière possibilité de développement thérapeutique relève des fonctions biologiques des protéines 4E-BP [3, 38, 39]. Celles-ci (sous leurs formes hypophosphorylées) se lient à eIF-4E et inhibent la traduction (figures 1 et 3) [4, 39]. La surexpression ectopique des 4E-BP dans des cellules cancéreuses induit la réversion du phénotype transformé [4], permettant d'envisager l'utilisation des peptides synthétiques correspondant au site de liaison des 4E-BP à eIF-4E comme molécules anti-cancéreuses (thérapie peptidique). L'adressage de ces molécules à l'intérieur des cellules de tumeurs solides (dans le compartiment subcellulaire approprié) pourrait se faire par injection locale de peptides chimeres, composés de la partie anti-proliférative des 4E-BP et d'un peptide de transport transmembranaire, de type Pénétratine [40, 41]. L'effet anti-prolifératif obtenu serait donc ainsi local, labile et facilement modulable.

eIF-4E constitue donc un objet d'étude de choix dans l'analyse du processus de cancérisation. Une analyse plus systématique permettrait d'identifier les cancers caractérisés par une surexpression d'eIF-4E, et d'envisager le développement de nouvelles thérapies cellulaires peptidiques ■

RÉFÉRENCES

1. Sonenberg N, Gingras AC. The mRNA 5' cap-binding protein eIF4E and control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 68-75.
2. Rhoads RE. Protein synthesis, cell growth and oncogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 1991; 3: 1019-24.

RÉFÉRENCES

3. De Benedetti A. eIF4E expression in tumors: its possible role in progression of malignancies. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 59-72.
4. Rousseau D, Gingras AC, Pause A, Sonenberg N. The eIF4E-binding proteins 1 and 2 are negative regulators of cell growth. *Oncogene* 1996; 13: 2415-20.
5. De Benedetti A, Joshi-Barve S, Rinker-Schaeffer C, Rhoads RE. Expression of antisense RNA against initiation factor eIF4E mRNA in HeLa cells results in lengthened cell division times, diminished translation rate, and reduced levels of both eIF4E and eIF4G. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 5435-45.
6. Mathews M. *Translational control*. New York: CSH Press, 1989.
7. Trachsel H. *Translation in eucaryotes*. New York: CRC Press, 1991.
8. Poulin F, Pyronnet S. Interactions moléculaires et initiation de la synthèse protéique. *Med Sci* 2000; 16: 617-22.
9. Ohlmann T, Derrington E, Lopez-Lastra M, Darlix JL. L'initiation de la synthèse protéique chez les eucaryotes. *Med Sci* 2000; 16: 77-86.
10. Kozak M. An analysis of vertebrate mRNA sequences: intimations of translational control. *J Cell Biol* 1991; 115: 887-903.
11. Pelletier J, Sonenberg N. The involvement of mRNA secondary structure in protein synthesis. *Biochem Cell Biol* 1987; 65: 576-81.
12. Hoover DS, Wingett DG, Zhang J, Reeves R, Magnuson NS. Pim-1 protein expression is regulated by its 5'-untranslated region and translation initiation factor 4E. *Cell Growth Diff* 1997; 8: 1371-80.
13. Kozak M. The scanning model for translation: an update. *J Cell Biol* 1989; 108: 229-41.
14. Willis AE. Translational control of growth factor and proto-oncogene expression. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 73-86.
15. McKendrick L, Pain VM, Morley SJ. Translation initiation factor 4E. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 31-6.
16. Raught R, Gingras AC. eIF4E activity is regulated at multiple levels. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 43-57.
17. Rinker-Schaeffer CW, Graff JR, De Benedetti A, Zimmer SG, Rhoads RE. Decreasing the level of translation initiation factor 4E with antisense RNA causes reversal of ras-mediated transformation and tumorigenesis of cloned rat embryo fibroblasts. *Int J Cancer* 1993; 55: 841-7.
18. Graff JR, Boghaert ER, De Benedetti A, Tudor DM, Zimmer SG. Reduction of translation initiation factor 4E reduces tumor growth, invasion and metastasis of ras-transformed cloned rat embryo fibroblasts. *Int J Cancer* 1995; 60: 255-63.
19. Rousseau D, Kaspar R, Rozenwald IB, Gerkhe L, Sonenberg N. Translation initiation of ornithine decarboxylase and nucleocytoplasmic transport of cyclin D1 mRNAs are increased in cells overexpressing initiation factor 4E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 93: 1065-70.
20. Lai HK, Borden KLB. The PML protein suppresses cyclin D1 protein production by altering the nuclear cytoplasmic distribution of cyclin D1 mRNA. *Oncogene* 2000; 19: 1623-34.
21. Shantz LM, Pegg AE. Translational regulation of ornithine decarboxylase and other enzymes of the polyamine pathway. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 107-22.
22. Shantz LM, Pegg AE. Regulation of ornithine decarboxylase in a transformed cell line that overexpresses translation initiation factor eIF-4E. *Cancer Res* 1996; 56: 3265-9.
23. Nathan CA, Carter P, Liu L, et al. Elevated expression of eIF4E and FGF-2 isoforms during vascularization of breast carcinomas. *Oncogene* 1997; 15: 1087-94.
24. Kevil C, Carter P, Hu B, De Benedetti A. Translational enhancement of FGF-2 by eIF-4 factors, an alternate utilization of CUG and AUG codons for translation initiation. *Oncogene* 1995; 11: 2339-48.
25. Miyagi Y, Sugiyama A, Asai A, Okasaki T, Kuchino Y, Kerr S. Elevated levels of eukaryotic initiation factor 4E mRNA in a broad spectrum of transformed cell lines. *Cancer Lett* 1995; 91: 247-52.
26. Anthony B, Carter P, De Benedetti A. Overexpression of the proto-oncogene eIF-4E in breast carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1996; 65: 858-63.
27. Kerekatte V, Smiley K, Hu B, Smith A, Gelder F, De Benedetti A. The proto-oncogene/translation factor eIF-4E - A survey of its expression in breast carcinomas. *Int J Cancer* 1995; 64: 27-31.
28. Scott PAE, Smith K, Polusom R, De Benedetti A, Bicknell R, Harris AL. Differential expression of vascular endothelial growth factor mRNA versus protein isoforms expression in human breast cancer and relationship to eIF-4E. *Brit J Cancer* 1998; 77: 2385-9.
29. Li BD, McDonald JC, Nassar R, De Benedetti A. Clinical outcome in stage 1 to 3 breast carcinomas and eIF-4E expression. *Ann Surg* 1998; 227: 756-61.
30. Li BD, Liuy L, Dawson M, De Benedetti A. Overexpression of eIF-4E in breast carcinomas. *Cancer* 1997; 79: 2385-9.
31. Sorells DL, Black D, Meschonat C, Rhoads RE, De Benedetti A, Li BD. Detection of and eIF-4E gene amplification in breast cancer by competitive PCR. *An Surg Onc* 1997; 5: 232-7.
32. Nathan CA, Liu L, Li B, Nandy I, Abreo F, De Benedetti A. Detection of the proto-oncogene eIF4E in surgical margins may predict recurrence in head and neck cancer. *Oncogene* 1997; 15: 579-84.
33. Franklin S, Pho T, Abreo FW, et al. Detection of the proto-oncogene eIF4E in larynx and hypopharynx cancers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 124: 177-82.
34. Sorells DL, Ghali GE, Meschonat C, et al. Progressive amplification and overexpression of the eukaryotic initiation factor 4E gene in different zones of head and neck cancers. *Head Neck* 1999; 21: 60-5.
35. Sorells DL, Ghali GE, De Benedetti A, Nathan CA, Li BD. Progressive amplification and overexpression of the eukaryotic initiation factor 4E gene in different zones of head and neck cancers. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57: 294-9.
36. Nathan CA, Franklin S, Abreo FW, et al. Expression of eIF4E during head and neck tumorigenesis: possible role in angiogenesis. *Laryngoscope* 1999; 1253-8.
37. Nathan CA, Franklin S, Abreo FW, Nassar R, De Benedetti A, Glass J. Analysis of surgical margins with the molecular marker eIF4E: a prognostic factor in patients with head and neck cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2909-14.
38. Gingras AC, Kennedy SG, O'leary MA, Sonenberg N, Hay N. 4E-binding protein 1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt (PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 1998; 12: 502-13.
39. Haghight A, Mader S, Pause A, Sonenberg N. Repression of cap-dependant translation by 4E-binding proteins: competition with p220 for binding to eukaryotic initiation factor 4E. *EMBO J* 1995; 14: 5701-9.
40. Prochiantz A. Messenger proteins: homeoproteins, TAT and others. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 400-6.
41. Lindgren M, Hallbrink M, Prochiantz A, Langel U. Cell-penetrating peptides. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 99-103.

Summary

eIF-4E, regulation of translation and tumor progression

During tumorigenesis, a number of various biological functions are modified. These functions are all implicated in the increase of cell proliferation and the acquisition of invasive properties.

Of all the steps involved in tumor formation, the importance of translational regulation has been highlighted by recent findings, and the eIF-4E factor (eucaryotic initiation factor 4E) has been especially implicated. Overexpression of eIF-4E induces malignant cell transformation and many cancer cells overexpress eIF-4E.

eIF-4E appears to be a good marker of malignant cell transformation, and its quantification in biopsies might be useful for prognosis, as well as for the control of the surgical margins after the resection of solid tumors.

Since antagonists of eIF-4E induce reversion of transformed phenotypes, eIF-4E represents an excellent target for cancer therapy. Targeted peptides corresponding to eIF-4E BPs (eIF-4E binding proteins), which are negative regulators of eIF-4E activity, could prove useful for *in vivo* inhibition of tumor growth.

TIRÉS À PART

D. Rousseau.

m/s n° 3, vol. 17, mars 2001