

celle de *Cbfa1*, un facteur de transcription contrôlant la différenciation précoce des ostéoblastes [3], est inchangée. Ce résultat suggère que FGF18 pourrait être nécessaire à la différenciation terminale des ostéoblastes durant l'ossification intramembranaire. Au niveau des os longs, l'expression de l'ostéopontine et de l'ostéocalcine est également diminuée, mais celle de *Cbfa1* l'est aussi, suggérant que les os longs des souris mutantes contiennent moins d'ostéoblastes, ou des ostéoblastes très immatures. Durant l'ossification endochondrale, FGF18 interviendrait donc soit à un stade précoce de la différenciation ostéoblastique, soit au niveau de la prolifération des cellules pré-ostéoblastiques (Figure 1). Peut-être cette différence s'explique-t-elle par le type de récepteur auquel FGF18 se lie. Ainsi, il a été précédemment proposé que FGFR1 et FGFR2 remplissent des fonctions distinctes lors de l'ostéogénèse, le premier contrôlant plutôt la différenciation des ostéoblastes, le second la prolifération de leurs cellules progénitrices [11]. L'inactivation des récepteurs FGFR1 et FGFR2 entraînant une létalité embryonnaire précédant la squelettogénèse [12], il est à l'heure actuelle difficile de

démontrer cette hypothèse. Pour la même raison, il est impossible de déterminer si le rôle de FGF18 dans ces processus est strictement superposable à la fonction de ces deux récepteurs, ce qui en ferait leur ligand préférentiel au cours de l'ostéogénèse. Des études plus poussées, analysant par exemple des souris chez lesquelles l'expression de FGFR1 ou de FGFR2 est abolie à des stades tardifs du développement, ou spécifiquement dans le squelette (mutants conditionnels), permettront probablement d'éclaircir ces deux points. ♦

### FGF18 and its receptors in osteogenesis

#### RÉFÉRENCES

1. Wilkie AOM. Craniosynostosis: genes and mechanisms. *Hum Mol Genet* 1997 ; 6 : 1647-56.
2. Vajo Z, Francomano CA, Wilkin DJ. The molecular and genetic basis of fibroblast growth factor receptor 3 disorders: the achondroplasia family of skeletal dysplasias, Muenke craniosynostosis, and Crouzon syndrome with acanthosis nigricans. *Endocrinol Rev* 2000 ; 21 : 23-39.
3. Ducy P. Contrôle génétique de la squelettogénèse. *Med Sci* 2001 ; 17 : 1242-51.
4. Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2001 ; 2 : S3005.
5. Martin GR. The roles of FGFRs in the early development of vertebrate limbs. *Genes Dev* 1998 ; 12 : 1571-86.
6. Liu Z, Xu J, Colvin JS, Ornitz DM. Coordination of chondrogenesis and osteogenesis by fibroblast growth factor 18. *Genes Dev* 2002 ; 16 : 859-69.
7. Ohbayashi N, Shibayama M, Kurotaki Y, et al. FGF18 is required for osteogenesis and chondrogenesis in mice. *Genes Dev* 2002 ; 16 : 870-9.
8. Ohuchi H, Kimura S, Watamoto M, Itoh N. Involvement of fibroblast growth factor (FGF)18-FGF8 signaling in specification of left-right asymmetry and brain and limb development of the chick embryo. *Mech Dev* 2000 ; 95 : 55-66.
9. Karsenty G, Wagner EF. Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Dev Cell* 2002 ; 2 : 309-406.
10. Marie P. Différenciation, fonction et contrôle de l'ostéoblaste. *Med Sci* 2001 ; 17 : 1252-9.
11. Iseki S, Wilkie AO, Morriss-Kay GM. FGFR1 and FGFR2 have distinct differentiation- and proliferation- related roles in the developing mouse skull vault. *Development* 1999 ; 126 : 5611-20.
12. Xu X, Weinstein M, Li C, Deng C. Fibroblast growth factor receptors (FGFRs) and their roles in limb development. *Cell Tissue Res* 1999 ; 296 : 33-43.

## NOUVELLE

### Gènes ribosomiques et régulation de la croissance cellulaire

Tom Moss, Nicolas Bissont, Emmanuel Käs

T. Moss, N. Bissont : Centre de Recherche en Cancérologie de l'Hôtel-Dieu de Québec et Département de Biologie Médicale de l'Université Laval, 9 rue Mc Mahon, Québec (Québec), G1R 2J6 Canada.

E. Käs : Laboratoire de Biologie Moléculaire Eucaryote, Cnrs UMR 5099, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex, France.

[Tom.Moss@crhdq.ulaval.ca](mailto:Tom.Moss@crhdq.ulaval.ca)

> Les ARN ribosomiques (ARNr) constituent le cœur de l'échafaudage enzymatique du ribosome. Les gènes qui les codent sont donc investis d'une des fonctions les plus fondamentales qui soit associée à l'expression des gènes de ménage (*housekeeping genes*). Cependant, des observations récentes ont fait

naître l'idée que ces gènes, longtemps négligés, pourraient également contrôler directement des aspects importants du comportement cellulaire.

Les ARNr 18S, 5.8S et 28S sont les produits de la transcription des gènes ribosomiques, qui représente entre 35 et 60 % de la transcription nucléaire totale dans une cellule

eucaryote en phase de prolifération [1]. La transcription résiduelle correspond à la transcription des ARNm des protéines ribosomiques, de l'ARNr 5S et des petits ARN nucléaires requis pour la biogenèse des ribosomes. Une part importante de la transcription nucléaire, près de 80 % chez la levure et jusqu'à 50 % dans une cellule de



mammifère, est donc dévolue à l'assemblage des composants de la machinerie de la traduction protéique. La transcription des gènes ribosomiques et l'assemblage des ribosomes ont lieu dans le nucléole. Si ce compartiment nucléaire est également le site de plusieurs autres fonctions - le cycle cellulaire, la sénescence et des aspects du transport sont sous le contrôle de facteurs qui y sont localisés [2] - la transcription des gènes ribosomiques semble néanmoins être au cœur des événements survenant dans le nucléole.

Il existe une relation entre la régulation de la transcription dans le ribosome et la taille du nucléole [3], et l'existence même de ce dernier dépend d'une machinerie transcriptionnelle fonctionnelle [4]. La régulation de la transcription des ARNr a donc vraisemblablement une influence sur un large éventail de fonctions cellulaires, qu'elles soient ou non associées à la biogenèse des ribosomes.

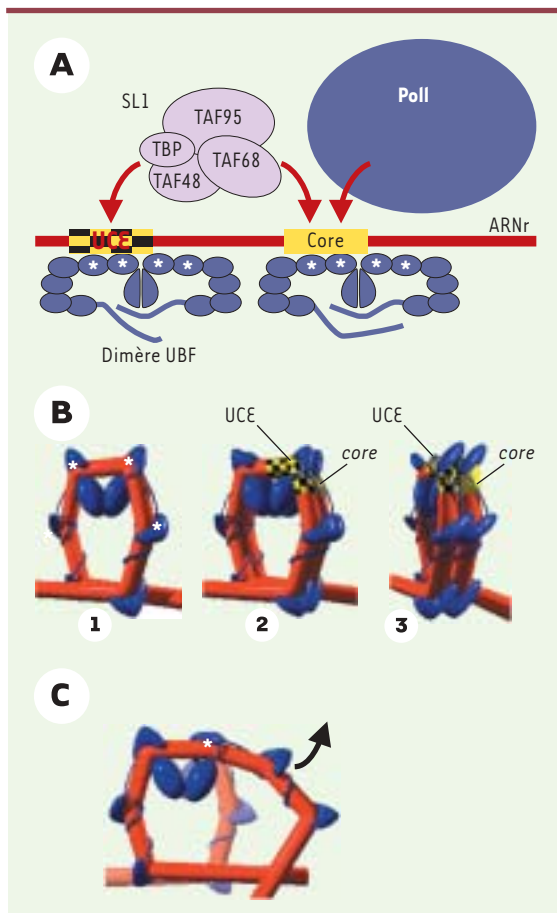
Jusqu'à tout récemment, on admettait que la régulation de la transcription des gènes ribosomiques n'était qu'un effet indirect de modifications du métabolisme cellulaire. Or, nos travaux ont montré que tel n'est pas le cas. En effet, nous avons observé que la stimulation de cellules de mammifères par l'EGF (*epidermal growth factor*) provoque une augmentation immédiate de la transcription des gènes ribosomiques. De plus, nos résultats confirment que cet effet résulte de la phosphorylation directe du facteur de transcription UBF (*upstream binding factor*) par la MAP-kinase (*mitogen-activated protein kinase*) ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*). Les facteurs de croissance activent rapidement ERK1 et 2 par l'intermédiaire d'une cascade de molécules de signalisation dont l'oncogène Raf et la kinase MEK1/2 (*MAP-ERK kinase*). Notre observation d'un effet direct et extrêmement rapide de l'activation de ERK sur l'expression des gènes ribosomiques a lieu de sur-

prendre. On peut en

déduire que ces gènes jouent probablement un rôle actif dans la détermination de la capacité de croissance et de prolifération des cellules et que la dérégulation de leur expression pourrait constituer une étape nécessaire de la carcinogénèse.

La plupart des eucaryotes possèdent plus d'une centaine de gènes chromosomiques codant pour l'ARNr, disposés sous forme d'une ou de plusieurs répétitions en tandem. Chez les mammifères, les promoteurs des gènes ribosomiques sont composés d'environ 150 paires de bases d'ADN comprenant deux motifs importants : l'élément de contrôle UCE (*upstream control element*) en amont, et l'élément promoteur basal (*core*) [1, 5]. Ces derniers peuvent être discernés de façon génétique mais ne montrent pas d'homologie de séquence entre des espèces d'ordres différents. Trois facteurs sont essentiels à la transcription des gènes ribosomiques : le facteur de remodelage de l'ADN UBF, à boîtes HMG1 (*high mobility group*), le complexe de sélectivité SL1 (*selectivity factor 1*) et l'ARN polymérase I (*Figure 1A*). Le complexe SL1 est lui-même composé de quatre polypeptides : TBP (TATA

*box-binding protein*) et trois facteurs associés à TBP et spécifiques de l'ARN polymérase I (les TAF) [1]. Selon le modèle qui est actuellement proposé, UBF s'associerait d'abord au promoteur pour permettre le recrutement de SL1, soit par l'induction d'un changement de conformation de l'ADN, soit par le biais d'une interaction directe protéine-protéine, voire par une combinaison des deux événements. UBF, probablement sous forme de deux dimères, et SL1 interagissent à la fois avec les éléments UCE et *core* du promoteur (*Figure 1A*).



**Figure 1. Rôle d'UBF dans l'assemblage du complexe d'initiation de la polymérase I sur les gènes ribosomiques.** **A.** La liaison de deux dimères d'UBF aux éléments UCE et *core* du promoteur favorise le recrutement de SL1 et de l'ARN polymérase I (PolI). Le complexe SL1 est lui-même formé de TBP (TATA box-binding protein) et de trois TAF (TBP-associated factors). Les sites de phosphorylation d'UBF sont représentés par des astérisques. **B.** La structure de l'enhancesome permet la juxtaposition des éléments UCE et *core* du promoteur des gènes ribosomiques. (1) L'enhancesome est formé par la liaison d'un dimère d'UBF à une séquence de 140 paires de base d'ADN. (2) et (3). L'interaction entre deux dimères adjacents d'UBF pourrait entraîner la formation de deux enhancesomes dans la région promotrice, représentée ici sous deux angles différents. **C.** La phosphorylation par la MAP-kinase d'une boîte HMG1 d'UBF est susceptible de provoquer une ouverture de la structure. Un enhancesome unique est schématisé à la fois lorsqu'une boîte HMG1 d'UBF est soit phosphorylée (rouge/bleu foncé), soit non phosphorylée (rouge/bleu pâle).

Nos travaux antérieurs ont montré qu'un dimère d'UBF possède la capacité d'induire, au moyen de trois de ses boîtes HMGI, la formation d'une structure semblable au nucléosome dans laquelle 140 paires de bases d'ADN forment une boucle [6-9], et que nous avons appelé l'*enhancesome* (Figure 1B). Il est probable que deux de ces structures se forment au niveau du promoteur des gènes ribosomiques, de façon à juxtaposer ses deux éléments principaux, UCE et *core*, un modèle qui explique le recrutement coopératif de SL1 au niveau de ces séquences (Figure 1B). Il apparaît clairement que la formation de l'*enhancesome* doit être précédée du désassemblage de la structure nucléosomique associée aux gènes inactifs, les deux structures étant mutuellement exclusives. Par conséquent, UBF jouerait un rôle lors de l'activation génique, non seulement en favorisant la dissociation d'une structure chromatinienne répressive, mais aussi lors de la formation du complexe de pré-initiation en permettant le recrutement de SL1 et de l'ARN polymérase I. Dans ce contexte, il est toutefois surprenant de constater qu'*in vivo*, UBF se lie à l'ensemble des séquences des gènes ribosomiques, sans spécificité ou préférence apparentes [10]. L'*enhancesome* pourrait donc posséder une seconde fonction correspondant à l'assemblage d'une structure chromatinienne alternative, spécifique des gènes ribosomiques actifs. L'interaction d'UBF avec l'ADN, et plus précisément avec le promoteur des gènes ribosomiques, est au cœur de sa fonction. Nous avons été d'autant plus surpris d'observer que la phosphorylation, par la MAP-kinase, des deux premières boîtes HMGI d'UBF nécessaires à l'activation de la transcription, empêche leur liaison à l'ADN. De même, nous avons montré que si l'inhibition de la phosphorylation de UBF, induite par la substitution des sites de phosphorylation par des alanines, n'affecte pas sa capacité de liaison à l'ADN, elle abolit néanmoins l'effet activateur d'UBF sur la

transcription. Ces mutations abolissent également la stimulation de la transcription des gènes ribosomiques par la cascade MAP-kinase. Par ailleurs, il nous a été impossible de créer une forme suractivée d'UBF en mutant en glutamates ou en aspartates les acides aminés ciblés par ERK, moyen souvent utilisé pour simuler leur phosphorylation. Ainsi, nos résultats suggèrent que la cohabitation des formes phosphorylée et non phosphorylée d'UBF est nécessaire à la stimulation de l'expression des gènes ribosomiques par les facteurs de croissance. Le mécanisme de cette stimulation est probablement lié au rôle de remodelage d'UBF. La phosphorylation par la MAP-kinase des boîtes HMGI d'UBF empêcherait leur interaction avec leurs cibles et, par conséquent, la courbure de l'ADN induite par la liaison de chacune des boîtes HMGI. Des cycles de phosphorylation-déphosphorylation d'UBF provoqueraient alors des ouver-

tures et des fermetures partielles dans l'ADN de l'*enhancesome* (Figure 1C). De tels changements dynamiques seraient requis pour permettre à la fois l'assemblage du complexe d'initiation, le dégage-ment de la polymérase du promoteur ou son déplacement à travers la chromatine des gènes ribosomiques, voire la transition d'une chromatine nucléosomique inactive à une chromatine « *enhancesomique* » active.

Quel que soit le mécanisme précis expliquant la régulation de l'activité des gènes codant pour les ARNr par les facteurs de croissance, la modulation rapide par ces derniers de l'expression de ces gènes est sans doute un processus-clé dans la prolifération et le destin cellulaires. À cet égard, nos résultats récents doivent conduire à une ré-évaluation du rôle des gènes ribosomiques dans le développement, la différenciation cellulaire et le processus tumoral. ♦

### Ribosomal genes and cell growth

## RÉFÉRENCES

1. Paule MR. *Transcription of ribosomal genes by eukaryotic RNA polymerase I*. Austin, TX USA: Landes Bioscience, 1998 : 322 p.
2. Olson MOJ, Dundr M, Szeben A. The nucleolus: an old factory with unexpected capabilities. *Trends Cell Biol* 2000 ; 10 : 189-96.
3. Stefanovsky VY, Pelletier G, Hannan R, et al. An immediate response of ribosomal transcription to growth factor stimulation in mammals is mediated by ERK phosphorylation of UBF. *Mol Cell* 2001 ; 8 : 1063-73.
4. Nomura M. Ribosomal RNA genes, RNA polymerases, nucleolar structures, and synthesis of rRNA in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 2002 ; 66 (sous presse).
5. Moss T, Stefanovsky VY. Promotion and regulation of ribosomal transcription in eukaryotes by RNA polymerase I. In : Cohn WE, Moldave K, eds. *Progress in nucleic acids and molecular biology*. San Diego : Academic Press Inc, 1995 : 25-66.
6. Bazett-Jones DP, Leblanc B, Herfort M, et al. Short-range DNA looping by the Xenopus HMG-box transcription factor, xUBF. *Science* 1994 ; 264 : 1134-7.
7. Stefanovsky VY, Bazett-Jones DP, Pelletier G, et al. The DNA supercoiling architecture induced by the transcription factor xUBF requires three of its five HMG-boxes. *Nucleic Acids Res* 1996 ; 24 : 3208-15.
8. Moss T, Stefanovsky VY, Pelletier G. The structural and architectural role of upstream binding factor, UBF. In : Paule MR, ed. *Transcription of ribosomal genes by eukaryotic RNA polymerase I*. Austin : Landes Bioscience, 1998 : 75-94.
9. Stefanovsky VY, Pelletier G, Bazett-Jones DP, et al. DNA looping in the RNA polymerase I enhancesome is the result of non-cooperative in-phase bending by two UBF molecules. *Nucleic Acids Res* 2001 ; 29 : 3241-7.
10. O'Sullivan AC, Sullivan GJ, McStay B. UBF binding *in vivo* is not restricted to regulatory sequences within the vertebrate ribosomal DNA repeat. *Mol Cell Biol* 2002 ; 22 : 657-68.

## REMERCIEMENTS

Le laboratoire de Tom Moss est soutenu par les Instituts de Recherche en Santé du Canada (IRSC) et le Centre de Recherche en Cancérologie de l'Université Laval par le Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ).