

Récepteurs des œstrogènes et différenciation sexuelle

Les fonctions biologiques des œstrogènes sont relayées par des récepteurs spécifiques dont la localisation nucléaire a été établie dès les années 1970 [1]. Le rôle exact du complexe hormone-récepteur dans la mise en œuvre de ces fonctions est resté longtemps mystérieux, même si la notion de tissu cible a toujours été associée à une réponse biologique mesurable et à l'expression du récepteur des œstrogènes (ER). Celui-ci appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires de classe I, impliqués dans la régulation de l'expression génique [2]. Les récepteurs des hormones stéroïdes sont parmi les plus étudiés des facteurs de transcription chez les eucaryotes, et jouent un rôle essentiel dans le développement et la différenciation tissulaire. L'expérimentation animale fondée sur l'utilisation d'inhibiteurs et d'antagonistes des œstrogènes, a permis de déterminer le rôle physiologique des ER, puisque les fonctions placentaires affectées par ces traitements conduisent à des avortements spontanés. Jusqu'à récemment, aucune mutation des ER n'avait été associée à une maladie, suggérant que si de tels mécanismes moléculaires avaient lieu, leurs conséquences seraient probablement létales. Cependant, le rôle précis des œstrogènes dans le développement sexuel prénatal est longtemps demeuré énigmatique. En 1993, un modèle d'inactivation du récepteur ER α a été créé par recombinaison homologue chez la souris (*m/s* 1995, n° 11, p. 126) [3]. Contrairement aux prédictions, les souris ER $\alpha^{-/-}$ apparaissaient en bonne santé et ne présentaient pas de problèmes de développement sexuel prénatal, même si

les animaux des deux sexes se révélaient stériles. En 1996, ce modèle transgénique a connu un regain d'intérêt avec la découverte d'un second récepteur, appelé ER β [4], dont l'inactivation génique a été réalisée en 1998 [5]. Les deux récepteurs ne sont pas des isoformes, mais bien deux protéines distinctes, dont les gènes sont localisés sur des chromosomes différents. Après liaison de l'hormone, les formes α ou β s'homodimérisent, et s'associent alors à des séquences consensus de l'ADN. Il existe cependant des différences de réponse notoires entre les deux récepteurs, ER α étant requis pour certaines fonctions biologiques spécifiques, alors qu'ER β semble avoir un rôle plus pléiotrope. Cette distinction est d'ailleurs reflétée par la distribution très différente des deux protéines (Tableau I).

Chez la femelle, les œstrogènes ne sont pas indispensables au développement initial des ovaires, puisque la différenciation des gonades s'effectue par défaut en l'absence du chromosome Y et d'hormones testicu-

laires. En conséquence, l'appareil reproducteur des femelles dépourvues des récepteurs ER α ou ER β se différencie normalement, mais manifeste une insensibilité aux œstrogènes qui altère leur maturation sexuelle ultérieure. Ainsi, alors que le développement et la migration des ovaires des femelles ER $\alpha^{-/-}$ ne sont pas affectés, les follicules primaires sont incapables de se différencier. A l'âge adulte, les femelles n'ont pas d'ovulations, et leurs ovaires présentent des structures kystiques hémorragiques. Ce phénotype pourrait être dû à une hyperstimulation des follicules par la LH (*luteinizing hormone*) dont les taux sont anormalement élevés chez les femelles ER $\alpha^{-/-}$, et non pas à un effet direct relayé par les récepteurs α au niveau de l'ovaire. En parallèle, si la mise en place du compartiment utérin est respectée, le myomètre, le stroma endométrial et l'épithélium sont hypoplasiques et ne répondent pas aux stimulations par les hormones stéroïdes ovariennes. Le développement anténatal de la glande mammaire des femelles

Tableau I		
DISTRIBUTION TISSULAIRE DES RÉCEPTEURS DES ŒSTROGÈNES α ET β		
Récepteurs α	Récepteurs β	Récepteurs α et β
Utérus Glande mammaire Testicule Hypophyse Foie Rein Cœur Muscle squelettique	Ovaire Prostate	Épididyme Glande thyroïde Glande surrénale Os Cerveau

$ER\alpha^{-/-}$ est normal, mais, à l'âge adulte, la différenciation des canaux épithéliaux demeure incomplète et rappelle le stade de développement observé chez les nouveau-nés. Enfin, le comportement sexuel des femelles est anormal et se caractérise par une agressivité accrue, l'absence de comportement maternel et du réflexe de lordose. Si les mécanismes précis impliqués dans ce trouble du comportement ne sont pas identifiés, il est intéressant de noter qu'au niveau de certains tissus, dont le système nerveux central, de nouvelles voies de signalisation des œstrogènes ont été identifiées, dont certaines seraient responsables des effets rapides observés en réponse à l'activation d'ER membranaires [6]. Chez les femelles $ER\beta^{-/-}$, les altérations observées sont notablement différentes, mais là encore la fertilité est amoindrie. Dans ce modèle, le système reproducteur se différencie normalement pendant la période anténatale, et semble répondre aux œstrogènes produits par les ovaires au cours du cycle. Le taux d'ovulations spontanées est cependant très amoindri, et les ovaires ne répondent que faiblement aux traitements inducteurs de superovulation. La capacité ovulatoire des femelles $ER\beta^{-/-}$ est donc fortement altérée et conduit à l'atrésie. Contrairement au cas des femelles $ER\alpha^{-/-}$, il s'agirait donc ici d'un déficit intrinsèque de la réponse ovarienne. En revanche, le développement pré- et postnatal de la glande mammaire des femelles $ER\beta^{-/-}$ est normal, ainsi que leur comportement sexuel et maternel. Les mâles $ER\alpha^{-/-}$ sont stériles, alors que les mâles $ER\beta^{-/-}$ ont une fertilité normale. Les mécanismes impliqués dans la stérilité des mâles $ER\alpha^{-/-}$ relèvent d'un comportement sexuel anormal, d'une atrophie testiculaire, doublée d'un taux de fécondation diminué, qui s'explique par une oligospermie et un déficit de motilité des spermatozoïdes. En première analyse, ces travaux ont clairement indiqué que le rôle d'ER α se révèle plus large que celui d'ER β , mais n'ont pas écarté la possibilité de l'existence de phénomènes compensatoires entre ces deux récepteurs, ni résolu la question de leurs contribu-

tions respectives au développement sexuel postnatal. En conséquence, selon une logique désormais imparable, les souris portant la double mutation ER α/β ont été produites, dont le phénotype surprenant vient d'être rapporté [7]. Brièvement, les mâles $ER\alpha/\beta^{-/-}$ sont stériles, à l'image des mâles $ER\alpha^{-/-}$, et les femelles $ER\alpha/\beta^{-/-}$ présentent une hypoplasie utérine, tout comme les femelles $ER\alpha^{-/-}$. La différenciation précoce du système reproducteur peut donc avoir lieu en l'absence des formes α et β des ER. Mais là s'arrête la ressemblance. En effet, chez les femelles $ER\alpha/\beta^{-/-}$ adultes, les ovaires présentent des structures clairement distinctes de celles des animaux $ER\alpha^{-/-}$ ou $ER\beta^{-/-}$. Ces structures ressemblent de manière surprenante à des tubules séminifères de testicules : elles sont dépourvues de cellules de granulosa, et surtout, on n'y distingue aucune cellule germinale. Des cellules granuleuses en dégénérescence ou présentant une ressemblance avec des cellules de Sertoli apparaissent dans la lumière de ces tubules. Or, ces structures sont absentes dans les tissus fœtaux, ce qui suggère qu'une différenciation secondaire s'est produite dans les tissus ovaires adultes. Par ailleurs, la forme sphérique des tubules souligne l'origine probablement « femelle » de ces structures. Plusieurs marqueurs de différenciation spécifique des cellules de Sertoli sont présents dans les ovaires des femelles $ER\alpha/\beta^{-/-}$: en effet, les ARNm de MIS (*Mullerian-inhibiting substance*), SGP-2 (*sulfated glycoprotein-2*) et Sox9 y sont surexprimés. Un tel phénotype est pour le moins surprenant, et contredit un certain nombre de travaux antérieurs selon lesquels seuls des ovaires fœtaux étaient susceptibles de subir une différenciation secondaire. L'implication respective des ER dans cette « inversion sexuelle » reste, bien entendu, à éclaircir. La perte de facteurs de survie indispensables aux ovocytes et aux cellules de granulosa, combinée à une hyperactivité de certains facteurs de différenciation testiculaires est une hypothèse attrayante. En dernière analyse, ces résultats sont à comparer au phénotype des souris déficientes pour

l'aromatase ($Ar^{-/-}$), l'enzyme responsable de la synthèse des œstrogènes (*m/s 1998, n° 14, p. 363*) [8]. En effet, les souris $Ar^{-/-}$ ne présentent pas cette différenciation ovarienne aberrante. Plusieurs questions restent alors posées : les récepteurs α et β peuvent-ils intervenir dans la réponse ovarienne indépendamment de la présence d'œstrogènes ? D'autres voies de réponse aux œstrogènes existent-elles, mettant en jeu des mécanismes indépendants de ces deux récepteurs ? Si ces différents modèles animaux ont permis de démontrer que la forme β du récepteur ne permet probablement pas de compenser l'absence de la forme α , il reste à définir de quelle manière ces deux récepteurs coopèrent. Enfin, des mutations ont été décrites chez l'homme depuis peu [9].

Brigitte Bouchard

Inserm U. 344, Hôpital Necker, 156, rue de Vaugirard, 75743 Paris Cedex 15, France.

1. King WJ, Greene GL. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptors in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745-7.
2. Walter P, Green S, Greene G, et al. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7889-93.
3. Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS, Smithies O. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11162-6.
4. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5925-30.
5. Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor- β . *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15677-82.
6. Singer CA, Figueroa-Masot XA, Batchelor RH, Dorsa DM. The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J Neurosci* 1999; 19: 2455-63.
7. Couse JF, Hewitt SC, Bunch DO, et al. Postnatal sex reversal of the ovaries in mice lacking estrogen receptors α and β . *Science* 1999; 286: 2328-31.
8. Fisher R, Graves KH, Parlow AF. Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the *cyp 19* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6965-70.
9. Smith EP, Boyd J, Frank JR, et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Eng J Med* 1995; 331: 1056-61.