

Le contrôle des fonctions différenciées des cellules de Leydig

José M. Saez
Hervé Lejeune
Odile Avallet
René Habert
Philippe Durand

Les cellules de Leydig, situées dans l'espace interstitiel testiculaire, entre les tubules séminifères, assurent la biosynthèse des stéroïdes dont le plus important est la testostérone. Sécrétée dès la sixième semaine de la vie embryonnaire, celle-ci induit directement la différenciation des organes génitaux masculins. Le développement et la fonction des cellules de Leydig sont sous le contrôle de l'hormone gonadotrophine chorionique pendant le début de la vie fœtale puis de la LH (*luteinizing hormone*) : l'action des deux hormones est relayée par le même récepteur à sept domaines transmembranaires, couplé à l'adénylyl cyclase. Le maintien des récepteurs dépend directement de la LH. La régulation de la synthèse des androgènes par la LH semble modulée par de multiples facteurs, sécrétés au sein du testicule par les cellules de Sertoli et les cellules germinales, variant non seulement au cours de l'ontogenèse mais aussi selon le stade du cycle spermatogénétique dans le tubule voisin.

Les cellules de Leydig, comme les cellules du cortex surrénalien, dérivent de l'épithélium coelomique de la crête urogénitale. Dans l'espèce humaine, les précurseurs des cellules de Leydig fœtales sont identifiables par leur morphologie au cours de la huitième semaine de gestation, mais la différenciation fonctionnelle est plus précoce car la testostérone, principal produit de sécrétion de ces cellules, est détectée dans le testicule fœtal entre la sixième et la septième semaine de gestation. Une fois différenciées, les cellules de Leydig occupent l'espace interstitiel testiculaire, entre les tubules séminifères [1, 2].

La fonction endocrine principale des cellules de Leydig est la sécrétion des androgènes, en particulier

la testostérone. Pendant la vie fœtale, ce stéroïde induit directement la différenciation des structures internes du système génital masculin (épididyme, vésicule séminale et canal déférent) à partir du canal primitif de Wolff, et de façon indirecte, par l'intermédiaire de son dérivé, la dihydrotestostérone, la masculinisation des organes génitaux externes (urètre, prostate, pénis, scrotum) et du système nerveux central. Au moment de la puberté, la testostérone est responsable de l'apparition des caractères masculins secondaires. En plus de ces fonctions endocrines, la testostérone a une fonction paracrine cruciale : elle est indispensable, en association avec la FSH, à l'initiation et au maintien de la spermatogénèse.

ADRESSES

J.M. Saez: directeur de recherche à l'Inserm.
H. Lejeune: praticien hospitalier, Hospices Civils de Lyon.
O. Avallet: chargé de recherche à l'Inserm.
R. Habert: professeur à l'université Paris VIII.
P. Durand: directeur de recherche à l'Inra. Inserm-Inra U. 307, hôpital Debrousse, 29, rue Sœur-Bouvier, 69322 Lyon Cedex 05, France.

Biosynthèse des stéroïdes dans les cellules de Leydig

RÉFÉRENCES

1. Byskov AG. Differentiation of mammalian embryonic gonad. *Physiol Rev* 1986 ; 66 : 71-117.
2. Huhtaniemi I, Pelliniemi LJ. Fetal Leydig cells : cellular origin, morphology, life span, and special functional features. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992 ; 201 : 125-40.
3. Hanukoglu I. Steroidogenic enzymes : structure, function and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992 ; 43 : 779-804.
4. Labrie F, Simard J, Luu-The V, Bélanger A, Pelletier G. Structure, function and tissue-specific gene expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/5-ene-4-ene isomerase enzymes in classical and peripheral intracrine steroidogenic tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992 ; 43 : 805-20.
5. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Amarnah B, Ito Y, Fisher CR, Michael MD, Mendelson CR, Bulun SE. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocrinol Rev* 1994 ; 15 : 342-55.
6. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 α -reductase 2 deficiency. *Endocrinol Rev* 1993 ; 14 : 577-93.
7. Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, Mendonca BB, Elliston KO, Wilson JD, Russell DW, Andersson S. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nature Genet* 1994 ; 7 : 34-9.
8. Rhéaume E, Simard J, Morel Y, Mebarki F, Zachmann M, Forest MG, New MI, Labrie F. Congenital adrenal hyperplasia due to point mutations in the type II 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene. *Nature Genet* 1992 ; 1 : 239-45.
9. Kaplan SL, Grumbach MM, Aubert ML. The ontogenesis of pituitary hormones and hypothalamic factors in the human testis. Maturation of central nervous system. Regulation of anterior pituitary function. *Recent Progr Horm Res* 1976 ; 32 : 161-243.
10. Loosfelt H, Misrahi M, Atger M, Salesse R, Vu Hai-Luu Thi MT, Jolivet A, Guiochon-Mantel A, Sar S, Jallal B, Garnier J, Milgrom E. Cloning and sequencing of porcine LH/hCG receptor cDNA : variants lacking transmembrane domain. *Science* 1989 ; 245 : 525-8.
11. McFarland KC, Sprengel R, Phillips HS, Kohler M, Roseblit N, Nikolics K, Segaloff DL, Seeburg PH. Lutropin choriogonadotropin receptor : an unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science* 1989 ; 245 : 494-9.
12. Minegishi T, Nakamura K, Takakura Y, Miyamoto K, Hasegawa Y, Ibuki Y, Igarashi M. Cloning and sequencing of human LH/hCG receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1990 ; 172 : 1049-54.

Dans tous les tissus stéroïdogènes, le précurseur principal des stéroïdes est le cholestérol. Dans les cellules de Leydig, la conversion de cholestérol en testostérone implique trois hydroxylations (carbones 17, 20, 22), deux clivages (20-22 et 17-20), deux déshydrogénations (3 β et 17 β) et une isomérisation ($\Delta^{4,5}$) (figure 1). Toutes ces réactions sont catalysées par des enzymes dont la structure des gènes et la localisation chromosomique de ces derniers ont été déterminées [3-7]. Dans toutes les espèces étudiées, chaque cytochrome P-450 – cholestérol desmolase (P450 scc, pour *side-chain cleavage*), 17 α -hydroxylase (P450 17 α) et aromatase (P450 arom) – est codé par un seul gène. En revanche, plusieurs gènes ont été trouvés pour les autres enzymes. Chez l'homme, deux gènes (I et II) et trois pseudo-gènes de la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (3 β -

HSD) ont été clonés mais, dans les tissus stéroïdogènes, l'expression du type II est prédominante et les anomalies de ce gène sont les seules responsables des déficits congénitaux de cette enzyme [8]. Trois gènes ont été clonés, codant pour la 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase. Les types I et II utilisent le NAD(H) et catalysent préférentiellement l'oxydation des androgènes et œstrogènes, tandis que le type prédominant dans le testicule (type III) utilise le NADP(H) et catalyse préférentiellement la réduction de l'androstènedione en testostérone. Les déficits congénitaux en 17 β -hydroxylase/déshydrogénase sont dus, exclusivement, à une anomalie du gène codant pour l'enzyme de type III [7].

Régulation endocrine des cellules de Leydig

L'hormone lutéotrope hypophysaire (LH) et son homologue placentaire humain (hCG) sont les hormones principales qui régulent le développe-

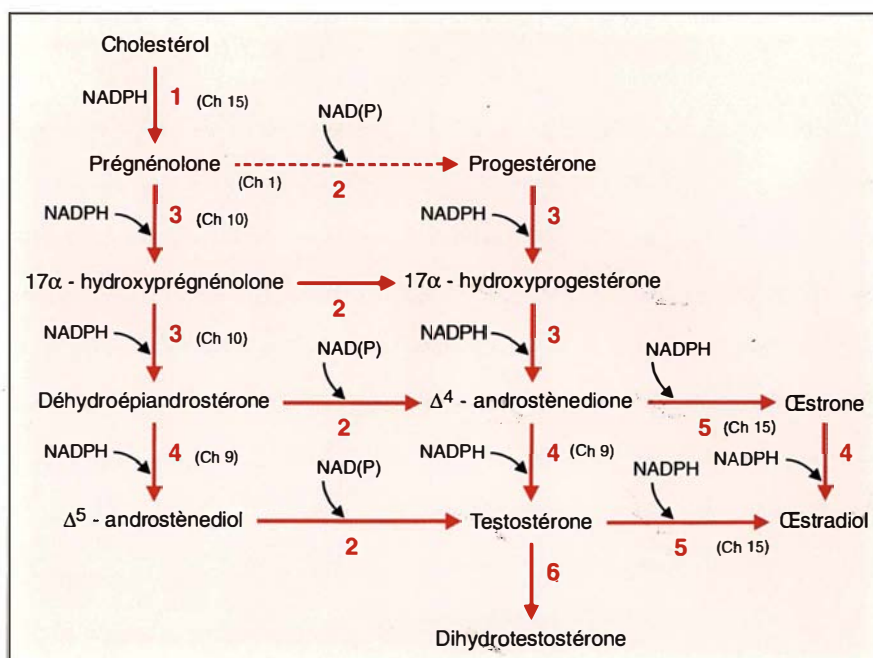


Figure 1. Représentation schématique de la biosynthèse des stéroïdes dans les cellules de Leydig. 1. Cytochrome P450 cholestérol desmolase (P450scc) ; 2. 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase Δ^5 - Δ^4 -isomérase (3 β -HSD) ; 3. Cytochrome P450 17 α -hydroxylase/17-20 lyase (P450 17 α) ; 4. 17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase ; 5. Cytochrome P450 aromatase (P450 arom) ; 6. 5 α -réductase. La localisation chromosomique de chaque gène codant pour ces enzymes chez l'homme est indiquée (Ch).

Tableau I

PRINCIPAUX FACTEURS PARACRINES INTRATESTICULAIRES CONTRÔLANT LES CELLULES DE LEYDIG

Facteur	Site de production	Mise en évidence	Régulation	Cellules de Leydig	
				Récepteur	Effets
Facteur(s) stéroïdogène(s)	S	Protéine	FSH / (S)	ND	/ stéroïdogénèse
Facteur(s) inhibiteur(s) de la stéroïdogénèse	S	Protéine		ND	\ fonctions différenciées
IGF-1	L, S	ARNm Protéine	FSH / (S) hCG / (L)	+	/ fonctions différenciées
TGFβ	L, S, P	ARNm Protéine	FSH \ (S)	+	\ fonctions différenciées
EGF/TGFα	L, S, G, P	ARNm Protéine	?	+	/ stéroïdogénèse \ fonctions différenciées
FGF	L, S, G, P	ARNm Protéine	FSH / (S)	+	\ fonctions différenciées
NGF	G	ARNm Protéine	?	?	?
PDGF	L	Protéine	/ hCG (L)	+	\ fonctions différenciées
Inhibine/Activine	L, S	ARNm Protéine	FSH / (S) hCG / (L)	+	Inhibine / stéroïdogénèse Activine \ stéroïdogénèse
Interleukine 1	L, S, M	ARNm Protéine	LPS / (S) hCG et LPS / (L)	+	\ fonctions différenciées
Interleukine 2	M, G	ARNm Protéine	?		
TNF-α	G	ARNm	?	ND	Stimulant: rat Inhibiteur: porc, souris
Interleukine 6	L, S	ARNm Protéine	FSH, IL 1, LPS / (S) hCG et LPS / (L)		
GHRH	L, G	ARNm Protéine	hCG / (L)	ND	Stimulant ou sans effet
CRF	L	ARNm Protéine	hCG / (L)	+	\ stéroïdogénèse stimulée par LH
AVP	L, S	ARNm Protéine	-	+	Effet aigu / stéroïdogénèse \ fonctions différenciées
A-II	L	Protéine		+	Inhibition
Endothéline	S	ARNm Protéine	FSH \ (S)	+	/ stéroïdogénèse
POMC	L	ARNm Protéine	LH / (S)		?

Abréviations: A-II: angiotensine II; AVP: arginine-vasopressine; CRF: corticotropin-releasing factor; EGF: epidermal growth factor; FGF: fibroblast growth factor; FSH: follicle stimulating hormone; G: cellules germinales; GHRH: growth hormone releasing factor; hCG: human chorionic gonadotropin; IGF-I: insulin-like growth factor I; L: cellules de Leydig; LH: luteinizing hormone; LPS: lipopolysaccharides; M: macrophage; ND: non déterminé; NGF: nerve growth factor; P: cellules péritubulaires; PDGF: platelet-derived growth factor; POMC: proopiomélanocortine; S: cellules de Sertoli; TGFβ ou α: transforming growth factor β or α; TNF-α: tumor necrosis factor α. (pour revue, voir [22, 39].)

RÉFÉRENCES

13. Gudermann T, Birnbaumer M, Birnbaumer L. Evidence for dual coupling of the murine luteinizing hormone receptor to adenyl cyclase and phosphoinositide breakdown and Ca^{2+} mobilization. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 4479-88.
14. Papadopoulos V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor : biological role in steroidogenic cell function. *Endocrinol Rev* 1993 ; 14 : 222-40.
15. Tonon MC, Smihrouet F, Lamacz M, Louiset E, Pelletier G, Vaudry H. Les endozépines, ligands endogènes des récepteurs des benzodiazépines. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 433-43.
16. Berthezene F, Forest MG, Grimaud JA, Claustrat B, Mornex R. Leydig cell agenesis. *N Engl J Med* 1976 ; 295 : 969-72.
17. Bardin CW, Bullock LP, Sherins RJ, Mowszowicz I, Blackburn WR. Androgen metabolism and mechanism of action in male pseudohermaphroditism : a study of testicular feminization. *Recent Progr Horm Res* 1973 ; 29 : 65-109.
18. Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, Harris PE, Crowley WF, Jameson JL. Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the β subunit of luteinizing hormone. *N Engl J Med* 1992 ; 326 : 179-83.
19. Teerds KJ, de Rooij DG, Rommerts FFG, van den Hurk R, Wensing CJG. Proliferation and differentiation of possible Leydig cell precursors after destruction of the existing Leydig cells with ethane dimethyl sulphate : the role of LH/human chorionic gonadotropin. *J Endocrinol* 1989 ; 122 : 689-96.
20. Ewing LL, Zirkin B. Leydig cell structure and steroidogenic function. *Recent Progr Horm Res* 1983 ; 39 : 599-635.
21. Shenker A, Laue L, Kosugi S, Merendino JS, Minegishi T, Cutler GB. A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty. *Nature* 1993 ; 365 : 652-4.
22. Saez JM. Leydig cells : endocrine, paracrine and autocrine regulation. *Endocrinol Rev* 1994 ; 15 : 574-626.
23. Rice DA, Mouw AR, Bogerd AM, Parker KL. A shared promoter element regulates the expression of three steroidogenic enzymes. *Mol Endocrinol* 1991 ; 5 : 1522-61.
24. Morohashi KI, Honda SI, Inamata Y, Handa H, Omura T. A common trans-acting factor, Ad4-binding protein, to the promoters of steroidogenic P-450s. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 17913-9.
25. Lala DS, Rice DA, Parker KL. Steroidogenic factor 1, a key regulator of steroidogenic enzyme expression, is the mouse homolog of fushi tarazu factor 1. *Mol Endocrinol* 1992 ; 6 : 1249-58.

ment et la fonction des cellules de Leydig. Pendant la vie fœtale, l'hCG semble assumer ces fonctions car la sécrétion hypophysaire de LH commence entre la onzième et la douzième semaines de gestation, trois à quatre semaines après le début de la production de testostérone par le testicule fœtal et, jusqu'à la quinzième semaine, il existe une corrélation étroite entre les taux plasmatiques fœtaux d'hCG et la concentration de testostérone dans le testicule et dans le sang fœtal, ainsi que dans le liquide amniotique [9]. Cependant, à la fin de la vie fœtale, le développement et la fonction des cellules de Leydig sont, au moins en partie, sous le contrôle de la LH car, chez le fœtus anencéphalique, le nombre de cellules de Leydig et la production des androgènes sont réduits.

Les deux hormones, LH et hCG, reconnaissent un récepteur unique qui a été cloné dans plusieurs espèces (*m/s n°8, vol. 5, p. 609, [10-13]*). Il appartient à la famille des récepteurs à sept passages transmembranaires mais a la particularité, partagée avec les récepteurs des autres hormones glycoprotéiques, TSH et FSH, d'avoir un domaine extracellulaire très long de 350 à 400 acides aminés, codé par dix exons, et qui contient les domaines de liaison de l'hormone. Le récepteur de LH/hCG est couplé à la fois à l'adénylyl cyclase et à la phospholipase C [13] mais les données actuelles indiquent que la plupart, et probablement la totalité, des effets de LH/hCG sont exercés par l'intermédiaire de l'AMPC.

LH/hCG ont deux effets sur les cellules de Leydig : aigu, de stimulation de la production de testostérone, chronique, d'expression et de maintien des fonctions différenciées, en particulier des récepteurs de LH et des enzymes de la stéroïdogenèse, mais aussi de la sécrétion de certaines protéines (*Tableau I*).

L'action stéroïdogène aiguë apparaît dans les minutes qui suivent l'interaction hormone-récepteur. Elle implique essentiellement une translocation de cholestérol du cytosol vers la membrane interne de la mitochondrie, où se localise le cytochrome P-450 scc qui, en association avec l'adrénodoxine et l'adrénodoxine réductase, catalyse la conversion de cholestérol en prégénolone. Cette

translocation n'a pas besoin de la transcription mais est bloquée par les inhibiteurs de la synthèse protéique. Les facteurs, ainsi que les mécanismes impliqués dans la translocation du cholestérol, ne sont pas encore complètement élucidés, mais des données récentes [14] suggèrent que le récepteur périphérique ou mitochondrial des benzodiazépines (MDR = *mitochondrial diazepam-binding inhibitor*) et son ligand endogène (DBI = *diazepam-binding inhibitor*) joueraient un rôle important dans ce processus [15].

Le rôle crucial de LH/hCG et de son récepteur dans la différenciation des cellules de Leydig et dans le maintien de leurs fonctions différenciées dérive de l'analyse de certains cas en pathologie humaine et de travaux expérimentaux : (1) absence de cellules de Leydig chez l'homme [16] et chez le rat [17] avec pseudohermaphrodisme masculin, associé à une absence de récepteur de LH. Cependant, les anomalies génétiques responsables de cette absence de récepteur n'ont pas encore été élucidées ; (2) une mutation ponctuelle du gène codant pour la sous-unité β de LH est responsable d'un hypogonadisme majeur associé à une absence de cellules de Leydig [18] ; (3) chez le rat adulte, après destruction des cellules de Leydig par l'administration d'EDS (éthylène diméthane sulfonate), la repopulation de l'espace interstitiel avec des cellules de Leydig dépend de la présence de LH ou hCG [19] ; (4) chez l'animal, l'hypophysectomie ou l'inhibition de la sécrétion de LH produisent une atrophie des cellules de Leydig, associée à une diminution du nombre de récepteurs de LH et de l'activité des enzymes de la stéroïdogenèse [20] ; (5) une mutation ponctuelle (A \rightarrow G), activatrice du récepteur de LH, produit une hyperplasie et un hyperfonctionnement des cellules de Leydig dans le syndrome de puberté précoce familial [21].

De nombreuses études *in vivo* et *in vitro* (pour référence, voir [22]) ont montré que LH/hCG règle positivement, par l'intermédiaire de l'AMPC, l'expression de plusieurs enzymes de la stéroïdogenèse, en particulier les cytochromes P-450scc et P-450 17 α et la 3 β -HSD. Bien que le promoteur de ces gènes ne contienne pas la sé-

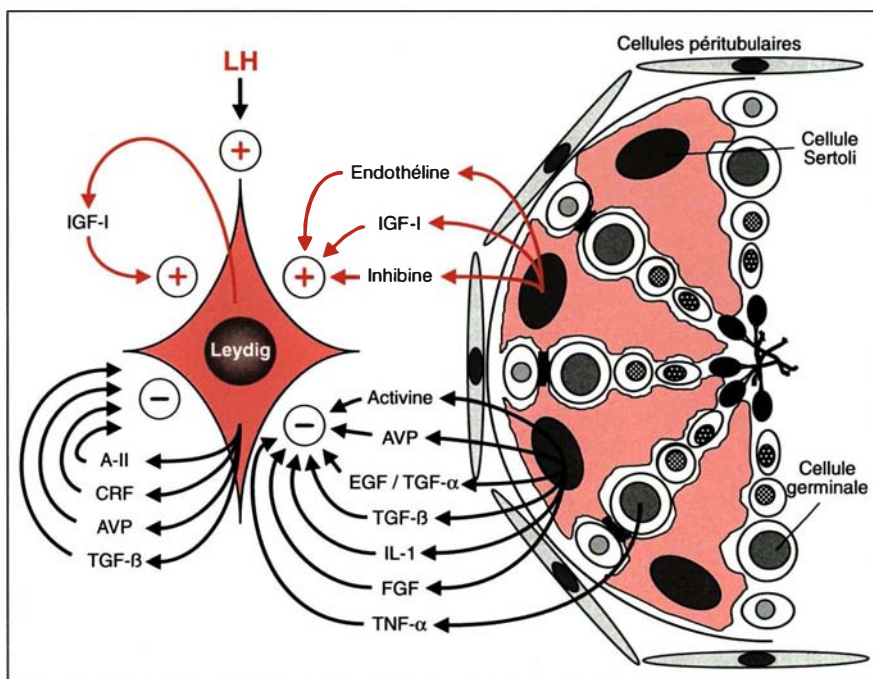


Figure 2. Représentation schématique des facteurs susceptibles de régler positivement (+) ou négativement (-) les fonctions des cellules de Leydig. A côté de la régulation endocrine par la LH/hCG, absolument nécessaire pour une fonction normale des cellules de Leydig, on connaît toute une régulation locale, autocrine et paracrine. Les facteurs paracrines stimulant (+) ou inhibant (-) la fonction des cellules de Leydig sont essentiellement synthétisés par les cellules de Sertoli. Les cellules germinales exerceraient un effet négatif relayé par le TNF- α . Abréviations : A-II : angiotensine II ; CRF : corticotropin-releasing factor ; AVP : arginine-vasopressine ; TGF β ou α : transforming growth factor β or α ; IGF-I : insulin-like growth factor ; EGF : epidermal growth factor ; FGF : fibroblast growth factor ; IL1 : interleukine 1.

quence consensus CRE (*cAMP regulatory element*), des séquences régées par l'AMPc appelées CRS (*cAMP responsive sequence*) ont été identifiées dans la partie 5' des promoteurs. La localisation et la séquence de ces éléments sont non seulement spécifiques de chaque gène, mais aussi, pour le même gène, spécifiques du tissu et de l'espèce (pour revue, voir [22]).

Plus récemment, il a été montré que tous les gènes des cytochromes P-450 codant pour les enzymes de la stéroïdogenèse (P-450_{scc}, P-450_{17 α} , P-450_{arom}, P-450_{21-hydroxylase} et P-450_{11 β -hydroxylase}) contiennent une ou plusieurs séquences consensus (C/T) CAA GG (T/C) liant un facteur nucléaire appelé SF-1 (*steroidogenic factor 1*) [23] ou Ad4BP (*adrenal 4-binding protein*) [24], et que ce facteur

augmente l'expression de ces enzymes dans les tissus stéroïdogènes [23-25]. Le clonage du gène codant pour ce facteur [26, 27] a montré qu'il est l'homologue du gène *fushi tarazu factor 1* (FTZ-1) de la drosophile, qui code pour un récepteur nucléaire orphelin et qui règle l'expression de l'*homeobox* *fushi tarazu* pendant le développement précoce [28, 29]. L'utilisation d'anticorps spécifiques [30] et des études d'hybridation *in situ* [31, 32] ont montré que ce facteur s'exprime dans toutes les cellules stéroïdogènes (cellules du cortex surrénalien, cellules de Leydig, cellules thécales et de la *granulosa* de l'ovaire, corps jaune) et dans les cellules de Sertoli. Au cours de la vie fœtale, son expression dans la crête urogénitale est très précoce, suggérant que ce facteur pourrait jouer un

rôle dans la différenciation des gonades. Ce rôle a été confirmé récemment chez la souris après inactivation du gène par recombinaison homologue (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1171, [33, 34]*). Tous les animaux homozygotes avaient une agénésie des surrénales et des gonades, avec des organes génitaux internes et externes de type féminin. La présence, chez la souris mâle, d'organes génitaux internes de type féminin pourrait être due, soit à l'absence de développement testiculaire, en particulier des cellules de Sertoli, soit à l'absence d'hormone antimüllerienne car ce facteur règle directement l'expression de ce gène [35].

Des données contradictoires existent concernant le rôle de LH/hCG sur son propre récepteur. Comme indiqué plus haut, la présence de LH à des concentrations physiologiques est indispensable pour le maintien de ses propres récepteurs. Cependant, de nombreux travaux *in vivo* et *in vitro* (pour revue voir [22]) ont montré que LH/hCG induit une perte de ses propres récepteurs par trois mécanismes : internalisation-dégradation du complexe hormone-récepteur, diminution de la transcription du gène du récepteur et augmentation de la dégradation de l'ARNm codant pour le récepteur. L'importance quantitative de chacun de ces processus dans le phénomène de régulation négative dépend du récepteur lui-même et du type de cellules de Leydig. Cette discordance entre l'effet négatif de l'hormone sur ses propres récepteurs et sa nécessité absolue pour leur maintien pourrait être expliquée par la différence dans le temps d'interaction hormone-récepteur. Dans des conditions physiologiques, du fait de la demi-vie très courte de LH (minutes) et de sa sécrétion par *pulses* de courte durée, le temps d'interaction hormone-récepteur est très court. En revanche, dans les conditions expérimentales, le contact de l'hormone avec le récepteur est beaucoup plus long, aussi bien *in vivo*, car dans la plupart des études on a utilisé de l'hCG qui a une demi-vie très longue (heures), qu'*in vitro* où l'hormone est présente pendant toute la période expérimentale. L'utilisation de la LH recombinante devrait permettre de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

RÉFÉRENCES

26. Lynch JP, Lala DS, Peluso JJ, Luo W, Parker KL, White BA. Steroidogenic factor 1, an orphan nuclear receptor, regulates the expression of the rat aromatase gene in gonadal tissue. *Mol Endocrinol* 1993 ; 7 : 776-86.
27. Honda SI, Morohashi KL, Nomura M, Takeya H, Kitajima M, Omura T. Ad4BP-regulating steroidogenic P-450 gene is a member of steroid hormone receptor superfamily. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 7494-502.
28. Lavorgna G, Ueda H, Clos J, Wu C. FTZ-F1, a steroid hormone receptor-like protein implicated in the activation of fushi tarazu. *Science* 1991 ; 252 : 848-51.
29. Ueda H, Sonoda S, Brown JL, Scott MP, Wu C. A sequence-specific DNA-binding protein that activates fushi tarazu segmentation gene expression. *Genes Dev* 1990 ; 4 : 624-35.
30. Morohashi KI, Iida H, Nomura M, Hatanoto O, Honda SI, Tsukiyama T, Niwa O, Hara T, Takakusu A, Shibata Y, Omura T. Functional difference between Ad4BP and ELP, and their distributions in steroidogenic tissues. *Mol Endocrinol* 1994 ; 8 : 643-53.
31. Ikeda Y, Lala DS, Luo X, Kim E, Moisan MP, Parker KL. Characterization of the mouse FTZ-F1 gene, which encodes a key regulator of steroid hydroxylase gene expression. *Mol Endocrinol* 1993 ; 7 : 852-60.
32. Ikeda Y, Shen WH, Ingraham HA, Parker KL. Developmental expression of mouse steroidogenic factor-1, an essential regulator of the steroid hydroxylases. *Mol Endocrinol* 1994 ; 8 : 654-62.
33. Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. *Cell* 1994 ; 77 : 481-90.
34. Shen WH, Moore CCD, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the Müllerian inhibiting substance gene : a link to the sex determination cascade. *Cell* 1994 ; 77 : 651-61.
35. Saez J, Durand P. Rôle du facteur SF-1 dans le développement des gonades et des surrénales, et dans la stéroïdogenèse. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1315-7.
36. Sharpe RM. Experimental evidence for Sertoli-germ cell and Sertoli-Leydig cell interactions. In : Russel LD, Griswold MD, eds. *The Sertoli cell*. Clearwater, Florida: Cathe River Press, 1993 : 391-418.
37. Skinner MK. Cell-cell interactions in the testis. *Endocrinol Rev* 1991 ; 12 : 45-72.
38. Mather JP, Krummen LD. Inhibin, activin and growth factors : paracrine regulators of testicular function. In : Nieschlag E, Habenicht UF, eds. *Spermatogenesis, fertilization, contraception*. Berlin: Springer-Verlag, 1992 : 170-200.
39. Ackland JF, Schwartz NB, Mayo KE, Dodson RE. Nonsteroidal signals originating in the gonads. *Physiol Rev* 1992 ; 72 : 731-87

Régulations paracrine, autocrine et intracrine des fonctions des cellules de Leydig

A côté de la régulation endocrine par la LH/hCG, absolument nécessaire pour une fonction normale des cellules de Leydig, de multiples travaux ont montré au cours de ces dernières années que la réponse des cellules de Leydig à LH/hCG pouvait être modulée par des facteurs sécrétés et agissant au sein du testicule. Il faut souligner que cette régulation locale agit en association et dépend très souvent des gonadotrophines.

Le concept de régulation locale des fonctions des cellules de Leydig s'est développé à partir de multiples résultats, obtenus *in vivo* et *in vitro*, qui ont été analysés dans plusieurs articles récents [22, 36-39] où on peut trouver le détail et les références. Les principales conclusions découlant de ces travaux ont été les suivantes : (1) l'aspect morphologique et la fonction des cellules de Leydig varient non seulement au cours de l'ontogenèse, mais aussi selon le stade du cycle spermatogénétique dans le tubule voisin. La destruction ou l'altération des cellules de la lignée germinale provoquent des modifications morphologiques et fonctionnelles des cellules de Sertoli, mais aussi des cellules de Leydig ; (2) *in vivo* et *in vitro* la FSH, par l'intermédiaire de ses cellules cibles, les cellules de Sertoli, stimule l'expression des gènes codant pour les fonctions différenciées des cellules de Leydig ; (3) le fluide interstitiel du testicule, ainsi que le milieu conditionné par les cellules de Sertoli, ont deux types d'effets sur les cellules de Leydig : aigu, de stimulation de la production de testostérone, et à long terme, de modulation des fonctions différenciées. Bien qu'aucun des facteurs responsables de ces différents effets n'ait encore été purifié, des arguments indirects suggèrent que les effets aigus et chroniques pourraient être exercés par des facteurs différents.

Devant l'échec, jusqu'à présent, de l'isolement et de la purification des facteurs agissant sur les cellules de Leydig à partir du fluide interstitiel testiculaire ou des milieux conditionnés par les cellules de Sertoli, une deuxième approche pour identifier

ces facteurs a été d'analyser les effets de facteurs connus sur les cellules de Leydig et de voir si ces facteurs étaient produits à l'intérieur du testicule. En utilisant cette approche, il a été montré que de nombreux facteurs sont produits localement et agissent sur les cellules testiculaires et qu'un certain nombre remplissent les cinq critères indispensables pour qu'il puisse être établi qu'ils jouent effectivement un rôle paracrine et/ou autocrine : (a) synthèse et sécrétion locales ; (b) action sur les cellules du tissu considéré ; (c) sécrétion réglée par des facteurs physiologiques ; (d) concentration locale compatible avec le K_D et l' EC_{50} de facteurs pour d'autres cellules cibles ; (e) modification de la fonction des cellules des tissus considérés lorsque le facteur est bloqué par des anticorps spécifiques ou par des antagonistes.

Le *Tableau 1* donne une liste non exhaustive d'un certain nombre de facteurs qui remplissent plusieurs des critères indiqués ci-dessus et la *figure 2* est une représentation schématique montrant l'origine et les effets des principaux facteurs locaux, paracrines et autocrines, réglant les fonctions différenciées des cellules de Leydig. Cependant, il faut souligner que la plupart des données ont été obtenues à partir des modèles *in vitro*, en utilisant des systèmes (cellules isolées ou coculture de plusieurs types de cellules) dans lesquels, d'une part, la structure tissulaire n'est plus conservée et, d'autre part, les cellules sont dans un circuit fermé. Par conséquent, on ne doit extrapoler ces données obtenues *in vitro* à des situations *in vivo* qu'avec une certaine prudence. Dans le futur, l'utilisation des animaux transgéniques, avec une surexpression de ces facteurs ou de leurs récepteurs sous le contrôle d'un promoteur spécifique de tissu ou leur inactivation par recombinaison homologue, pourrait être une nouvelle approche pour mieux définir le rôle de ces facteurs dans la régulation des cellules de Leydig ■

TIRÉS À PART

J.M. Saez.

Summary

Control of Leydig cell differentiated functions

Endocrine and exocrine functions of the testis are the result of the specific tissular organization involving the interstitial compartment containing the steroidogenic Leydig cells and, separated by the blood-testicular barrier, the tubules containing Sertoli cells supporting spermatogenesis both anatomically and functionally. Although the endocrine control of the testis, in particular of Leydig cells, is well established, new data accumulated in the last few years indicate that a local control is required for a normal production of androgens, mainly testosterone, by Leydig

cells. In the present paper, we review the endocrine, paracrine and autocrine regulation of Leydig cells differentiated functions. Luteinizing hormone (LH) or its homologue human chorionic gonadotropic (hCG) have two effects, acute stimulation of testosterone production and long-term effects in the expression of genes coding for LH receptor and the steroidogenic enzymes. The effects of gonadotropin on Leydig cell differentiated functions, are subtly regulated by locally acting factors produced by somatic testicular cells and germ cells. *In vitro* studies

have shown that several growth factors, cytokines and neuropeptides fulfilled the criteria to establish that they may play a paracrine/autocrine action. However, the potential physiological significance remains to be established since evidence from *in vivo* experiments supporting the presumed action of a given factor are, in any cases, lacking. It is hoped that transgenic animals overexpressing a factor or its receptor driven by tissue-specific promoter, or targeted disruption of such proteins, may provide a new approach to define their physiological role *in vivo*.