

Croissance et développement

Les FGF: une famille en croissance

Nous savions déjà que la famille des facteurs de croissance du fibroblaste (FGF) comportait de nombreux membres [1]. La connaissance que l'on a de cette famille s'est encore accrue l'été dernier, puisqu'en quelques mois le nombre de FGF répertoriés chez les vertébrés est passé de 9 à 14. Cela représente une augmentation relative de plus de 50 % !

Dans le numéro de juillet du *Journal of Biological Chemistry*, Yamasaki *et al.* [2] décrivent chez le rat le gène d'un nouveau membre de la famille, *Fgf10*. Ce nouvel FGF a été isolé par PCR en utilisant des amorces dégénérées fondées sur des portions de séquences identiques pour FGF3 et FGF7. Il

n'est donc pas étonnant que FGF10 soit proche de ces deux FGF, présentant 54 % et 55 % d'acides aminés identiques avec, respectivement, FGF3 et FGF7 (*Tableau I*).

Mais surtout, les banques de données issues des programmes de séquençage massif des EST (*expressed sequence tag*) [3] ont permis au groupe de Nathans aux États-Unis [4] et à nous-mêmes [5] d'identifier quatre séquences correspondant à de nouveaux FGF. Structuralement, ces 4 nouveaux FGF semblent constituer une sous-famille, puisqu'ils présentent entre eux de fortes similitudes de séquence (64 % à 82 % d'acides aminés identiques, voir *Tableau I*). Les données publiées à ce jour ne permettent cependant pas de

déterminer si cette similitude de structure, bien réelle, correspond à une communauté de fonction ou de mode d'action. Il faut peut-être rajouter que ces FGF n'ont jamais été mis en évidence par les méthodes (purification d'activités mitogènes ou transformantes) utilisées pour l'isolement des autres FGF, ce qui suggère qu'ils pourraient avoir des fonctions ou des modes d'action distincts des autres membres de la famille, et pourraient donc constituer aussi une sous-famille fonctionnelle.

La localisation chromosomique de presque tous les FGF a été déterminée chez l'homme ou la souris (*Tableau II*). A l'exception de *FGF2* et *FGF5*, localisés sur le chromosome 4

Tableau I
POURCENTAGE D'IDENTITÉ ENTRE LES DIFFÉRENTS FGF

	ac-FGF	ce-FGF	hs-FGF14	hs-FGF13	hs-FGF12	hs-FGF11	rn-FGF10	hs-FGF9	hs-FGF8	hs-FGF7	hs-FGF6	hs-FGF5	hs-FGF4	hs-FGF3	hs-FGF2
hs-FGF1	30	30	39	36	35	35	35	42	23	40	34	40	39	38	5
hs-FGF2	33	29	36	34	34	33	37	41	30	40	44	43	45	43	
hs-FGF3	24	36	37	39	38	36	54	47	33	46	42	50	36		
hs-FGF4	26	31	44	42	43	43	33	43	31	36	69	51			
hs-FGF5	26	34	39	41	37	38	44	47	29	44	51				
hs-FGF6	27	33	38	40	39	37	40	43	35	38					
hs-FGF7	29	36	37	36	34	35	55	43	31						
hs-FGF8	20	27	26	27	22	27	29	36							
hs-FGF9	29	37	42	43	39	40	43								
m-FGF10	30	31	31	37	36	31									
hs-FGF11	30	32	69	64	66										
hs-FGF12	27	29	82	78											
hs-FGF13	29	33	79												
hs-FGF14	28	31													
ce-FGF	24														

ac: Virus AcNPV de la tordeuse de la luzerne.
ce: *Caenorhabditis elegans*.
hs: Homo sapiens.
rn: Rattus norvegicus.

Tableau II
LOCALISATION CHROMOSOMIQUE DES GÈNES *FGF*

Gène	l'homme	la souris
<i>FGF1</i>	5q31-33 ^a	18 ^a
<i>FGF2</i>	4q26-27 ^a	3 A2-B ^a
<i>FGF3</i>	11q13 ^a	7 F ^a
<i>FGF4</i>	11q13 ^a	7 F ^a
<i>FGF5</i>	4q21 ^a	5 E1-F ^a
<i>FGF6</i>	12p13 ^a	6 F3-G1 ^a
<i>FGF7</i>	15 ^a	2 F-G ^a
<i>FGF8</i>	10q25-q26 ^a	19 C3-D ^a
<i>FGF9</i>	13q12 ^a	14 D ^b
<i>FGF10</i>	5p12-p13 ^b	–
<i>FGF11</i>	17p12 ^c	–
<i>FGF12</i>	3q28 ^c	16 B1-B3 ^b
<i>FGF13</i>	X q21 ^b	X ^d
<i>FGF14</i>	13 ^d	14 ^d

^a [5].

^b Birnbaum et al., non publié.

^c [17].

^d [4] Dans cette référence, *FGF11*, *FGF12*, *FGF13*, et *FGF14* sont respectivement désignés *FHF3*, *FHF1*, *FHF2* et *FHF4*.

humain, et de *FGF3* et *FGF4*, localisés à quelques kilobases de distance sur la même bande chromosomique (11q13 chez l'homme, 7F chez la souris), et de *FGF9* et *FGF14*, en 13q, les gènes des *FGF* sont répartis sur différentes régions du génome. A ces 14 *FGF* décrits chez les vertébrés, il convient d'ajouter un *FGF* (ce-*FGF*) identifié chez le ver nématode *Caenorhabditis elegans* et localisé sur le chromosome III [5], ainsi qu'une phase de lecture ouverte dans le

génomme d'un baculovirus, le virus de la polyhédrose nucléaire de la tordeuse de la luzerne (*AcNPV*) [6] dont le produit présomptif (ac-*FGF*) présente de fortes similitudes avec les membres de la famille *FGF*. L'analyse de la séquence d'un autre baculovirus (virus de la polyhédrose nucléaire du ver à soie *Bombyx*), déposée dans les banques de séquence mais non publiée, permet de repérer une phase de lecture ouverte pouvant coder également pour un *FGF*, dont

Tableau III

POURCENTAGE D'IDENTITÉ ENTRE *FGF4* ET *FGF6*
DE MAMMIFÈRES D'AMPHIBIENS ET DE POULET

	hs- FGF4	bt- FGF4	mm- FGF4	hs- FGF6	mm- FGF6
gd-FGF4	80	75	77	78	76
xl-FGF4-I	76	70	73	74	72
xl-FGF4-II	75	69	71	75	73

hs: homo sapiens. bt: Bos taurus. gd: Gallus domesticus. xl: Xenopus laevis. mm: Mus musculus.

la séquence est très proche de celle de ac-*FGF*. Curieusement, les gènes *FGF* des virus de *Bombyx mori* et *Autographa californica* sont sur des brins différents. Les baculovirus infectent les cellules d'insectes, et sont capables d'acquérir des fragments d'ADN de l'hôte [7, 8]. Ces gènes *FGF* pourraient donc dériver du génome des cellules cibles de ces virus. Si la présence d'un *FGF* chez le baculovirus se vérifie, cela serait le premier exemple de *FGF* chez l'insecte, chez lequel on a déjà caractérisé des récepteurs des *FGF* [9, 10]. La fonction d'un *FGF* dans le cycle d'infection virale reste cependant à élucider.

L'étude d'un arbre phylogénétique (*figure 1*), construit par la méthode de parcimonie à partir de 48 séquences correspondant aux 14 paralogues* de vertébrés et aux *FGF* décrits chez le nématode et le baculovirus, montre que tous les orthologues** sont groupés avec de fortes valeurs de *bootstrap*. La méthode des *bootstrap* permet de mesurer la solidité statistique des branchements obtenus dans un arbre phylogénétique [11]; plus la valeur de *bootstrap* est élevée, plus le branchement considéré a des chances de refléter fidèlement la réalité. En revanche, en ce qui concerne les paralogues, seuls les branchements entre *FGF1* et *FGF2* (valeur de *bootstrap* de 98 %), *FGF4* et *FGF6* (100 %), *FGF7* et *FGF10* (80 %), et le sous-groupe *FGF11*, *FGF12*, *FGF13* et *FGF14* (96 % à 100 %) ont des intervalles de confiance suffisamment élevés. Aucun des autres branchements ne dépasse la barre des 70 %. Il faut noter que le groupe des *FGF11* à *FGF14* se distingue encore, puisque ces quatre *FGF* se retrouvent branchés avec des valeurs de *bootstrap* particulièrement solides. Cela renforce l'idée que ces molécules pourraient représenter une sous-famille des *FGF*. L'analyse phylogénétique permet de suggérer un mode d'évolution de la famille des *FGF* [5]. Le fait que la plupart des branchements entre paralogues n'obtiennent que de faibles valeurs de *bootstrap* suggère

* paralogues: gènes d'une même famille dans une même espèce.

**orthologues: gènes homologues dans différentes espèces.

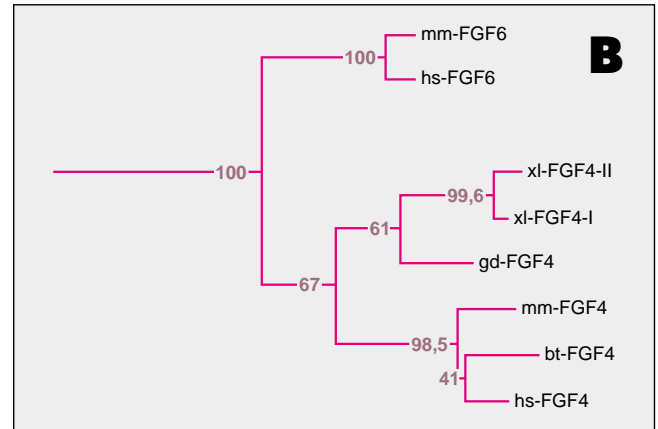
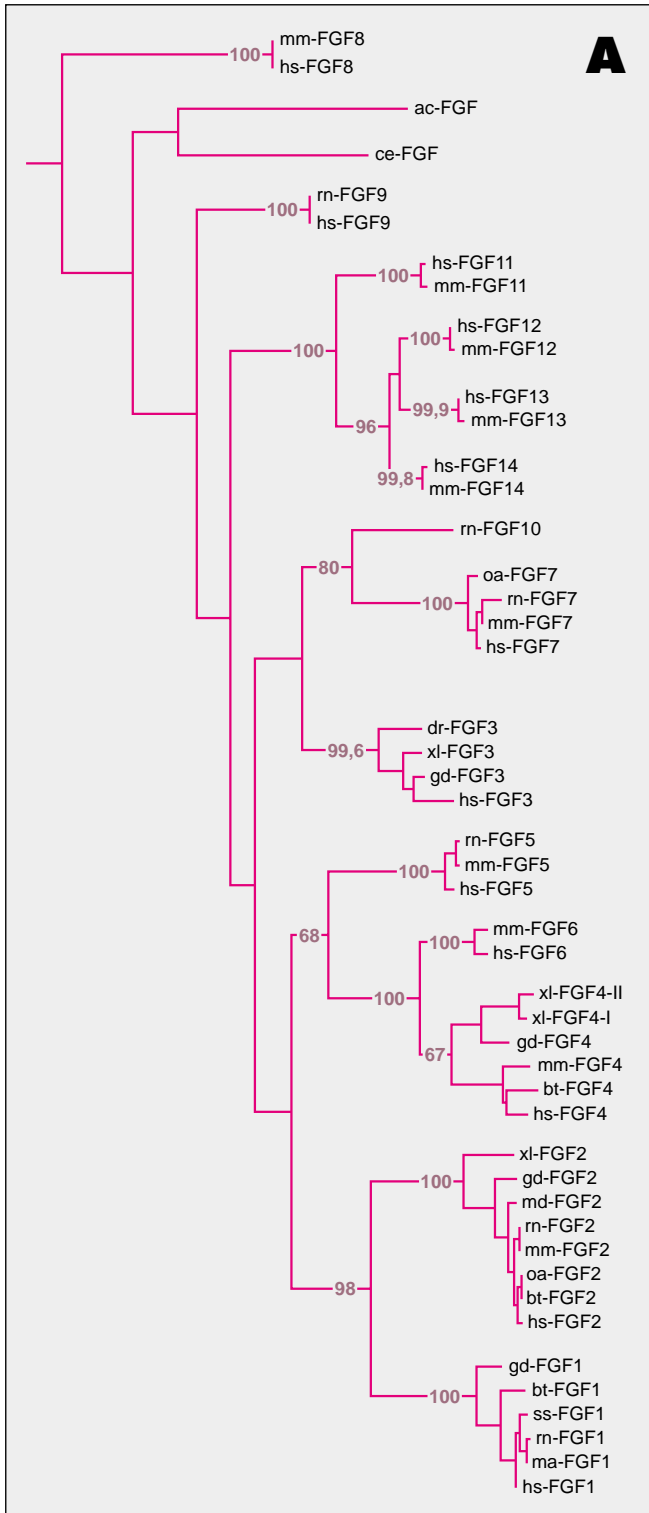


Figure 1. **Arbre phylogénétique de la famille des FGF.** L'alignement de 48 séquences de FGF a été utilisé pour dériver un arbre phylogénétique selon la méthode de parcimonie. La séquence de l'interleukine 1 β a été utilisée comme groupe extérieur. La longueur des branches est grossièrement proportionnelle au nombre de changements entre chaque nœud. Les valeurs de bootstrap (1000 rééchantillonnages) entre chaque groupe de paralogues sont indiquées lorsqu'elles sont supérieures à 60%. **A.** Arbre phylogénétique de la famille de FGF. **B.** Agrandissement montrant les branchements du groupe FGF4/FGF6. Les valeurs de bootstrap sont indiquées pour tous les branchements. Les noms d'espèces ont été abrégés: *ac*: *Autographa californica* nucléopolyhédrovirus (virus de la tordeuse de la luzerne); *bt*: *Bos taurus* (bœuf); *ce*: *Caenorhabditis elegans* (nématode); *dr*: *Danio rerio* (poisson-zèbre); *gd*: *Gallus domesticus* (poulet); *hs*: *Homo sapiens* (homme); *ma*: *Mesocricetus auratus* (hamster doré); *md*: *Monodelphis domestica* (opossum); *mm*: *Mus musculus* (souris); *oa*: *Ovis aries* (mouton); *rn*: *Rattus norvegicus* (rat); *ss*: *Sus scrofa* (porc); *xl*: *Xenopus laevis* (xénope).

que ces gènes ont évolué considérablement depuis leur séparation d'un ancêtre commun, et pourrait s'expliquer par des duplications successives

anciennes. En revanche, les duplications conduisant à l'apparition de FGF1 et FGF2, des FGF11 à 14, et dans une moindre mesure FGF7 et

FGF10, semblent avoir eu lieu plus récemment. En outre, il apparaît qu'un seul paralogue, tout aussi proche de FGF4 et FGF6 des mammi-

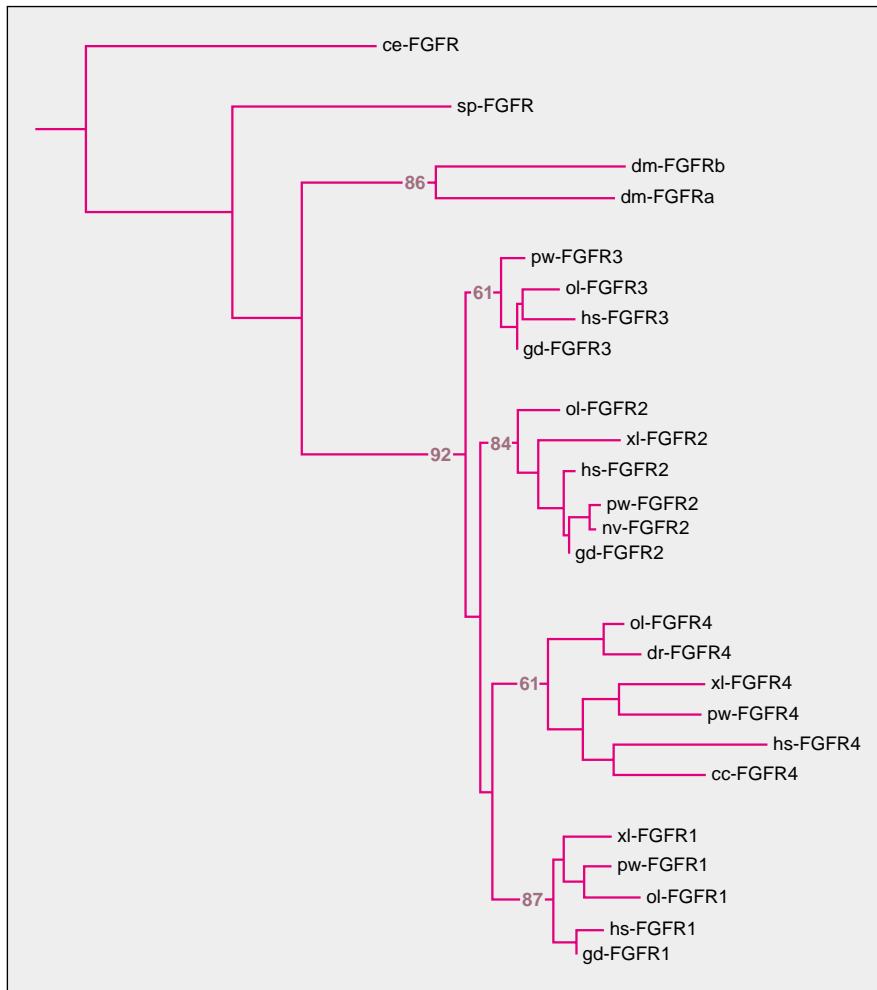


Figure 2. **Arbre phylogénétique de la famille des récepteurs des FGF.** L'alignement de portions de séquences correspondant aux domaines kinase de 25 récepteurs des FGF a été utilisé pour dériver un arbre phylogénétique selon la méthode de parcimonie. La séquence de la protéine c-SRC a été utilisée comme groupe extérieur. La longueur des branches est grossièrement proportionnelle au nombre de changements entre chaque nœud. Les valeurs de bootstrap (1000 rééchantillonnages) entre chaque groupe de paralogues sont indiquées lorsqu'elles sont supérieures à 60%. Les noms d'espèces ont été abrégés comme dans la figure 1, avec l'addition des abréviations suivantes : cc: Coturnix coturnix (caille); dm: Drosophila melanogaster (mouche du vinaigre); nv: Notophtalmus viridescens (triton); ol: Oryzias latipes (poisson medaka); pw: Pleurodeles waltl (pleurodèle); sp: Strongylocentrotus purpuratus (oursin).

fères (Tableau III), existe chez le poulet (gd-FGF4) et le batracien (deux pseudo-allèles, xl-FGF4-I et xl-FGF4-II). Incidemment, ces FGF sont groupés avec les FGF4 de mammifères avec de faibles valeurs de bootstrap (figure 1B). La duplication ayant conduit à l'émergence de FGF4 et

FGF6 a ainsi probablement eu lieu également très récemment, après la séparation des branches conduisant aux mammifères et aux oiseaux et reptiles. Il faut noter ici que FGF4 est impliqué très tôt dans le développement, puisque, outre son rôle dans la croissance des bourgeons des mem-

bres chez le poussin [12], il est nécessaire à l'implantation de l'œuf chez la souris [13]. Cela représente une fonction peu pertinente pour des animaux ovipares tels que batraciens, oiseaux et reptiles. Ainsi, la duplication supposée d'un gène ancestral conduisant à FGF4 et FGF6 peut être mise en relation avec l'apparition d'une nouvelle fonction.

Les FGF se lient, entre autres, à des récepteurs à activité tyrosine kinase [14]. Ces récepteurs, au nombre de 4, constituent eux aussi une famille, et il était intéressant d'étudier les relations phylogénétiques existant entre eux. Une telle analyse réalisée [5] à partir des séquences connues des récepteurs des FGF (FGFR) suggère l'existence d'un petit nombre de récepteurs chez les invertébrés (oursin, nématode et drosophile) et d'une expansion à 4 FGFR chez les vertébrés (figure 2). Il est intéressant de noter que les FGF et leurs récepteurs jouent un rôle important dans la formation du système squelettique, comme on peut le déduire de l'effet de mutations en pathologie humaine [15] ou dans des modèles expérimentaux [16]. Ainsi, l'augmentation du nombre des gènes FGF et FGFR pourrait avoir été un déterminant majeur pour la formation du système squelettique des vertébrés ■

RÉFÉRENCES

1. Coulier F, de Lapeyrière O, Birnbaum D. Complexité de la famille des facteurs de croissance FGF: la preuve par 9. *Med Sci* 1993; 9: 1113-5.
2. Yamasaki M, Miyake A, Tagashira S, Itoh N. Structure and expression of the rat mRNA encoding a novel member of the fibroblast growth factor family. *J Biol Chem* 1996; 271: 15918-21.
3. Lennon GG, Auffray C, Polymeropoulos M, Soares MB. The IMAGE consortium: an integrated molecular analysis of genomes and their expression. *Genomics* 1996; 33: 151-2.
4. Smallwood PM, Munoz-Sanjuan I, Tong P, et al. Fibroblast growth factor (FGF) homologous factors: new members of the FGF family implicated in nervous system development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9850-7.

5. Coulier F, Pontarotti P, Roubin R, Hartung H, Goldfarb M, Birnbaum D. Of worms and men: an evolutionary perspective on the fibroblast growth factor (FGF) and FGF receptor families. *J Mol Evol* 1997 (sous presse).

6. Ayres MD, Howard SC, Kuzio J, Lopez-Ferber M, Possee RD. The complete DNA sequence of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Virology* 1994; 202: 586-605.

7. Wang HH, Frase MJ, Cary LC. Transposon mutagenesis of baculoviruses: analysis of TFP3 lepidopteran transposon insertions at the FP locus of nuclear polyhedrosis viruses. *Gene* 1989; 81: 97-108.

8. Schetter C, Oelling C, Doerfler W. An insertion of insect cell DNA in the 81-map-unit segment of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus DNA. *J Virol* 1990; 64: 1844-50.

9. Glazer L, Shilo B. The *Drosophila* FGF-R homolog is expressed in the embryonic tracheal system and appears to be required for directed tracheal cell extension. *Genes Dev* 1991; 5: 697-703.

10. Shishido E, Higashijima S, Emori Y, Saigo K. Two FGF-receptor homologues of *Drosophila*: one is expressed in mesodermal primordium in early embryos. *Development* 1993; 117: 751-61.

11. Philippe H, Germot A, Le Guyader H, Adoutte A. Que savons-nous de l'histoire des eucaryotes? 1. L'arbre universel du vivant et les difficultés de la reconstruction phylogénétique. *Med Sci* 1995; 11: I-XIII.

12. Niswander L, Tickle C, Vogel A, Booth I, Martin GR. FGF4 replaces the apical ectodermal ridge and directs outgrowth and patterning of the limb. *Cell* 1993; 75: 579-87.

13. Feldman B, Poueymirou W, Papaioannou VE, DeChiara TM, Goldfarb M. Requirement of FGF-4 for postimplantation mouse development. *Science* 1995; 267: 246-9.

14. Coulier F, Pizette S, Batoz M, Birnbaum D. Les récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes: une famille qui s'agrandit. *Med Sci* 1992; 8: 811-8.

15. Bonaventure J, Rousseau F, Legeai-Mallet L, Benoist C, Le Merrer M, Munnich A. Récepteurs des facteurs de croissance fibroblastiques (FGFR) et anomalies héréditaires de l'ossification enchondrale et membranaire. *Med Sci* 1996; 12: 44-9.

16. Colvin JS, Bohne BA, Harding GW, McEwen DG, Ornitz DM. Skeletal overgrowth and deafness in mice lacking fibroblast growth factor receptor 3. *Nature Genet* 1996; 12: 390-7.

17. Verdier A, Mattéi M, Lovec H, Hartung H, Goldfarb M, Birnbaum D, Coulier F. Chromosomal mapping of two novel human FGF genes, *FGF11* and *FGF12*. *Genomics* 1997 (sous presse).

Daniel Birnbaum
Heike Lovec
François Coulier

Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Inserm U. 119, 27, boulevard Leï-Rouwe, 13009 Marseille, France.
email: coulier@infobiogen. fr.

Mitchell Goldfarb

Brookdale Center for Molecular Biology, Mount Sinai School of Medicine, New York NY10029, États-Unis.

Miguel Lopez-Ferber

Station de recherches de Pathologie Comparée, INRA, 30380 Saint-Christol-lez-Alès, France.

Note ajoutée aux épreuves

Alors que cet article était sous presse, D. Sutherland et collègues rapportaient l'identification d'un gène *FGF* chez la drosophile [Sutherland D, Samakovlis C, Krasnow MA. *branchless* encode a *Drosophila* FGF homolog that controls tracheal cell migration and the pattern of branching. *Cell* 1996; 87: 1091-101]. Voir la *mini-synthèse* « Fonction motogène du FGF et formation du système trachéal de drosophile », p. 397 de ce numéro (NDLR). Le produit de ce gène présente de 23% à 34% d'acides aminés identiques avec les FGF connus, et 46% avec le FGF du virus de la polyhédrose de la tordeuse de la luzerne.

TIRÉS À PART

F. Coulier.

GROUPE DE RÉFLEXION SUR LA RECHERCHE CARDIOVASCULAIRE

CONGRÈS BIOLOGIE ET PATHOLOGIE DU CŒUR ET DES VAISSEAUX

Sous le parrainage de l'Inserm et de la Société Française de Cardiologie

ARCACHON 29 et 30 AVRIL 1997

Comité local d'organisation
(secrétariat scientifique résumés)

Alain-Pierre GADEAU

Inserm U. 441, avenue du Haut-Lévêque
33600 Pessac, France.
Tél. : 05.57.89.19.79
Fax : 05.56.36.89.79

E-mail : alain.gadeau@bordeaux.inserm.fr
<http://www.bordeaux.inserm.fr/grrc.html>

Administration

(inscriptions et réservations hôtelières)

Palais des Congrès
Boulevard Veyrier-Montagnères,
33120 Arcachon, France.

Tél. : 05.56.22.47.22
Fax : 05.56.22.55.55