

Mode d'action de l'hormone de croissance

L'hormone de croissance est une hormone hypophysaire essentielle dont la sécrétion est modulée différemment selon le sexe dans de nombreuses espèces animales. C'est un facteur de croissance pour les os et les muscles, un facteur de différenciation et un régulateur métabolique pour le foie, le tissu adipeux et le muscle. Son récepteur membranaire appartient à la famille des récepteurs des cytokines. Après formation du complexe hormone-récepteur, la transmission du signal passe par au moins deux voies : (1) celle initiée par l'autophosphorylation de la tyrosine protéine kinase JAK2 conduisant à la phosphorylation des MAP-kinases puis de la S6-kinase ribosomique, et (2) celle des phospho-inositides et de la protéine kinase C. Ces signaux aboutissent à l'activation de gènes très variés, codant pour des facteurs de transcription, des hormones (principalement le facteur de croissance IGF-I), des récepteurs hormonaux, des enzymes, des protéines plasmatiques... On a décrit récemment deux éléments de réponse à l'hormone de croissance dans le promoteur des gènes de serpin mais les facteurs de transcription correspondants n'ont pas encore été identifiés. Le seul facteur de transcription reconnu en bout de chaîne de l'action de l'hormone de croissance est la protéine c-Fos dont l'expression est nécessaire pour relayer l'induction de la lipoprotéine lipase par l'hormone.

Alphonse Le Cam
Catherine Legraverend

ADRESSE

A. Le Cam : directeur de recherche Inserm.
C. Legraverend : stagiaire post-doctoral. Centre Cnrs-Inserm de pharmacologie-endocrinologie, rue de la Cardonille, 34094 Montpellier Cedex 5, France.

L'hormone de croissance (GH) est une hormone extraordinairement pléiotrope qui exerce des effets de facteur de croissance et de différenciation, et agit comme un important régulateur métabolique. Bien que d'autres hormones, comme l'insuline et les hormones thyroïdiennes, participent à la régulation de la croissance corporelle, seule l'hormone de croissance est capable de la stimuler d'une

manière dépendante de la dose [1]. A côté des effets observés *in vivo*, l'hormone de croissance s'avère capable de stimuler la différenciation de chondrocytes tibiaux [2] et d'ostéoblastes [3] en culture. Il est donc probable qu'*in vivo*, l'hormone puisse induire la différenciation des cellules de la plaque épiphysaire, rendant ces dernières sensibles à des facteurs de croissance produits par elles-mêmes (régulation autocrine) ou par d'autres cellules (régulation

paracrine), qui leur permettent de proliférer [4, 5]. Concernant ses effets sur la différenciation, l'exemple le mieux caractérisé est celui des lignées cellulaires préadipocytaires 3T3-L1 et Ob/1771 qui se différencient en culture pour donner des adipocytes sous l'action de divers effecteurs parmi lesquels l'hormone de croissance [6, 7]. Cet effet peut être mimé par le facteur insulino-sensible de type 1, IGF-I [8], dont la production est contrôlée par l'hormone de croissance.

L'hormone de croissance influence les métabolismes lipidique, glucidique et protéique à travers des effets opposés qui, paradoxalement, peuvent s'exercer sur un même tissu [9]. Les effets de l'hormone de croissance sont insulino-sensibles dans les tissus n'ayant pas été pré-exposés à l'hormone et sont inversés après exposition à l'hormone. Ainsi, l'hormone stimule-t-elle le transport de glucose et la synthèse protéique dans le muscle et le cœur d'animaux hypophysectomisés, ces tissus devenant ensuite totalement résistants à son action. De la même manière, l'hormone de croissance qui active la lipogenèse dans les adipocytes préalablement incubés en l'absence de l'hormone [10, 11] réduit l'utilisation du glucose et augmente la lipolyse dans les cellules pré-traitées par l'hormone durant 48 h [10].

Bien qu'un grand nombre de travaux aient été consacrés à l'étude du mécanisme d'action de l'hormone de croissance, celui-ci reste encore mal compris. Comme pour beaucoup d'autres hormones ou facteurs de croissance, la présence de récepteurs membranaires spécifiques sur les cellules cibles avait été démontrée il y a de nombreuses années. Cependant, ce n'est qu'à la suite du clonage de l'ADN complémentaire (ADNc) du récepteur, réalisé pour la première fois en 1987 chez l'homme et le lapin [12], que certains aspects du mécanisme de transduction du signal hormonal ont pu être élucidés au niveau moléculaire. Nous avons délibérément choisi de limiter cette revue aux aspects moléculaires de l'action de l'hormone de croissance en focalisant l'analyse sur trois points : (1) le

récepteur et son interaction avec l'hormone ; (2) les voies de transduction de l'hormone de croissance ; (3) la régulation de l'expression des gènes par l'hormone de croissance.

Le récepteur de l'hormone de croissance

La structure du récepteur

Le récepteur de l'hormone de croissance a été cloné chez diverses espèces, dont l'homme, le lapin, le rat, la souris, la vache, le porc et le poulet. Il est structurellement apparenté à ceux de la prolactine et des cytokines qui constituent la famille des récepteurs hématopoïétiques [13]. Ces récepteurs possèdent un domaine cytoplasmique variable, un domaine extracellulaire plus conservé et un seul domaine transmembranaire hydrophobe (figure 1). Le gène humain, localisé sur le chromosome 5, couvre au moins 87 kb et contient 9 exons [14]. L'ADNc du récepteur humain code pour une protéine de 626 acides aminés contenant un peptide signal et possédant un domaine transmembra-

naire [15]. Le domaine extracellulaire qui lie l'hormone comporte environ 250 acides aminés. Il contient plusieurs résidus cystéine, largement conservés chez les membres de cette famille, qui peuvent former des ponts disulfures donnant naissance à trois courtes boucles. La découverte, chez des patients présentant le syndrome de Laron, de formes mutantes du récepteur, incapables de lier l'hormone à la suite de la délétion d'exons correspondant au domaine extracellulaire [14] ou à une mutation ponctuelle (*m/s n° 5, vol. 7, p. 519, [16]*), a permis de localiser le site de liaison au niveau de la phénylalanine 96. La protéine correspondant au domaine extracellulaire du récepteur humain, exprimée dans *E. coli*, a des propriétés similaires à celles de la protéine de liaison sérique de l'hormone (GH-BP : *GH-binding protein*) qui est capable de lier 50 % de l'hormone de croissance circulante avec une forte affinité [17]. Chez l'homme et le lapin, la GH-BP est produite par coupure protéolytique de la partie extracellulaire du récepteur. Chez le rat et la souris, une GH-BP de même type existe, qui est codée par

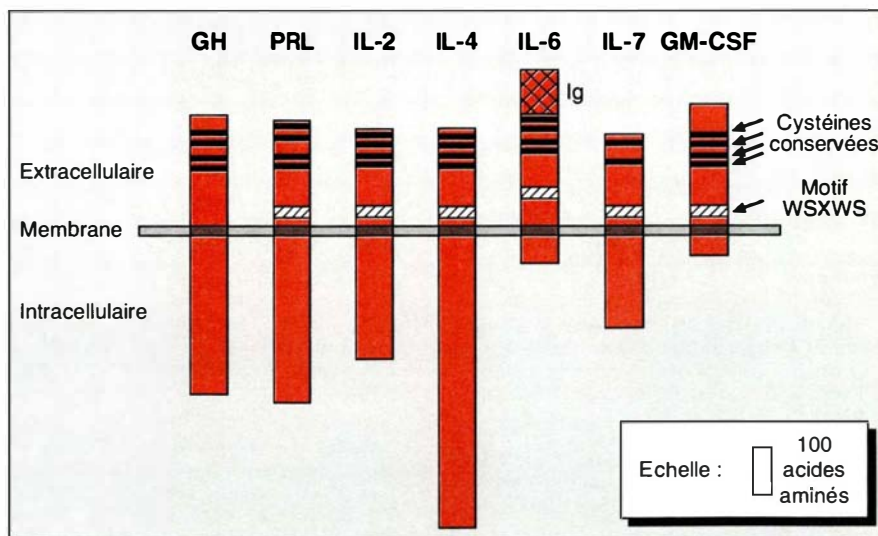


Figure 1. **Diagramme représentant la structure de quelques membres de la famille des récepteurs hématopoïétiques humains.** La partie rose représente la région de conservation maximale, les traits horizontaux renforcés représentent les cystéines conservées et les parties hachurées symbolisent le motif tryptophane-sérine-x-tryptophane-sérine (WSXWS) conservé chez tous les membres de la famille à l'exception du récepteur de l'hormone de croissance. Ig : domaine immunoglobuline-like. GH : hormone de croissance ; PRL : prolactine ; IL : interleukine ; GM-CSF : granulocyte macrophage colony-stimulating factor.

RÉFÉRENCES

1. Cheek DB, Hill DE. Effect of growth hormone on cell and somatic growth. In: Knobil ?, Sawyer ?, eds. *Handbook of Physiology*, vol IV, part 2. Washington DC: American Physiology Society: 159-85.
2. Lindahl A, Isgaard J, Nilsson A, Isaksson OGP. Growth hormone potentiates colony formation of epiphyseal chondrocytes in suspension culture. *Endocrinology* 1986; 118: 1843-8.
3. Barnard R, Ng KW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. *Endocrinology* 1991; 128: 1459-64.
4. Isaksson OGP, Jansson JO, Gause IAM. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. *Science* 1982; 216: 1237-9.
5. Russell SM, Spencer EM. Local injections of human or rat growth hormone or of purified human somatomedin-C stimulate unilateral tibial epiphyseal growth in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 1985; 116: 2563-7.
6. Morikawa M, Nixon T, Green H. Growth hormone and the adipose conversion of 3T3 cells. *Cell* 1982; 29: 783-9.
7. Doglio A, Amri E, Dani C, Deslex S, Negrel R, Ailhaud G. Effects of growth hormone in the differentiation process of preadipose cells. In: Isaksson OGP, et al., eds. *Growth hormone: basic and clinical aspects*. Elsevier. Amsterdam: 1987: 299-305.
8. Smith PJ, Wise LS, Berkowitz R, Wan C, Rubin CS. Insulin-like growth factor I is an essential regulator of the differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 1988; 263: 9402-8.
9. Goodman HM. Separation of early and late responses of adipose tissue to growth hormone. *Endocrinology* 1981; 109: 120-9.
10. Schwartz J, Carter-Su C. Effect of growth hormone on glucose metabolism and glucose transport in 3T3-F 442 A cells: dependence on cell differentiation. *Endocrinology* 1988; 122: 2247-56.
11. Smal J, De Meyts P. Sphingosine, an inhibitor of protein kinase C, suppresses the insulin-like effects of growth hormone in rat adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4705-9.
12. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G, Hammonds RG, Collins C, Henzel WJ, Barnard R, Waters MJ, Wood WI. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature* 1987; 330: 537-43.
13. Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay MC, Edery M. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocrinol Rev* 1991; 12: 235-51.
14. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, Rotwein PS, Parks JS, Laron Z, Wood WI. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 8083-7.
15. Matthews LS. Molecular biology of growth hormone receptors. *Trends Endocrinol Metab* 1991; 2: 176-80.
16. Amselem S, Duquesnoy P, Attree O, Novelli G, Boussina S, Postel-Vinay MC, Goossens M. Laron dwarfism and mutations of the growth hormone receptor gene. *N Engl J Med* 1989; 321: 989-95.
17. Fuh G, Mulkerrin MG, Bass S, McFarland N, Brochier M, Bourell JH, Light DR, Wells JA. The human growth hormone receptor: secretion, from *Escherichia coli* and disulfide bonding pattern of the extracellular domain. *J Biol Chem* 1990; 265: 311-5.
18. De Meyts P. Structure of growth hormone and its receptor: an unexpected stoichiometry. *Trends Biochem Sci* 1992; 17: 169-70.
19. Möller C, Hansson A, Enberg B, Lobie P, Norstedt G. Growth hormone induction of tyrosine phosphorylation and activation of mitogen-activated protein kinases in cells transfected with rat GH receptor cDNA. *J Biol Chem* 1992; 267: 23403-8.
20. Goujon I, Allevato G, Simonin G, Paquereau L, Le Cam A, Clark J, Nielsen JH, Djiane J, Postel-Vinay MC, Edery M, Kelly P. Cytoplasmic domains of the growth hormone receptor necessary for signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, (sous presse).

un ARN messenger produit par épissage alternatif du transcrite du gène du récepteur. Elle correspond à la partie extracellulaire du récepteur, additionnée d'un petit peptide hydrophile qui remplace les parties transmembranaire et intracellulaire. Bien qu'il ait été établi qu'elles augmentent la demi-vie de l'hormone et abaissent sa vitesse d'élimination et de dégradation *in vivo*, le rôle des protéines de liaison de l'hormone de croissance reste mal compris.

Le domaine intracellulaire du récepteur, qui couvre environ 350 résidus, correspond à la région la moins conservée chez les membres de la famille des récepteurs hématopoïétiques. Il contient dix résidus tyrosine susceptibles d'être phosphorylés, six d'entre eux étant fortement conservés dans plusieurs espèces. Le poids moléculaire apparent du polypeptide précurseur déduit de la séquence de l'ADNc est d'environ 70 000. Cependant, des expériences de pontage covalent réalisées à partir de divers types de cellules et tissus révèlent l'existence de protéines liant l'hormone ayant des tailles qui vont de 30 à 280 kDa. La nature de ces différentes protéines n'est pas complètement élucidée. Les différentes espèces moléculaires pourraient représenter des multimères ou des protéines modifiées dans des étapes post-traductionnelles. Il a été montré, en effet, que la liaison d'une molécule d'hormone provoquait la dimérisation de la protéine de liaison et que le récepteur, glycosylé, pouvait se lier à l'ubiquitine [18]. Sur la base de la reconnaissance par des anticorps monoclonaux, il semble que le récepteur de l'hormone de croissance puisse exister sous diverses formes, résultant de différentes modifications post-traductionnelles d'une seule protéine puisque, jusqu'à présent, un seul gène a été identifié.

Le récepteur de l'hormone de croissance semble posséder, dans sa région intracytoplasmique, des domaines fonctionnellement distincts qui seraient couplés aux différentes réponses biologiques induites par l'hormone de croissance. Cela est suggéré par des expériences récentes sur des récepteurs recombinants, tronqués dans leur

partie carboxy-terminale, exprimés dans différentes lignées cellulaires dépourvues de récepteurs (cellules CHO). Les résultats obtenus par ce type d'approche sont présentés sur la *figure 2*. La délétion des 165 acides aminés de la partie carboxy-terminale du récepteur a peu ou pas d'effet sur la liaison de l'hormone, l'internalisation du récepteur, la stimulation de la synthèse lipidique et de la prolifération cellulaire, la stimulation des protéine kinases activées par les mitogènes (MAP kinases) et la phosphorylation du récepteur sur les résidus tyrosine. En revanche, la délétion complète du domaine intracellulaire abolit toutes ces activités, hormis la liaison de l'hormone [19]. Une délétion d'amplitude comparable (les 184 derniers acides aminés) abolit totalement l'activation transcriptionnelle de gènes chimères contenant le promoteur du gène *spi 2.1* (inhibiteur de protéase à sérine), ou celui de la β -lactoglobuline, couplé à l'ADNc de la chloramphénicol acétyl transférase bactérienne (*cat*), utilisé comme rapporteur [20]. Cette observation a été reproduite dans la lignée d'hépatome de rat BRL transfectée de façon stable avec l'ADNc du récepteur de l'hormone de croissance de rat. Dans ce système, l'hormone de croissance stimule la transcription d'un gène chimère comportant 6 copies d'un élément de réponse à l'hormone dérivé du gène *spi 2.1*, placé en amont du promoteur minimal de la thymidine kinase couplé au gène *cat* (Norstedt, observation non publiée). Enfin, il a également été démontré que la partie juxtamembranaire du domaine intracellulaire du récepteur comprend une région riche en proline (acides aminés 279 à 293) absolument requise pour l'activation transcriptionnelle [20].

Formation et devenir du complexe hormone-récepteur

Comme pour les autres hormones polypeptidiques, la première étape de l'action biologique de l'hormone de croissance est la liaison à son récepteur membranaire. Des études cristallographiques récentes, réalisées avec de la GH-BP recombinante obtenue chez *E. coli*, ont montré

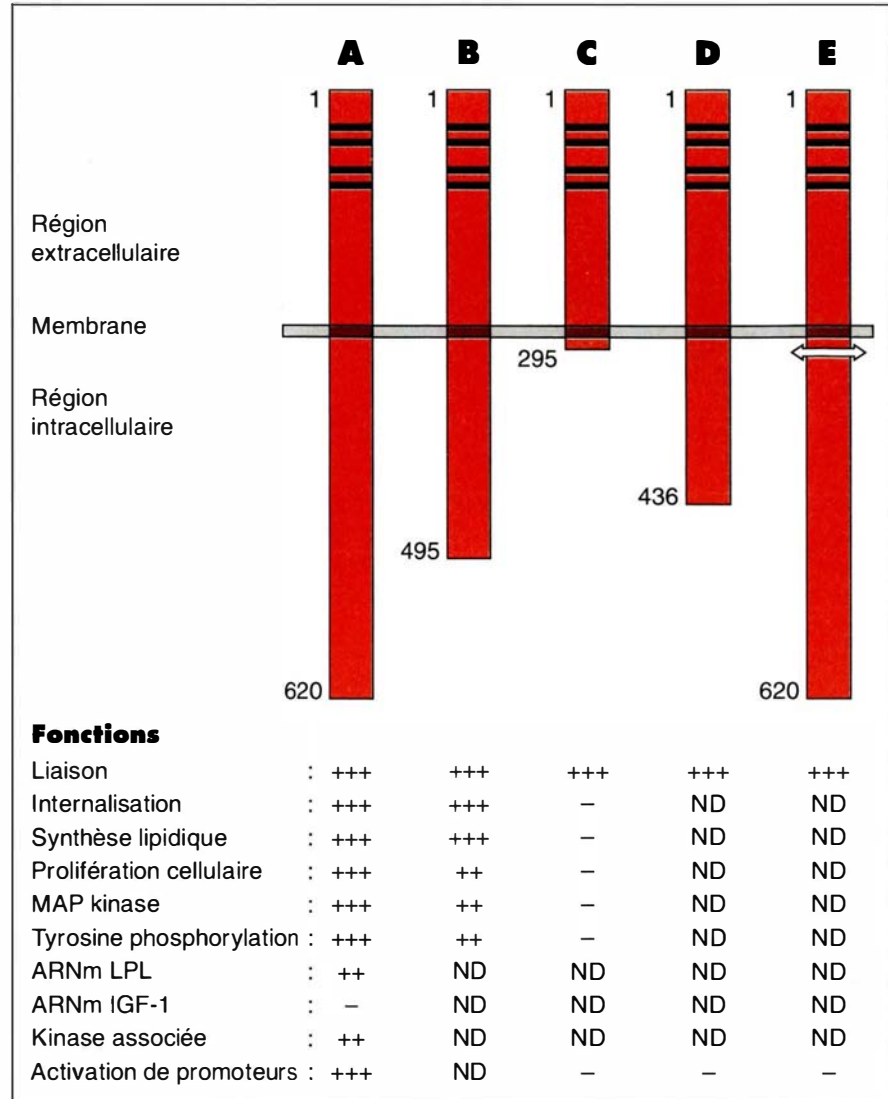


Figure 2. **Relation structure-fonction du récepteur de l'hormone de croissance.** La forme sauvage (A, acides aminés 1-620) et les différentes formes tronquées dans le domaine intracellulaire (B, C, D, E) du récepteur de l'hormone de croissance ont été exprimées dans la lignée cellulaire CHO. Le mutant E a subi une délétion interne, ôtant la région riche en proline, entre les acides aminés 279 et 293. Leur capacité fonctionnelle a été analysée pour un ensemble d'effets connus de l'hormone de croissance dans ses cellules cibles (fonctions). La capacité d'activation transcriptionnelle (activation des promoteurs) a été analysée après co-transfection de chimères portant le promoteur du gène *spi 2.1* ou β -lactoglobuline couplé au gène *cat*. ND: non déterminé.

qu'une molécule d'hormone se lie à deux molécules de GH-BP [21]. Bien qu'il reste à démontrer que le même type d'association existe avec le récepteur natif, cela suggère très fortement que la dimérisation du récepteur est importante pour son internalisation et la transmission du message hormonal. Une des caractéristiques du récepteur de l'hormone

de croissance est sa vitesse de renouvellement plus rapide en présence d'hormone qu'en son absence ($t = 30$ à 90 min) [22]. Le processus d'internalisation met vraisemblablement en jeu la formation de vésicules mantelées (*coated pits*) dans lesquelles se concentrent les molécules de récepteurs, puis leur transfert à l'intérieur de la cellule vers le com-

RÉFÉRENCES

21. De Vos AM, Ulsch M, Kossiakoff AA. Human growth hormone and extracellular domain of its receptor : crystal structure of the complex. *Science* 1992 ; 255 : 306-12.
22. Roupas P, Herington AC. Cellular mechanisms in the processing of growth hormone and its receptor. *Mol Cell Endocrinol* 1989 ; 61 : 1-12.
23. Lobie PE, Barnard R, Waters MJ. The nuclear growth hormone receptor binding protein. Antigenic and physicochemical characterization. *J Biol Chem* 1991 ; 266 : 22645-52.
24. Tiong TS, Herington AC. Ontogeny of messenger RNA for the rat growth hormone receptor and serum binding protein. *Mol Cell Endocrinol* 1992 ; 83 : 133-41.
25. Foster CM, Shafer JA, Rozsa FW, Wang X, Lewis SD, Renken DA, Natale JE, Schwartz J, Carter-Su C. Growth hormone promoted tyrosyl phosphorylation of growth hormone receptors in murine 3T3-F442A fibroblasts and adipocytes. *Biochemistry* 1988 ; 27 : 326-34.
26. Wang X, Möller C, Norstedt G, Carter-Su C. Growth hormone-promoted tyrosyl phosphorylation of a 121-kDa growth hormone receptor-associated protein. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 3573-9.
27. Stred SE, Stubbart JR, Argetsinger IS, Smith WC, Shafer JA, Talamantes F, Carter-Su C. Stimulation by growth hormone (GH) of a receptor-associated tyrosine kinase activity. *Endocrinology* 1992 ; 130 : 1626-36.
28. Argetsinger IS, Campbell GS, Yang X, Witthuhn BA, Silvennoinen O, Ihle JN, Carter-Su C. Identification of JAK2 as a growth hormone receptor-associated tyrosine kinase. *Cell* 1993 ; 74 : 237-44.
29. Merida I, Gaulton GN. Protein tyrosine phosphorylation associated with activation of the interleukin 2 receptor. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 5690-4.
30. Yoshimura A, Lodish HF. *In vitro* phosphorylation of the erythropoietin receptor and an associated protein, pp130. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 706-15.
31. Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell* 1990 ; 61 : 203-12.
32. Koch CA, Anderson D, Moran MF, Ellis C, Pawson T. SH2 and SH3 domains : elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. *Science* 1991 ; 252 : 669-74.

partiment lysosomal. Cependant, contrairement à beaucoup d'autres complexes hormone-récepteurs retrouvés dans les lysosomes, celui de l'hormone de croissance n'est pas dissocié par le milieu acide de ces particules [22]. Dans l'adipocyte, 75 % des complexes hormone-récepteurs internalisés sont dégradés dans les lysosomes et 25 % sont relâchés dans le milieu extracellulaire, le récepteur pouvant alors être recyclé. Le rôle de ces processus d'internalisation et de recyclage dans la transmission du signal hormonal reste hypothétique.

L'expression du récepteur et sa régulation

Le récepteur de l'hormone de croissance a été trouvé dans de nombreux tissus et cellules à l'exception de certains organes comme le thymus, les testicules et le cerveau où son ARNm est pratiquement indétectable [13]. Les hépatocytes et les adipocytes sont les cellules dans lesquelles le niveau d'expression est le plus élevé. Une fraction du récepteur, possédant les caractéristiques normales de liaison de l'hormone de croissance, est retrouvée dans le cytosol préparé à partir du foie, du cœur, du rein, du tissu adipeux et du muscle. Ces molécules de récepteur sont, soit des molécules en cours de maturation, soit des récepteurs internalisés. Récemment, à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre la partie extracellulaire, le récepteur de l'hormone de croissance, ainsi que sa protéine de liaison, ont été localisés dans les noyaux d'hépatocytes de lapin, conduisant à l'hypothèse d'une possible action intranucléaire de l'hormone [23].

L'expression du récepteur de l'hormone de croissance varie au cours du développement [24]. Dans le foie, le taux du transcrit de 4,5 kb, très faible durant la vie fœtale, augmente 20 à 30 jours après la naissance et se stabilise à environ 40 jours. La capacité des cellules hépatiques (mais également d'autres cellules) à lier l'hormone apparaît d'une manière concomitante et reste constante durant la vie adulte. L'expression du récepteur est contrôlée par diverses hormones, d'une manière différente selon les tis-

sus [22]. Ainsi, l'hypophysectomie, dont la conséquence majeure est une perte de production de l'hormone de croissance, d'hormones thyroïdiennes et de glucocorticoïdes, diminue l'expression du récepteur de l'hormone de croissance dans l'adipocyte mais l'augmente dans l'hépatocyte. L'hormone de croissance, la thyroxine et les glucocorticoïdes rétablissent l'expression adipocytaire des récepteurs chez les animaux hypophysectomisés et augmentent la capacité des hépatocytes en culture à lier l'hormone. En revanche, l'exposition chronique des lymphocytes IM9 à l'hormone de croissance provoque une diminution du nombre de ses récepteurs. L'expression des récepteurs hépatiques (ARNm et protéine) augmente au cours de la grossesse et diminue lors du jeûne. Dans le diabète de type I, la diminution de capacité de liaison des hépatocytes n'est pas corrélée à une baisse du transcrit du récepteur. Il apparaît donc que l'expression du récepteur de l'hormone de croissance peut être réglée au niveau pré-transcriptionnel (transcriptionnel et/ou post-transcriptionnel) mais également au niveau post-transcriptionnel.

Les voies de signalisation de l'hormone de croissance et les messagers intracellulaires potentiels

Les travaux réalisés durant les dernières années suggèrent l'existence d'au moins deux voies de signalisation de l'hormone de croissance dont les principaux éléments sont présentés sur la *figure 3*. La première implique l'activation d'une cascade de réactions de phosphorylation et la seconde la génération de messagers intracellulaires de nature lipidique.

La voie des phosphorylations en cascade

Comme pour beaucoup d'autres hormones polypeptidiques (EGF, PDGF, NGF*, insuline..), la liaison de l'hormone de croissance à son récepteur membranaire est suivie de la phosphorylation rapide de ce récepteur sur des résidus tyrosine.

* EGF : epidermal growth factor ; PDGF : platelet-derived growth factor ; NGF : nerve growth factor.

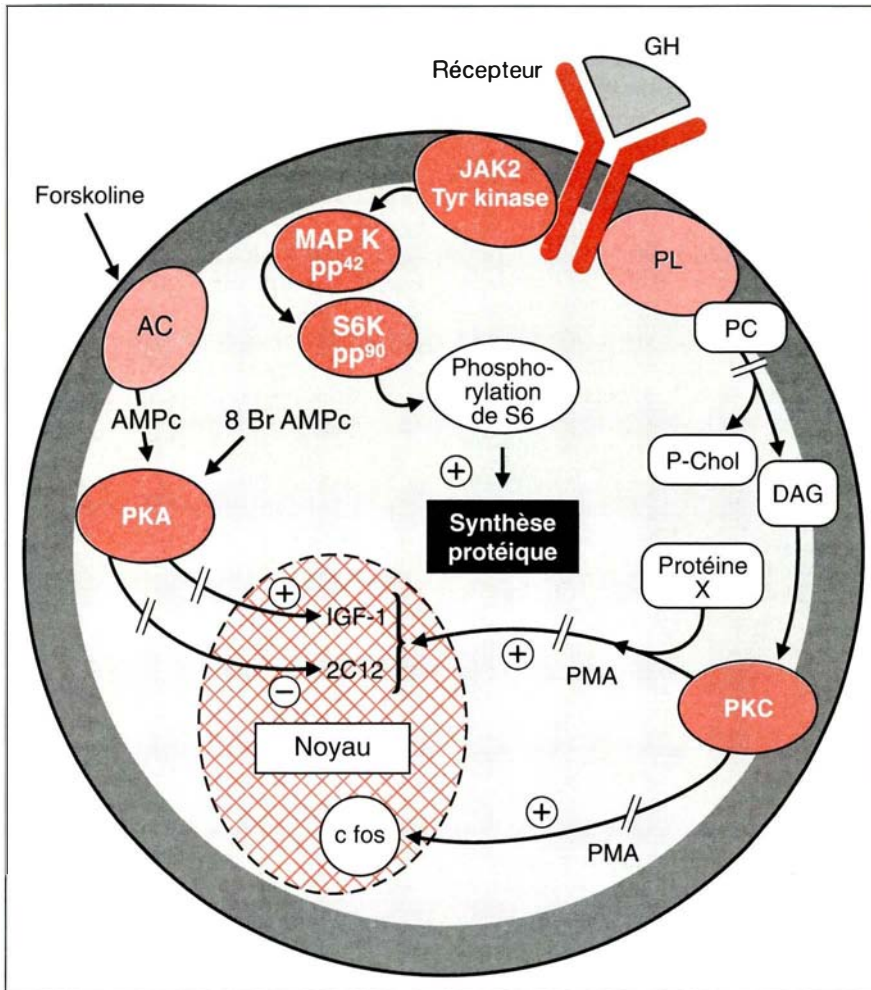


Figure 3. **Diagramme schématisant les voies de signalisation de l'hormone de croissance dans ses cellules cibles.** La liaison de l'hormone au récepteur, qui entraîne sa dimérisation, active au minimum deux voies de signalisation. La première voie met en jeu une cascade de phosphorylations relayées par différentes kinases (JAK 2*, MAP kinases (MAPK : pp42), S6 kinase (S6K : pp90)). Elles phosphorylent la protéine ribosomale S6, pouvant conduire à une augmentation de la synthèse protéique (spécifique ou non). La seconde voie implique l'activation de phospholipases (PL). Elles hydrolysent des phospholipides, dont la phosphatidylcholine (P-chol) et libèrent des médiateurs intracellulaires tels que la phosphocholine (P-chol) et le diacylglycérol (DAG). Cet effet est suivi de l'activation des PKC qui, dans l'hépatocyte, est nécessaire pour stimuler la transcription de gènes codant pour c-FOS, IGF-1 et le cytochrome P-450 2C12. Dans le cas des gènes IGF-1 et 2C12 l'activation des PKC n'est pas suffisante et nécessite la néosynthèse d'une protéine de nature indéterminée (protéine X). L'activation des protéines kinases de type A (PKA) par l'AMPc, à la suite d'une stimulation de l'adénylate cyclase (AC) par la forskoline, ou directement par un analogue non-métabolisable tel que le 8-bromo AMPc (8Br-AMPc), peut inhiber (cytochrome P-450 2C12) ou non (IGF-1) l'action de l'hormone de croissance sur l'expression de différents gènes.

Cela a été observé dans les adipocytes et les fibroblastes 3T3-F442A [25], ainsi que dans les lymphocytes, les cellules d'hépatome en culture et des fibroblastes CHO exprimant un récepteur recombinant [26]. Le fait que le récepteur de l'hormone de croissance ne présente aucune analogie avec d'autres récepteurs ou protéines à activité tyrosine kinase pose le problème du mécanisme impliqué dans cette phosphorylation. L'hypothèse la plus probable, qui a récemment reçu un début de confirmation, est que le récepteur est étroitement associé à une tyrosine kinase (p121) activée par le complexe hormone-récepteur et qui, à la suite de cette activation, phosphoryle le récepteur [27]. Cette kinase a récemment été identifiée comme étant la tyrosine protéine kinase JAK2. Son association avec le récepteur de l'hormone de croissance a récemment été démontrée dans les cellules CHO exprimant un récepteur recombinant tronqué [28]. Il est intéressant de noter que les récepteurs de l'IL2 et de l'érythropoïétine, qui appartiennent à la même famille, sont également étroitement associés à une tyrosine kinase [29, 30], suggérant que les voies de signalisation de ces divers facteurs puissent comporter des éléments communs*.

Quelles sont les conséquences de la phosphorylation du récepteur de l'hormone de croissance et joue-t-elle un rôle dans la transmission du message hormonal ? Il a été clairement démontré que la phosphorylation des résidus tyrosine des récepteurs possédant une activité tyrosine kinase intrinsèque (insuline, EGF), qui est l'une des étapes initiales majeures pour l'action mitogénique [31], permet une association avec des kinases cellulaires telles que la phosphatidylinositol 3-kinase ou des enzymes telles que la protéine GAP (*GTPase activating protein*) et la phospholipase C γ possédant des domaines SH2 (*src homology domain II*) [32]. Ce type d'association n'a pour le moment pas été démontré dans le cas du récepteur de l'hormone de croissance. Plusieurs pro-

* Voir aussi note ajoutée aux épreuves p. 1361.

RÉFÉRENCES

33. Campbell GS, Pang I, Miyasaka T, Saliel AL, Carter-Su C. Stimulation by growth hormone of MAP kinase activity in 3T3-F442A fibroblasts. *J Biol Chem* 1992; 267: 6074-80.
34. Winston LA, Bertics P. Growth hormone stimulates the tyrosine phosphorylation of 42- and 45-kDa ERK-related proteins. *J Biol Chem* 1992; 267: 4747-51.
35. Campbell GS, Christian IJ, Carter-Su C. Evidence for involvement of the growth hormone receptor-associated tyrosine kinase in actions of growth hormone. *J Biol Chem* 1993; 268: 7427-34.
36. Catalioto RM, Ailhaud G, Negrel R. Diacylglycerol production induced by growth hormone in Ob 1771 preadipocytes arises from phosphatidylcholine breakdown. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 173: 840-68.
37. Slootweg MC, van Genesen ST, Otte AP, Duursma SA, Kruijer W. Activation of mouse osteoblast growth hormone receptor: *c-fos* oncogene expression independent of phosphoinositide breakdown and cyclic AMP. *J Mol Endocrinol* 1990; 4: 265-74.
38. Doglio A, Dani C, Grimaldi P, Ailhaud G. Growth hormone stimulates *c-fos* gene expression by means of protein kinase C without increasing inositol lipid turnover. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1148-52.
39. Smal J, De Meyts P. Role of kinase C in the insulin-like effects of human growth hormone in rat adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 147: 1232-40.
40. Tollet P, Legraverend C, Gustafsson JÅ, Mode A. A role for protein kinases in the growth hormone regulation of cytochrome P-450 2C12 and insulin-like growth factor-I messenger RNA expression in primary adult rat hepatocytes. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 1351-8.
41. Brabant G, Prank K, Schöfl C. Pulsatile patterns in hormone secretion. *Trends Endocrinol Metab* 1992; 3: 190-3.
42. Legraverend C, Mode A, Wells T, Robinson L, Gustafsson JA. Hepatic steroid hydroxylating enzymes are controlled by the sexually-dimorphic pattern of growth hormone secretion in both normal and dwarf rats. *FASEB J* 1992; 6: 711-8.
43. Johnson TR, Rudin SD, Blossey BK, Ilan J, Ilan J. Newly synthesized RNA: Simultaneous measurements in intact cells of transcription rates and RNA stability of insulin-like growth factor I, actin, and albumin in growth-hormone stimulated hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5287-91.
- téines cellulaires sont également rapidement phosphorylées en réponse à l'hormone. C'est le cas de protéines appartenant à la famille des sérine/thréonine/tyrosine kinases appelées MAP kinases (*mitogen activated protein kinases*) [33] ou kinases ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) dans les fibroblastes 3T3-F442A [26, 34] et les cellules CHO exprimant un récepteur recombinant [26], ainsi que d'une protéine de 97 kDa non identifiée [26]. Il a été montré récemment que la tyrosine kinase associée au récepteur (JAK2) phosphoryle les MAP kinases ainsi que d'autres protéines cellulaires dans les fibroblastes 3T3-F442A [35]. Les MAP kinases font partie des protéines kinases intracellulaires, incluant la S6 kinase, impliquées dans les voies de signalisation de nombreux facteurs mitogéniques et de différenciation [31]. L'activation de gènes (IGF-I, cytochrome P-450 2C12), et l'augmentation de la synthèse protéique globale, observées en réponse à l'hormone de croissance, pourrait résulter de l'activation de cette cascade de protéine kinases conduisant, entre autres, à la phosphorylation de la protéine ribosomale S6 qui est une étape clé de la synthèse protéique.

La voie des médiateurs lipidiques

Si des études récentes tendent à attribuer un rôle important à certaines molécules d'origine lipidique dans l'action de l'hormone de croissance, les résultats restent contradictoires et ne permettent pas de dégager un mécanisme univoque. Ainsi, l'hormone de croissance active une phospholipase C (PLC) qui hydrolyse des phosphoinositides, libérant le diacylglycérol et l'inositol 3-phosphate dans les membranes basolatérales du tubule proximal de rein de chien. En revanche, l'hormone inhibe l'activation d'une PLC par l'insuline dans le tissu adipeux. Dans les hépatocytes, les cellules pré-adipocytaires Ob1771 et les ostéoblastes en culture, l'hormone de croissance stimule la production de diacylglycérol. Cependant, dans les pré-adipocytes Ob1771, cette production de diacylglycérol est observée sans augmentation concomitante des inositol phosphates et met en

jeu un mécanisme d'hydrolyse de la phosphatidylcholine qui est sensible à la toxine pertussique [36]. Il existe aussi d'autres effets de l'hormone de croissance qui n'impliquent pas de médiateurs lipidiques. C'est le cas, par exemple, de l'induction de l'ARNm de *c-Fos* dans les ostéoblastes murins, qui n'est pas accompagnée d'un changement du turnover des phosphoinositides [37]. Les protéines kinases C (PKC, sérine/thréonine kinases), activées par le diacylglycérol et le calcium, sont des candidats potentiels susceptibles de relayer, au moins en partie, les effets de l'hormone de croissance [38-40]. Cette hypothèse est étayée par plusieurs observations: (1) les esters de phorbol activateurs des PKC miment certains effets de l'hormone; (2) la déplétion des cellules en PKC atténue certaines des réponses cellulaires à l'hormone; (3) l'action lipogénique de l'hormone de croissance dans l'adipocyte de rat est bloquée par des inhibiteurs des PKC tels que l'acridine orange et la sphingosine; (4) dans les ostéoblastes et les pré-adipocytes Ob1771 en culture, l'induction de l'ARNm de *c-Fos* dépend, *via* la formation de diacylglycérol, de l'activation des PKC. En revanche, l'induction de l'ARNm du facteur IGF-I dans les pré-adipocytes Ob1771 est indépendante de son activation [38]. Cela suggère que l'activation des PKC seule n'est pas suffisante ou qu'elle ne participe pas à ce type d'effet. L'existence d'une interaction entre les sérine/thréonine kinases de types C et A au cours de la transduction du signal hormone de croissance est suggérée par le fait que l'activation des PKA par la forskoline inhibe l'induction par l'hormone de croissance de la transcription du cytochrome P-450 2C12 [40].

Régulation de l'expression génique par l'hormone de croissance

Les signaux intracellulaires déclenchés par la liaison de l'hormone de croissance à son récepteur se propagent, au moins en partie, jusqu'au noyau, la majorité de ses effets impliquant une modulation de

Tableau I		
EXEMPLES DE GÈNES CONTRÔLÉS PAR L'HORMONE DE CROISSANCE <i>IN VIVO</i> ET DANS DES CULTURES DE CELLULES OU DES LIGNÉES CELLULAIRES ÉTABLIES		
Gènes	Tissu/cellule	Effet
<i>Récepteurs</i>		
EGF-R	Foie	+
GH-R	Foie, hépatome, tissu adipeux, chondrocyte	+
Prolactine-R	Foie, hépatocyte	+
Œstrogène-R	Foie	+
<i>Protéines de liaison</i>		
IGF-BP1	Foie	-
IGF-BP3	Ovaire	+
GH-BP	Foie	+
<i>Hormones</i>		
Insuline	Insulinome	+
Somatostatine	Hypothalamus	+
IGF-I	Os, ostéoblaste, foie, hépatocyte, adipocyte, pré-adipocyte	+
<i>Enzymes</i>		
Cyt P-450 2C12	Foie, hépatocyte	+/-
Cyt P-450 C27/25	Foie	+
Alcool déshydrogénase	Hépatocyte	+
Lipoprotéine lipase	Pré-adipocyte	+
Glutamine synthétase	Foie	+
<i>Facteurs de transcription</i>		
<i>c-fos</i>	Ostéoblaste, ostéocyte, pré-adipocyte, hépatocyte,	+
<i>c-myc</i>	Ostéoblaste	+
<i>c-jun</i>	Ostéoblaste, pré-adipocyte	+
<i>Protéines diverses</i>		
Serpines (spi)	Foie, hépatocyte	+
Albumine, α 2U-globuline	Foie	+
Collagène	Fibroblaste	
Myosine, chaîne lourde	Muscle	+
Vinculine, fibronectine	Pré-adipocyte	+

l'expression génique. Dans le *Tableau I* sont répertoriés les principaux gènes dont l'expression est affectée par l'hormone ainsi que les tissus cibles correspondants. L'examen de cette liste appelle plusieurs remarques. La première concerne la grande diversité des gènes contrôlés par l'hormone de croissance. En effet, elle contrôle au niveau transcriptionnel l'expression de gènes codant pour des protéines de nature et de fonction particulièrement variées telles que des hormones (somatostatine, IGF-I, insuline), des récepteurs (EGF, GH, prolactine, œstrogènes), des protéines de liai-

son d'hormone (IGF-BP), des enzymes (cytochrome P-450, alcool déshydrogénase, lipoprotéine lipase, glutamine synthétase), des proto-oncogènes (c-Fos, c-Jun, c-Myc) et des protéines diverses (anti-protéases SPI, α 2-u globuline). Cela suggère l'existence d'éléments régulateurs communs dans ces différents gènes. La seconde est le fait que le foie et le tissu adipeux, sièges de la synthèse du glycogène et des graisses, sont les cibles cellulaires préférentielles de l'hormone de croissance ; l'hormone contribuerait donc de manière importante à l'homéostasie métabolique. Une

autre caractéristique concerne la relation existant entre le mode de production de l'hormone et son action régulatrice de l'expression génique. Dans le foie, les gènes dont l'expression est soumise à une régulation par l'hormone de croissance peuvent être classés en deux groupes. Les gènes du premier groupe codent, en particulier, pour le facteur IGF-I et les protéines SPI, et semblent nécessiter la présence continue de l'hormone pour leur expression. Les gènes du second groupe, représentés par ceux de la sous-famille des cytochromes P-450 IIC, sont réglés de manière plus subtile puisque leur expression dépend étroitement du caractère pulsatile de la production d'hormone de croissance, reflété au niveau de son taux circulant [41]. Cette pulsativité résulte essentiellement de l'action antagoniste de deux hormones hypothalamiques, la GHRH (*growth hormone releasing hormone*) et la somatostatine, qui exercent, respectivement, un effet positif et un effet négatif sur la production de GH. De plus, le caractère pulsatile de la sécrétion hypophysaire est sexuellement différencié chez plusieurs espèces, dont l'homme, et, d'une manière plus marquée, chez le rat. Chez le rat mâle adulte, des pics d'amplitude importante interviennent toutes les 3 à 4 h, la concentration circulante étant quasi nulle entre les pics. Chez la femelle, la production est plus soutenue, les pics sont plus fréquents et de moindre amplitude. Des travaux récents ont en fait montré que, chez le rat adulte, l'expression sexuellement différenciée de certains membres de la famille des cytochromes P-450 IIC dépend moins de l'amplitude des pics que de la concentration sérique entre les pics, qui est inférieure à 1 ng/ml chez le mâle et supérieure à 5 ng/ml chez la femelle [42]. Des expériences réalisées *in vitro* sur des hépatocytes en culture primaire ont, tout au moins en partie, permis de reproduire la situation rencontrée *in vivo*. En effet, l'exposition chronique des hépatocytes de rat à l'hormone de croissance, situation proche de celle rencontrée chez la femelle *in vivo*, induit la transcription du gène du cytochrome P-450 IIC12 (femelle)

RÉFÉRENCES

44. LeGraverend C, Mode A, Westin S, Ström A, Eguchi H, Zaphiropoulos PG, Gustafsson JA. Transcriptional regulation of rat *c-fos* gene subfamily members by sexually dimorphic pattern of growth hormone secretion. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 259-66.
45. Yoon JB, Towle HC, Seelig S. Growth hormone induces two mRNA species of the serine protease inhibitor gene family in rat liver. *J Biol Chem* 1987; 262: 4284-9.
46. Le Cam A, Pagès G, Auburger P, Le Cam G, Leopold P, Benarous R, Glaischenhaus N. Study of a growth hormone-regulated protein secreted by rat hepatocytes: cDNA cloning, anti-protease activity and regulation of its synthesis by various hormones. *EMBO J* 1987; 6: 1225-32.
47. Pradines-Figuères A, Barcellini-Couget S, Dani C, Vannier C, Ailhaud G. Transcriptional control of the expression of lipoprotein lipase gene by growth hormone in preadipocytes Ob1771 cells. *J Lipid Res* 1990; 31: 1283-91.
48. Doglio A, Dani C, Fredrikson G, Grimaldi P, Ailhaud G. Acute regulation of insulin-like growth factor-I gene expression by growth hormone during adipose tissue differentiation. *EMBO J* 1987; 6: 4011-6.
49. Yoon JB, Berry SA, Seelig S, Towle HC. An inducible nuclear factor binds to a growth hormone-regulated gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 19947-54.
50. Paquereau L, Vilarem MJ, Rossi V, Rouayrenc JF, Le Cam A. Regulation of two rat serine-protease inhibitor gene promoter by somatotropin and glucocorticoids. *Eur J Biochem* 1992; 209: 1053-61.
51. Billestrup N, Montminy MPS, Nielsen JH. Stimulation of somatostatin and insulin gene transcription by growth hormone. 9th International Congress in Endocrinology (Nice, France), 1992 (abstract).
52. Francis SM, Möller C, Enberg B, Norstedt G. A novel *in vitro* model for studying signal transduction and gene regulation via the growth hormone receptor. *Mol Endocrinol* 1993; 7, (sous presse).
53. Barcellini-Couget S, Pradines-Figuères A, Roux P, Dani C, Ailhaud G. The regulation by growth hormone of lipoprotein lipase gene regulation is mediated by *c-fos* protooncogene. *Endocrinology* 1993; 132: 53-60.
54. Porsch Hällström I, Gustafsson JÅ, Blanck A. Role of growth hormone in the regulation of the *c-myc* gene during progression of sex-differentiated rat liver carcinogenesis in the resistant hepatocyte model. *Mol Carcinogenesis* 1991; 4: 376-81.
- et réprime celle du gène du cytochrome P-450 IIC11 (mâle), deux caractéristiques du contrôle de l'expression de ces gènes *in vivo* [41].
- A quel niveau, et par quel mécanisme, l'hormone de croissance contrôle-t-elle l'expression de ses gènes cibles? Des expériences d'élongation de transcrits *in vitro* ont montré que l'hormone de croissance contrôle au niveau transcriptionnel, dans le foie, l'expression de gènes codant pour le facteur IGF-I [43], les cytochromes P-450 IIC 7, 11, 12 et 13 [44], et les inhibiteurs de sérine protéases SPI-2.1 et 2.2 [45, 46] et, dans les préadipocytes Ob1771, les gènes codant pour la lipoprotéine lipase [47], le facteur IGF-I [48] et le proto-oncogène *c-fos* [38]. Très peu d'informations sont encore disponibles concernant les éléments *cis*-actifs présents dans les promoteurs des gènes sous le contrôle de l'hormone de croissance, et la nature des facteurs transcriptionnels mis en jeu dans ces régulations. Les seules études ayant permis à ce jour de localiser des éléments de réponse à l'hormone dans les promoteurs concernent celles réalisées sur les gènes *spi*. Analysant l'expression de gènes chimériques dans des hépatocytes en culture, le groupe de Towle à Minneapolis (MN, USA) a tout d'abord localisé un élément de réponse à l'hormone de croissance sur le gène *spi 2.1* entre les positions -175 et -125 et montré qu'une protéine nucléaire, de nature inconnue, sensible à l'hormone de croissance, se fixait sur ce site, situé dans une région d'hyperméthylabilité à l'ADNase I dépendante de l'hormone [49]. Cette observation a été confirmée par notre groupe qui a, de plus, identifié un second site de réponse à l'hormone de croissance sur ce même promoteur [50]. Il a également été montré, par des expériences de transfection, que des constructions chimériques contenant les promoteurs des gènes de l'insuline et de la somatostatine [51], de la lipoprotéine lipase [52] et de la β -lactoglobuline ovine [20] répondent de façon positive à l'hormone de croissance. Les éléments de réponse de ces gènes sont en voie d'identification. Parmi les facteurs transcriptionnels connus dont le niveau d'expression est contrôlé par l'hormone de croissance, les produits des proto-oncogènes *c-fos* et *c-jun* sont des intermédiaires potentiels de l'action de l'hormone. Cette hypothèse semble confortée par des travaux récents montrant que, dans les préadipocytes Ob1771, l'induction du gène de la lipoprotéine lipase dépend, pour 50 %, de l'activation préalable de la transcription du proto-oncogène *c-fos* [53]. Cependant, l'absence de site AP1, cible des hétérodimères *trans*-actifs formés par l'association de la protéine c-Fos avec un autre facteur transcriptionnel tel que c-Jun, dans le promoteur du gène de la lipoprotéine lipase, ne permet pas d'affirmer que c-Fos est un facteur *trans*-activateur de ce gène. Le produit d'un troisième proto-oncogène, *c-myc*, est contrôlé par l'hormone de croissance de façon sexuellement différenciée à partir de la puberté, et cela reflète peut-être les effets à long terme de *c-myc* sur le processus d'hépatocarcinogénèse murine lui aussi nettement sexuellement différencié [54]. Enfin, la possibilité que le récepteur de l'hormone de croissance et/ou la GH-BP, qui ont été localisés dans les noyaux d'hépatocytes [23], jouent le rôle de facteur transcriptionnel n'est pas exclue mais reste à démontrer.

Conclusion

Comme beaucoup d'autres hormones polypeptidiques, l'hormone de croissance exerce des effets de type métabolique et mitogénique, mettant en jeu l'activation de la transcription de nombreux gènes. S'il a pu être clairement établi que la liaison de l'hormone à un récepteur membranaire représentait la première étape nécessaire au déclenchement de la série d'événements impliqués dans l'action de l'hormone de croissance, il reste beaucoup de points d'interrogation concernant les voies de transduction possibles pour les différents effets. Les données récentes permettent d'envisager l'existence d'au moins deux voies de transduction. La première implique l'activation d'une cascade de phosphorylations initiali-

sée par l'autophosphorylation de JAK2, une tyrosine kinase récemment identifiée comme étant la tyrosine kinase (p121) associée au récepteur de l'hormone de croissance. Cet événement précoce est immédiatement suivi par la phosphorylation du récepteur et l'activation de kinases intracellulaires telles que MAP-ERK qui peuvent, ultérieurement, activer d'autres kinases telles que la S6 kinase, un intermédiaire important de la synthèse protéique. La seconde voie met en jeu des médiateurs lipidiques — diacylglycérol — libérés sous l'action de l'hormone et capables de moduler l'activité de kinases — les PKC — et de phosphatases. Ce type de régulation pourrait induire un changement d'activité de facteurs transcriptionnels et, par voie de conséquence, un changement du niveau de transcription des gènes cibles de l'hormone de croissance. Cela reste, cependant du domaine de l'hypothèse car, hormis c-Fos, c-Jun et c-Myc, ces facteurs transcriptionnels ainsi que leur mode de régulation restent à découvrir. L'utilisation de méthodes telles que le clonage par expression pourrait permettre de les caractériser ainsi que d'identifier les molécules (kinases, phosphatases) impliquées dans la propagation du signal initié par la liaison de l'hormone de croissance à son récepteur. Par ailleurs, le développement de systèmes reconstitués devrait permettre d'élucider le mécanisme d'action de l'hormone. Ces systèmes, fondés sur l'expression, transitoire ou stable, du récepteur dans des cellules déficientes pour son expression, ainsi que d'un gène rapporteur placé sous le contrôle de promoteurs sensibles à l'hormone de croissance (sp1, cytochromes P-450), peuvent être couplés à l'utilisation d'oligonucléotides antisens et d'anticorps spécifiques visant à neutraliser des intermédiaires spécifiques potentiels de la voie de transduction. Compte tenu de la disponibilité d'outils tels que le récepteur et quelques gènes cibles clonés, il est probable que toutes ces questions recevront des réponses dans un proche avenir ■

TIRÉS A PART

A. Læ Cam.

m/s n° 12 vol. 9, décembre 93

Summary

The action mechanism of growth hormone

Growth hormone (GH) is the major hormone secreted by the pituitary gland and its pattern of secretion is sexually differentiated in many species. It is a pleiotropic hormone which acts as a growth factor in bone and muscle tissues and as a differentiation factor and a metabolic regulator in the liver and in fat and muscle tissues. The first step in GH action consists of a specific interaction between GH and its receptor (GHR) which is a single transmembrane domain protein presenting similarities to the prolactin receptor and, to a lesser extent, to some members of the cytokine receptor family. At least two types of GH signalling pathways appear to coexist in most target cells. The first one involves a phosphorylation cascade initiated by auto-phosphorylation of JAK2, a tyrosine kinase which is tightly associated to GHR. This is followed by or concomitant to the phosphorylation of intracellular proteins such as mitogen-activated kinase(s), an event preceding the activation of other kinases such as the S6 kinase. A

second pathway involves lipidic mediators such as phospholipid breakdown products and protein kinase C. Both pathways are likely to transduce the hormonal message to the nucleus and to activate the transcription of a variety of genes coding for transcription factors, hormones, hormone receptors, enzymes, and plasma proteins (e.g., c-FOS, insulin-like growth factor I, prolactin receptor, cytochrome P-450 IIC, serpins, $\alpha 2$ U globulin). Two GH-responsive elements have recently been mapped in the promoter of serpin genes but the corresponding transcription factor(s) have not yet been identified. The only transcription factor identified so far as a GH target is the *c-fos* protooncogene product whose transient expression was shown to be required for GH induction of the lipoprotein-lipase gene. The availability of molecular tools such as the cloned receptor and target genes should now allow some rapid progress leading to a better understanding of growth hormone functions.

Note ajoutée aux épreuves

Une série remarquable de travaux faisant suite à l'élucidation des mécanismes de la transmission du signal engendré par les interférons (*m/s n° 8, vol. 8, p. 838*), indique que les tyrosine kinases JAK-1 et JAK-2, ainsi que TYK-2, peuvent, en combinaison, phosphoryler des facteurs de transcription qui sont alors transférés du cytoplasme vers le noyau où ils activent la transcription de gènes variés (pour brève revue, voir Hunter T, cytokine connections. *Nature* 1993 ; 366 : 114-6). Des travaux antérieurs diront si l'hormone de croissance peut également, par l'intermédiaire de JAK-2, agir de cette manière.