

## Le mode d'action des androgènes et la 5 $\alpha$ -réductase

Yannick Blanchard  
Bernard Robaire

Les androgènes sont synthétisés par le testicule et la surrénale. Très liposolubles, ils pénètrent dans les cellules et se lient à leur récepteur intracellulaire. La testostérone et son métabolite, la dihydrotestostérone (DHT), sont de loin les plus actifs, la DHT ayant la plus forte affinité pour le récepteur et allongeant de façon importante sa demi-vie. La testostérone est convertie en DHT par la 5 $\alpha$ -réductase ; cette activité enzymatique (dont le support protéique n'a pas encore été purifié) est élevée dans certains organes cibles des androgènes, essentiellement l'épididyme et la prostate. Il existe deux types de 5 $\alpha$ -réductases ; le déficit en enzyme de type 2 est responsable du pseudohermaphrodisme masculin, ce qui indique l'importance de son rôle. Les deux activités 5 $\alpha$ -réductase sont réglées de manière différente selon les tissus et le moment du développement. Des inhibiteurs spécifiques des isozymes 5 $\alpha$ -réductases seraient utiles pour la contraception masculine et le traitement des tumeurs de la prostate.

**L**es androgènes sont définis comme des membres de la famille des stéroïdes possédant une structure spécifique contenant 19 atomes de carbone. Ils sont normalement synthétisés à partir du cholestérol, quoiqu'ils puissent aussi l'être à partir de l'acétyl CoA. Les deux sources biologiques d'androgènes chez les mammifères mâles sont les cellules de Leydig des testicules produisant principalement la testostérone chez l'animal à maturité et les cellules corticales de la surrénale produisant principalement trois androgènes, la déhydroépiandrosterone (DHEA),

son ester de sulfate (DHEA-S) et l'androstènedione. Les androgènes synthétisés par les surrénales semblent jouer un rôle androgène mineur comme l'indiquent de nombreuses études montrant que la modification des fonctions androgéniques est liée à la castration. La testostérone peut être métabolisée, soit par la 5 $\alpha$ -réductase, formant la dihydrotestostérone qui est catabolisée en androgène ayant peu d'activité (androstane-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol ou en androstane-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol), soit par l'aromatase qui permet la conversion du signal androgène en un signal œstrogène [1].

### ADRESSE

Y. Blanchard : *chercheur post-doctoral*. B. Robaire : *professeur titulaire*, Département de pharmacologie et de thérapeutique, Université McGill, 3655, rue Drummond, Montréal, Québec, H3G 1Y6 Canada.

## RÉFÉRENCES

1. Sundaram K, Kumar N. Metabolism of testosterone in Leydig cells and peripheral tissues. In: Payne AH, Hardy MP, Russell LD, eds. *The Leydig cell*. Vienne: Cache River Press, 1996: 287-306.
2. Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240: 889-95.
3. Landers JP, Spelsberg TC. Updates and new models for steroid hormone action. *Ann NY Acad Sci* 1991; 637: 26-55.
4. Quigley CA, DeBellis A, Marschke KB, El-Awady MF, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical and molecular perspectives. *Endocrine Rev* 1995; 16: 271-321.
5. Kempainen JA, Lane MV, Sar M, Wilson EM. Androgen receptor phosphorylation, turnover, nuclear transport and transcriptional activation: specificity for steroids and antihormones. *J Biol Chem* 1992; 267: 968-74.
6. Inano H, Machino A, Tamaoki BI. *In vitro* metabolism of steroid hormones by cell-free homogenates of epididymides of adult rats. *Endocrinology* 1969; 84: 997-1003.
7. Gloyna RE, Wilson JD. A comparative study of the conversion of testosterone to 17 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymis. *J Clin Endocrinol Metab* 1969; 29: 970-7.
8. Robaire B, Ewing LL, Zirkin BR, Irby DC. Steroid  $\Delta^4$ -5 $\alpha$ -reductase and 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis. *Endocrinology* 1977; 101: 1379-90.
9. Pujol A, Bayard F. 5 $\alpha$ -Reductase and 3 $\alpha$ -hydroxysteroid oxidoreductase enzyme activities in epididymis and their control by androgen and rete testis fluid. *Steroids* 1978; 31: 485-93.
10. Cooke GM, Robaire B. Modulation of epididymal  $\Delta^4$ -steroid 5 $\alpha$ -reductase activity *in vitro* by the phospholipid environment. *J Biol Chem* 1985; 260: 7489-95.
11. Cooke GM, Robaire B. Mechanism of 4-ene-steroid 5 $\alpha$ -reductase proton transfer in androgen target tissues. *J Steroid Biochem* 1984; 20: 1279-84.

La testostérone est l'androgène testiculaire majeur; elle agit sur toute une gamme de tissus dont ceux du cerveau, de l'hypophyse, du rein, des muscles, de la peau, ainsi que tous ceux du système de reproduction (le testicule, l'épididyme, la prostate, les vésicules séminales, le pénis...). Afin qu'une cellule puisse répondre au message androgène, elle doit avoir un récepteur capable de lier l'hormone. Cas unique parmi les stéroïdes, ce message androgène est transmis par deux molécules distinctes: la testostérone et son métabolite réduit en la position 5 $\alpha$ , la dihydrotestostérone (DHT) (figure 1). Ce métabolite de la testostérone qui se lie aux récepteurs androgènes de façon plus efficace que la testostérone elle-même, n'est synthétisé que dans certains tissus qui répondent aux androgènes, tels l'épididyme, la peau, et la prostate, et pas dans d'autres, tels les muscles et les testicules chez l'adulte. Les androgènes précurseurs de la testostérone ainsi que les métabolites de la DHT engendrent un signal androgène marginal dans les conditions physiologiques normales à cause de leur faible capacité de liaison au récepteur des androgènes.

### Le récepteur des androgènes

Les androgènes sont des substances lipidiques qui traversent facilement toutes les membranes cellulaires; cependant, afin qu'une cellule puisse réagir à un androgène, elle doit contenir des protéines réceptrices

capables de capter et de retenir ces stéroïdes. Le mécanisme d'action des androgènes se fait donc par l'interaction avec un récepteur qui leur est spécifique: le récepteur des androgènes. Ce récepteur fait partie de la famille des récepteurs nucléaires, famille de facteurs de transcription activés par les hormones stéroïdiennes, thyroïdiennes, les acides rétinoïques et la vitamine D (*m/s n° 7, vol. 4, p. 456*) [2]. Les récepteurs qui composent cette famille ont une structure moléculaire similaire [3] comprenant quatre domaines majeurs (figure 2). A l'extrémité 3' on trouve le domaine de liaison des stéroïdes, suivi du domaine charnière qui joue plusieurs rôles, y compris dans la dimérisation du récepteur après son activation, le signal permettant le ciblage du récepteur dans le noyau, ainsi que la liaison d'autres protéines comme la HSP 90. Le troisième domaine est celui de liaison à l'ADN; ce domaine reconnaît une courte séquence de six paires de bases. Le quatrième domaine est régulateur et permet la transcription spécifique de certains gènes [3].

Les récepteurs des stéroïdes peuvent se diviser en deux groupes selon la séquence d'ADN à laquelle ils se lient. Le premier groupe comprend les récepteurs des androgènes, des glucocorticoïdes, des minéralocorticoïdes et de la progestérone qui reconnaissent la séquence consensus TGTTCT. Le deuxième groupe comprend le récepteur des œstrogènes qui reconnaît la séquence consensus TGACCT. La liaison de l'androgène au récepteur provoque l'activation du récepteur par une modification conforma-

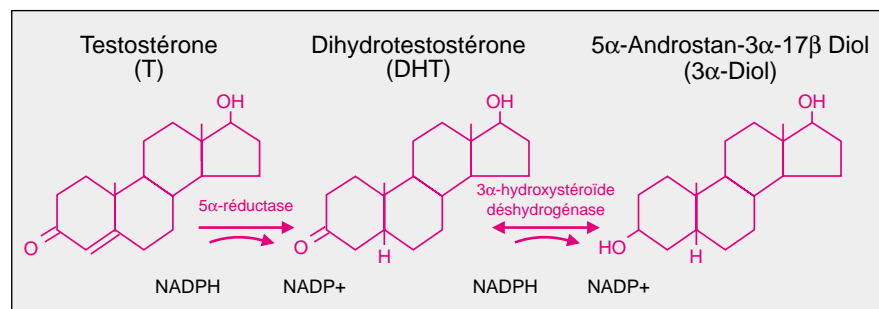


Figure 1. La testostérone est convertie en dihydrotestostérone par l'activité 5 $\alpha$ -réductase et la dihydrotestostérone en 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ -17 $\beta$ -diol par la 3 $\alpha$ -hydroxystéroïde déshydrogénase. Dans des conditions physiologiques, la première réaction est irréversible tandis que la seconde peut facilement être réversible.

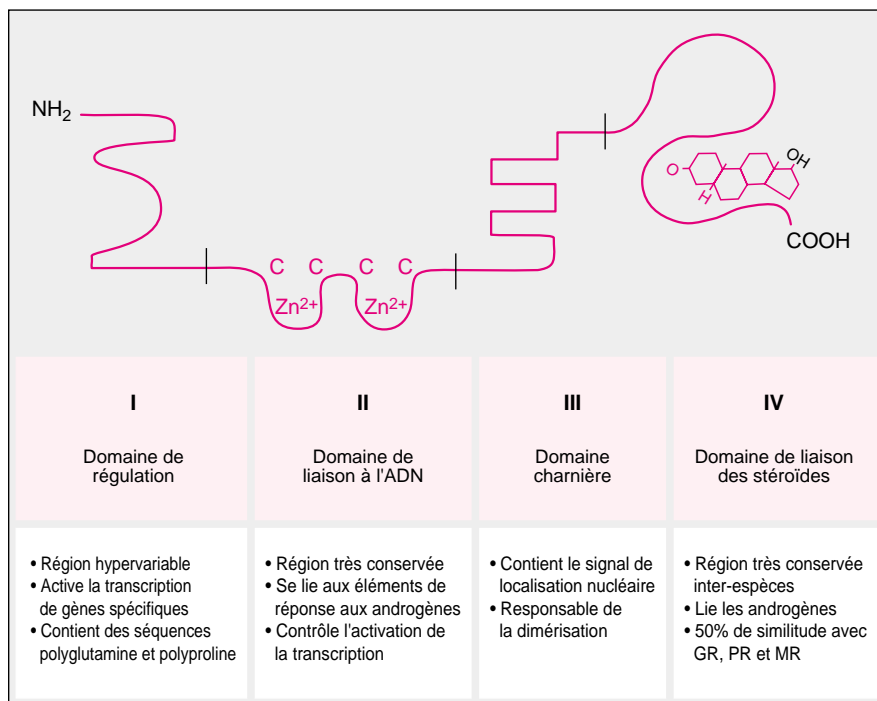


Figure 2. **Représentation schématique du récepteur des androgènes.** À l'extrémité 3' on trouve le domaine de liaison des stéroïdes, suivi du domaine charnière impliqué dans la dimérisation du récepteur, le ciblage nucléaire, et la liaison d'autres protéines. Le troisième domaine est celui de liaison à l'ADN; il reconnaît une courte séquence de six paires des bases. Le quatrième domaine est régulateur et permet la transcription spécifique de certains gènes. (Adapté de Landers et Spelsberg [3].)  
 GR: récepteur des glucocorticoïdes; MR: récepteur des minéralocorticoïdes; PR: récepteur de la progestérone.

tionnelle entraînant sa dimérisation. Une fois phosphorylé, le récepteur activé se lie alors à une séquence d'ADN spécifique appelée l'élément de réponse aux hormones (HRE: *hormone response element*), séquence palindromique d'une quinzaine de bases (5'AGNACAnnn TGTNCT3') présentant deux séquences de liaison du récepteur des androgènes séparées par un triplet (nnn). L'interaction du récepteur des androgènes activé avec cette séquence déterminera l'action des androgènes dans les cellules cibles par la régulation de la transcription de gènes spécifiques [4]. Le récepteur des androgènes est activé par les deux stéroïdes, la testostérone et la dihydrotestostérone (DHT), mais n'a que peu d'affinité pour les androgènes surrénaliens. Ces deux androgènes ne sont cependant pas équivalents, le récepteur présentant une plus grande affinité pour la DHT que pour la testostérone, en raison principalement

d'une vitesse de dissociation trois fois plus grande pour la testostérone que pour la DHT. Il est intéressant de noter à ce stade que la spécificité de liaison des androgènes à leur récepteur n'est vérifiée qu'à faible concentration. A forte concentration, de nombreux stéroïdes se lient au récepteur sans pour autant l'activer. Cette absence d'activation est due au fait que seuls les androgènes peuvent stabiliser le récepteur, augmentant ainsi sa durée de vie. La durée de demi-vie du récepteur « libre » est d'environ 1 heure, alors que lié à la testostérone ou à la DHT, et uniquement à ces androgènes, il voit sa demi-vie augmentée de l'ordre de six fois. Du fait que l'affinité de la DHT pour le récepteur soit plus forte que celle de la testostérone, et que le récepteur lié soit plus stable, la conversion de la testostérone en DHT dans les tissus cibles amplifie de façon considérable le signal androgénique [5].

## L'activité 5 $\alpha$ -réductase

Comme nous l'avons vu, la conversion de la testostérone en DHT (figure 3) se fait via une activité 5 $\alpha$ -réductase. Les premières caractérisations de cette activité remontent aux années 1950. En 1968, on a montré la conversion de la testostérone en DHT dans les noyaux d'homogénats de prostate stimulés par les androgènes [6]. Au cours des vingt années suivantes, de nombreuses études biochimiques et physiologiques ont décrit la distribution tissulaire [7], le contrôle hormonal [8, 9], la dépendance vis-à-vis des lipides [10], ainsi que la caractérisation cinétique de cette activité enzymatique [11]. Celle-ci est très élevée dans certains tissus dépendants des androgènes, comme l'épididyme et la prostate mais est à peine décelable dans d'autres, comme le muscle et le testicule. Après la naissance, l'activité enzymatique varie beaucoup en fonction de l'âge dans des tissus comme l'hypophyse, le testicule, la prostate et l'épididyme. Une dépendance remarquable de cette activité envers son milieu lipidique [10] explique probablement pourquoi cette enzyme membranaire a échappé, jusqu'à présent, à toutes les tentatives de purification complète.

Il a fallu attendre le début des années 1990 et le recours à la biologie moléculaire pour sortir de cette impasse. L'utilisation du clonage d'expression eucaryote, en utilisant des ovocytes de xénope, a permis au groupe de Russell d'isoler un clone codant pour l'activité 5 $\alpha$ -réductase à partir du foie de rat [12]. Le clone ainsi obtenu a ensuite été utilisé pour cribler une banque d'ADNc prostatique humaine qui a permis d'obtenir un clone possédant une analogie de 60 % avec le clone murin utilisé. Cependant, il n'a pas été possible de montrer une diminution de l'ARNm synthétisé chez les malades souffrant d'une déficience de l'activité 5 $\alpha$ -réductase.

L'existence d'une deuxième enzyme 5 $\alpha$ -réductase a donc été soupçonnée. En faisant à nouveau appel au clonage d'expression eucaryote, on a isolé un deuxième clone possédant la caractéristique-clé qui a permis de détecter une quantité réduite d'ARNm chez les malades ayant une

## RÉFÉRENCES

12. Andersson S, Bishop RW, Russell DW. Expression cloning and regulation of steroid 5 $\alpha$ -reductase, an enzyme essential for male sexual differentiation. *J Biol Chem* 1989 ; 264: 16249-55.
13. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid 5 $\alpha$ -reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature* 1991 ; 354: 159-61.
14. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 $\alpha$ -reductase: two genes/two enzymes. *Ann Rev Biochem* 1994 ; 63: 25-61.
15. Thigpen AE, Silver RI, Guilleyardo JM, Casey L, McDonnell JD, Russell DW. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 $\alpha$ -reductase isozyme expression. *J Clin Invest* 1993 ; 92: 903-9.
16. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 $\alpha$ -reductase 2 deficiency. *Endocrine Rev* 1993 ; 14: 577-93.
17. Imperato-McGinley J, Sanchez RS, Spencer JR, Yee B, Vaughan ED. Comparison of the effects of the 5 $\alpha$ -reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation; dose-response studies. *Endocrinology* 1992 ; 131: 1149-56.
18. Robaire B, Hermo L. Efferent ducts, epididymis and vas deferens: structure, functions and their regulation. In: Knobil E, Neill J, eds. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1988: 999-1080.
19. Benoît J. Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. *Arch Anat Histol* 1926 ; 5: 175-412.
20. Robaire B, Scheer H, Hachey C. Regulation of epididymal steroid metabolizing enzymes. In: Jagiello G, Vogel HJ, eds. *Bio-regulators of Reproduction*. New York: Academic Press, 1988: 487-98.
21. Scheer H, Robaire B. Subcellular distribution of steroid  $\Delta$ 4-5 $\alpha$ -reductase and 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat epididymis during sexual maturation. *Biol Reprod* 1983 ; 29: 1-10.
22. Robaire B, Viger RS. Regulation of epididymal epithelial functions. *Biol Reprod* 1995 ; 52: 226-36.

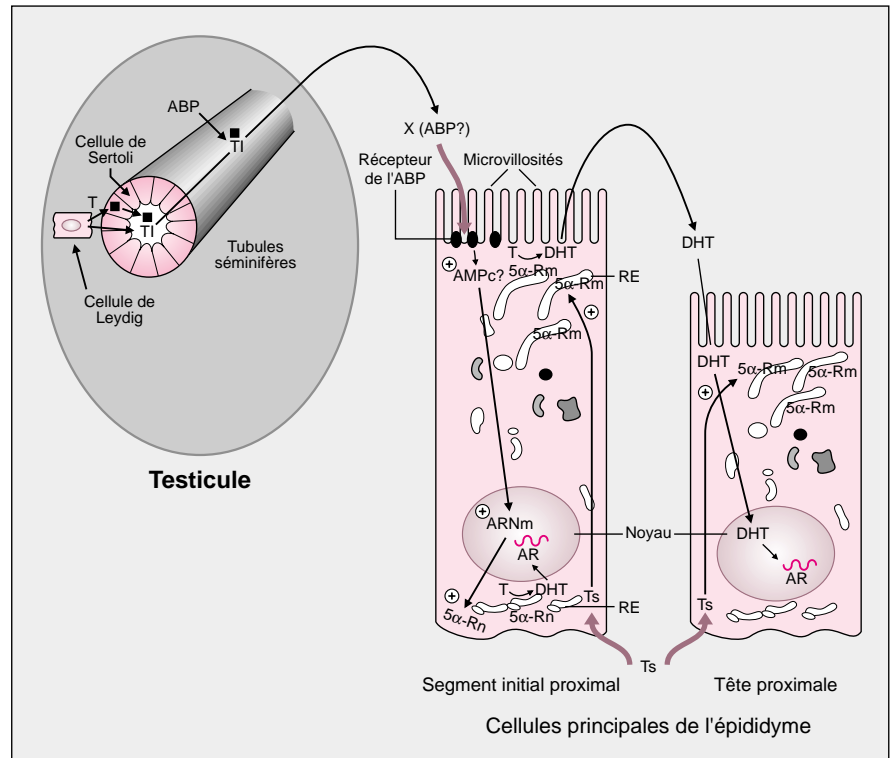


Figure 3. **Mécanisme d'action proposé pour la régulation de la 5 $\alpha$ -réductase et l'action des androgènes dans l'épididyme.** Les cellules de Leydig synthétisent la testostérone (T), qui stimule la sécrétion intraluminaire de la protéine de liaison des androgènes (ABP) par la cellule de Sertoli. Dans le segment initial de l'épididyme, la liaison de l'ABP à un récepteur spécifique induit la transmission du signal au noyau des cellules principales ce qui provoque la synthèse de l'ARNm codant pour la 5 $\alpha$ -réductase localisée en position périnucléaire (5 $\alpha$ -Rn). Dans la tête proximale de l'épididyme, la concentration importante de dihydrotestostérone (DHT) permet l'expression de gènes dépendants des androgènes nécessaires au bon fonctionnement de cette région du tissu et fournit au reste de l'épididyme la forme active de l'androgène. 5 $\alpha$ -Rm, 5 $\alpha$ -réductase microsomale; RE, réticulum endoplasmique; TI, testostérone luminale; Ts, testostérone sérique. (Adapté de Robaire et Viger [22].)

déficience de l'activité 5 $\alpha$ -réductase [13]. Les deux clones, appelés respectivement, 5 $\alpha$ -réductase type 1 et 5 $\alpha$ -réductase type 2, selon leur ordre de découverte, codent pour des protéines hydrophobes de 254 et 260 acides aminés ayant des masses moléculaires calculées de 28 et 29 kDa. Les profils d'hydrophobicité suggèrent que ces protéines sont membranaires, ce qui pourrait expliquer leurs comportements électrophorétiques anormaux (21 et 27 kDa apparents).

L'analogie de séquence, à l'intérieur d'une espèce, est de 50 % entre la 5 $\alpha$ -réductase type 1 et la 5 $\alpha$ -réductase type 2; elle est, entre les espèces, de 60 % pour la 5 $\alpha$ -réductase type 1 et de 77 % pour la 5 $\alpha$ -réductase type 2. Les résultats du groupe de Russell suggèrent que les deux enzymes pourraient être identifiées *in vitro* par leur différence de pH optimum [14]. La 5 $\alpha$ -réductase type 1 a un pH optimum neutre et large compris entre pH 6,0 et pH 8,5. La 5 $\alpha$ -réductase type 2 a un pH optimal acide beau-



coup plus strict (5,0) qui intrigue mais qui pourrait être un artefact, dû aux techniques de préparation des échantillons. Les cinétiques enzymatiques obtenues avec la 5 $\alpha$ -réductase type 2 montrent en effet que l'enzyme serait plus efficace à pH neutre, le Km passant de l'ordre du micromolaire à pH 5 au nanomolaire à pH 7; cette observation soulève la question de l'importance physiologique de la 5 $\alpha$ -réductase type 2.

L'étude de la distribution tissulaire des 5 $\alpha$ -réductases montre, chez l'homme, une démarcation assez nette entre les tissus du système reproducteur qui expriment préférentiellement la 5 $\alpha$ -réductase type 2 et les autres tissus qui expriment préférentiellement la 5 $\alpha$ -réductase type 1 [15]. On a émis une hypothèse simple des rôles différents joués par les 5 $\alpha$ -réductases en observant la démarcation de l'expression tissulaire ainsi que les différences de Km entre les deux isozymes: la 5 $\alpha$ -réductase type 1 aurait principalement un rôle catabolique alors que la 5 $\alpha$ -réductase type 2 aurait un rôle anabolique [14]. Mais la démarcation, apparente, de l'expression de la 5 $\alpha$ -réductase type 1 et de la 5 $\alpha$ -réductase type 2 entre tissus non reproducteurs et tissus reproducteurs n'est pas toujours nette, tant chez l'homme que chez d'autres espèces; la différence entre le rôle anabolique ou catabolique attribué à chaque isozyme n'est sans doute pas aussi simple que l'on pouvait espérer.

On a déduit l'importance de la 5 $\alpha$ -réductase type 2 dans la conversion de testostérone en DHT par l'analyse d'une maladie rare mais extrêmement instructive: le pseudohermaphrodisme (*m/s n° 1, vol. 3, p. 53; n° 1, vol. 8, p. 90*) [16, 17]. Cette affection est due à une déficience en activité 5 $\alpha$ -réductase type 2 qui entraîne l'absence de différenciation d'une partie du système reproducteur mâle. La différenciation sexuelle des embryons mâles et femelles se fait à partir d'ébauches indifférenciées. En l'absence de sécrétions hormonales provenant des gonades fœtales, la différenciation sexuelle produit un phénotype femelle. En présence de testicules, l'hormone antimüllérienne produite par les cellules de Sertoli entraîne la régression des canaux de Müller (donnant nais-

sance aux trompes de Fallope et au vagin chez la femme), et la testostérone provoque le développement d'un phénotype mâle. Sous l'action de la testostérone, les canaux de Wolff donnent naissance à l'épididyme, aux canaux efférents et aux vésicules séminales. Dans le sinus urogénital et le tubercule urogénital, la testostérone est convertie en DHT et induit le développement, d'une part, de l'urètre et de la prostate à partir du sinus urogénital et, d'autre part, du pénis et du scrotum à partir du tubercule urogénital. Les individus déficients en activité 5 $\alpha$ -réductase type 2 présentent des dérivés wolffiens masculins (épididyme, canaux efférents, vésicules séminales) alors que les dérivés externes provenant du sinus et du tubercule urogénital apparaissent féminins (pseudo-vagin). Cette affection rare permet de bien mettre en évidence les rôles respectifs joués, d'une part, par la testostérone et la DHT au cours de la vie fœtale et, d'autre part, par la 5 $\alpha$ -réductase type 1 et la 5 $\alpha$ -réductase type 2, l'activité de la 5 $\alpha$ -réductase type 1 étant normale chez ces individus.

### **L'épididyme, un modèle pour l'étude des 5 $\alpha$ -réductases**

L'épididyme est un tubule simple, pelotonné sur lui-même, reliant les canaux efférents, issus du testicule, aux canaux déférents; selon l'espèce, il mesure entre 3 mètres et 80 mètres et constitue l'élément principal du système excréteur mâle [18]. Sa présence et son bon fonctionnement sont indispensables à l'acquisition du pouvoir fécondant du spermatozoïde. Ce tubule est constitué de deux éléments principaux: l'épithélium et la lumière par laquelle transitent les spermatozoïdes.

Dès 1926, Benoît a mis en évidence la dépendance de l'épididyme vis-à-vis des androgènes [19]. Des travaux ultérieurs ont montré que l'androgène actif était la DHT et non pas la testostérone. Notre laboratoire a caractérisé l'activité 5 $\alpha$ -réductase épидидymaire chez le rat, montrant que cette activité est essentiellement localisée dans le segment initial de l'épididyme [20], c'est-à-dire la région immédiatement adjacente au testi-

cule; elle est réglée au cours du développement et principalement associée à la fraction nucléaire chez le jeune rat [21]. La castration provoque un effondrement de l'activité 5 $\alpha$ -réductase et l'administration de testostérone à des doses équivalentes à la concentration intraluminale de testostérone (environ 10 fois la concentration sérique) ne permet qu'une restauration partielle de l'activité 5 $\alpha$ -réductase suggérant que la testostérone ne serait pas l'inducteur principal de cette activité dans l'épididyme. La ligature des canaux efférents, supprimant l'entrée des sécrétions testiculaires dans l'épididyme, tout en maintenant des taux sériques de testostérone normaux, entraîne la suppression de l'activité 5 $\alpha$ -réductase au niveau du segment initial sans la modifier dans le reste du tissu [8].

Nous avons donc émis l'hypothèse que l'activité 5 $\alpha$ -réductase épидидymaire était réglée, en partie, de manière paracrine *via* les canaux efférents [20, 22]. Une série de travaux complémentaires nous ont permis de montrer que ce n'était pas la présence de spermatozoïdes qui était nécessaire, mais une spermatogénèse active et donc des cellules de Sertoli fonctionnelles [23]. La protéine de liaison des androgènes (ABP: *androgen binding protein*) a alors été désignée comme inducteur probable de l'activité 5 $\alpha$ -réductase au niveau du segment initial de l'épididyme (*figure 3*). L'apparition de cette activité est concomitante de l'apparition de l'ABP dans l'épididyme et il y a parfaite concordance entre le lieu d'internalisation de l'ABP par l'épithélium épидидymaire et la localisation de l'activité 5 $\alpha$ -réductase [20]. La présence d'un récepteur spécifique de l'ABP sur les membranes plasmiques apicales des cellules principales de l'épididyme conforte cette hypothèse [24].

La caractérisation de deux 5 $\alpha$ -réductases distinctes nous a logiquement conduits à nous interroger sur leur production et leur distribution respectives dans l'épididyme. La production de la 5 $\alpha$ -réductase type 1 est principalement localisée au niveau du segment initial et dans la tête de l'épididyme, la production dans le reste du tissu étant faible et constante [25]. L'utilisation d'un anticorps

## RÉFÉRENCES

23. Robaire B, Zirkin BR. Hypophysectomy and simultaneous testosterone replacement: effects on male reproductive tract and epididymal  $\Delta 4$ - $5\alpha$ -reductase and  $3\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase. *Endocrinology* 1981; 109: 1225-33.
24. Felden F, Leheup B, Fremont S, Bouguerne R, Egloff M, Nicolas JP, Grignon G, Gueant JL. The plasma membrane of epididymal epithelial cells has a specific receptor which binds to androgen-binding protein and sex steroid-binding protein. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 42: 279-85.
25. Viger RS, Robaire B. Differential regulation of steady state 4-ene steroid  $5\alpha$ -reductase messenger ribonucleic acid levels along the rat epididymis. *Endocrinology* 1991; 128: 2407-14.
26. Viger RS, Robaire B. Immunocytochemical localization of 4-ene steroid  $5\alpha$ -reductase type 1 along the rat epididymis during postnatal development. *Endocrinology* 1994; 134: 2298-306.
27. Viger RS, Robaire B. Expression of 4-ene steroid  $5\alpha$ -reductase messenger ribonucleic acid levels in the rat epididymis during postnatal development. *Endocrinology* 1992; 131: 1534-40.
28. Viger RS, Robaire B. The mRNAs for the steroid  $5\alpha$ -reductase isozymes, type 1 and type 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *J Androl* 1996; 17: 27-34.
29. Mahendroo MS, Cala KM, Russell DW.  $5\alpha$ -reduced androgens play a key role in murine parturition. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 380-92.
30. Roylance P, Gibelin B, Espie J. Current treatment of BPH. *Biomed Pharmacother* 1995; 49: 332-8.
31. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW. Deletion of steroid  $5\alpha$ -reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature* 1991; 354: 159-61.
- polyclonal, spécifique de la  $5\alpha$ -réductase type 1, a confirmé au niveau protéique sa production principale dans le segment initial puis décroissant progressivement dans la tête de l'épididyme [26]. Au cours du développement, la production de la  $5\alpha$ -réductase type 1, dont la concentration basale est constante dans les différents segments de l'épididyme chez le très jeune rat, augmente considérablement dans le segment initial entre le 21<sup>e</sup> et le 42<sup>e</sup> jour post-natal, en parallèle avec l'augmentation de l'activité  $5\alpha$ -réductase [27]. Les résultats obtenus avec la  $5\alpha$ -réductase type 2 nous ont réservé plusieurs surprises [28]. L'épididyme est le tissu où la synthèse d'ARNm de la  $5\alpha$ -réductase type 2 est la plus élevée dans l'organisme. Contrairement à la  $5\alpha$ -réductase type 1, la production de la  $5\alpha$ -réductase type 2 ne se limite pas à un segment particulier; elle est maximale au niveau de la tête de l'épididyme puis décroît légèrement dans le segment initial, et reste élevée au niveau du corps et de la queue de l'épididyme. Contrairement à la  $5\alpha$ -réductase type 1, la production de la  $5\alpha$ -réductase type 2 varie peu au cours du développement; aucun parallèle entre sa concentration et l'activité enzymatique ne peut être établi au niveau de l'épididyme. Ces résultats suggèrent fortement que, malgré un niveau de synthèse très élevé de l'ARNm, la  $5\alpha$ -réductase type 2 ne serait pas l'enzyme active dans ce tissu. Le pH optimum de l'activité  $5\alpha$ -réductase dans l'épididyme se situe d'ailleurs à un pH neutre qui serait le pH optimum de la  $5\alpha$ -réductase type 1. La ligature des canaux efférents confirme notre hypothèse. En effet, cette intervention qui supprime presque totalement l'activité  $5\alpha$ -réductase dans l'épididyme entraîne, dans le segment initial, non seulement un arrêt de la production de la  $5\alpha$ -réductase type 1 mais aussi une production deux fois plus importante de la  $5\alpha$ -réductase type 2 [28]; ce ou les mécanismes qui mènent à l'augmentation du message pour la  $5\alpha$ -réductase type 2 tout en diminuant celui pour la  $5\alpha$ -réductase type 1 restent à identifier. La production des deux isozymes n'est pas significativement modifiée dans les autres segments épididymaires.
- L'épididyme apparaît donc comme un tissu particulier quant à la production des enzymes  $5\alpha$ -réductases: celle de l'isozyme de type 2 est la plus élevée, mais ne serait pas responsable de l'activité enzymatique principale qui est le fait de la  $5\alpha$ -réductase de type 1. En outre, la production des deux isozymes est réglée de façon différentielle dans ce tissu, situation unique à ce jour à notre connaissance. L'épididyme se démarque en cela de la prostate, qui produit aussi les deux isozymes, mais de façon variable selon les conditions expérimentales.

## Les inhibiteurs de l'activité $5\alpha$ -réductase

L'inhibition complète de l'activité enzymatique  $5\alpha$ -réductase pourrait être développée dans le traitement de l'hypertrophie bénigne de la prostate, du cancer de la prostate, de l'alopecie, et dans la contraception masculine. Afin de pouvoir montrer de façon définitive le(s) rôle(s) des isozymes de  $5\alpha$ -réductase, il faudrait, soit éliminer l'expression des gènes codant pour ces enzymes (double *knock-out* des deux isozymes), soit développer des inhibiteurs irréversibles qui bloqueraient complètement l'expression de ces deux activités. Ces objectifs n'ont pas encore été atteints. Cependant, une lignée de souris qui ne produit pas l'isozyme du type 1 a été développée et plusieurs inhibiteurs compétitifs des deux isozymes synthétisés. En éliminant l'isozyme du type 1, l'effet le plus marquant a été observé chez la souris femelle et non pas chez le mâle [29]. Les conséquences de l'absence de l'isozyme du type 1 n'ont pas encore été étudiées en détail. Le seul inhibiteur de l'activité  $5\alpha$ -réductase qui soit actuellement disponible est le finasteride qui est recommandé pour le traitement de l'hypertrophie de la prostate [30]. Cet inhibiteur de type compétitif peut inhiber les deux types de  $5\alpha$ -réductases, quoiqu'il soit plus spécifique du type 2 que du type 1 chez le rat [31]; chez l'homme, cet inhibiteur semble actif surtout sur le type 2. D'autres inhibiteurs plus spécifiques sont en cours de développement. S'il était possible de synthétiser des inhibiteurs entièrement spéci-

fiques, irréversibles et non toxiques pour chacun des deux types de 5 $\alpha$ -réductases, on pourrait obtenir des contraceptifs pour l'homme ou des traitements efficaces de plusieurs maladies, y compris le cancer de la prostate. Il faudra cependant tenir compte du fait que le blocage de cette activité entraînera une augmentation de la concentration de testostérone et donc du signal androgène qui lui est associé (même si celui-ci est beaucoup plus faible que pour la dihydrotestostérone) ■

#### Remerciements

Nous voulons remercier le Conseil de Recherche Médicale du Canada pour son soutien financier au cours de nos études décrites ci-dessus.

#### TIRÉS À PART

B. Robaire.

## Summary

### Mechanism of androgen action and role of 5 $\alpha$ -reductase

In the male, androgens, defined as C19 steroids, are synthesized by the testis and adrenal. The high lipid solubility of androgens allows them to readily penetrate cells and bind to the intracellular androgen receptor. The two androgens that bind with high affinity to the androgen receptor are testosterone (T) and its 5 $\alpha$ -reduced metabolite dihydrotestosterone (DHT); other androgens have very weak biological activity. Binding of androgens to the androgen receptor increases the half life of the receptor several fold. Though testosterone is the primary androgen found in the circulation, DHT is the steroid that binds with highest affinity to the androgen receptor. The conversion of T to DHT is mediated by 5 $\alpha$ -reductase. High levels of this enzyme activity are found in some tissues where androgen action occurs, such as in the prostate and the epididymis, while it is essentially absent from others, such as the testis and muscle. Though the enzyme has not yet been purified to homogeneity, cDNAs from two different genes, encoded on different chromosomes, have been extensively used to understand the regulation of the mRNAs of 5 $\alpha$ -reductase. The tissue distribution of these mRNAs differs markedly in both man and rodents; type 2 5 $\alpha$ -reductase has been associated with the 5 $\alpha$ -reductase deficiency syndrome. An extensive series of studies, using the rat epididymis as a model, have revealed that the two 5 $\alpha$ -reductase mRNAs are regulated in different manners with respect to development, hormonal environment and longitudinal distribution in this tissue. It has been proposed that inhibition of this enzyme activity could be effective as a male contraceptive, for the treatment of alopecia and of benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostatic cancer. Indeed, the first commercially available 5 $\alpha$ -reductase inhibitor, finasteride, has been marketed for the treatment of BPH. With the advent of new drugs that affect both the androgen receptor and 5 $\alpha$ -reductase, it should become possible to finely regulate androgen action.

## 22<sup>e</sup> Symposium Européen Hormones et Régulation cellulaire

avec l'aide de l'INSERM

Mont-Sainte-Odile (Alsace, France)

3-6 octobre 1997

**L'AMP cyclique de la membrane plasmique au noyau : adénylyl cyclases, protéines G trimériques, phosphodiesterases, régulation des gènes, régulations complexes et pathologiques.**

J.A. Beavo (US) ; L. Birnbaumer (USA) ; J. Bockaert (F) ; A. Danchin (F) ; J. Dumont (B) ; R. Fischmeister (F) ; P. Gierschik (G) ; A. Gilchrist (US) ; T. Guderman (G) ; M. Houslay (UK) ; M. Lohse (G) ; S. Lotersztajn (F) ; C. Lugnier (F) ; N. Mons (F) ; M. Montminy (US) ; A. Munnich (F) ; S. Offermanns (G) ; E. Pays (B) ; J. Saez (F) ; D. Storm (US) ; P. Sassone Corsi (F) ; G. Schütz (G) ; E. Tzavara (Gr).

**Date limite de soumission des résumés et d'inscription : 15 juin 1997**

#### Information et inscription :

Dr J. Hanoune, Symposium Ste Odile, INSERM U. 99, Hôpital Henri-Mondor  
94010 CRÉTEIL, France. Fax : 33 1 48 98 09 08 @mail : hanoune@im3.inserm.fr.