

La génétique de la stérilité masculine

Société Française de Génétique

Président

A. Nicolas

Président d'honneur

F. Jacob

Vice-présidents

R. Berger

S. Potier

G. Tachdjian

H. Thiellement

Secrétaire général

M. Solignac

Trésorier

P.-M. Sinet

Prière d'adresser toute correspondance au Secrétariat général de la SFG, Michel Solignac, laboratoire de biologie et génétique évolutives, bâtiment 13, Cnrs, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

Comité de rédaction

A. Bernheim

M. Bolotin-Fukuhara

M. Fellous

J. Générmont

M.C. Hors-Cayla

B. Michel

R. Motta

A. Nicolas

M. Solignac

S. Sommer

P. Thuriaux

D. de Vienne

Secrétaire

M.-L. Prunier

Thomas Bourgeron

Sandrine Barbaux

Ken McElreavey

Marc Fellous

Environ 15 % des couples dans le monde sont concernés par des problèmes de procréation [1]. Dans un tiers des cas, c'est le partenaire masculin qui est en cause et on estime ainsi à près de 10 % la fréquence du phénotype de stérilité mâle dans la population humaine [1]. Différentes causes peuvent déclencher une infertilité masculine : (1) une obstruction du tractus génital ; (2) des problèmes d'érection ou d'éjaculation ; (3) des problèmes endocriniens (hypogonadisme hypogonadotrope) ; (4) des défauts de spermatogenèse ; (5) une fonction altérée du spermatozoïde mûr. L'origine de ces affections peut être anatomique, génétique ou liée à l'environnement [2]. Les relations qui existent entre l'environnement et la stérilité ont fait l'objet de nombreux travaux [3]. Ces études ont été particulièrement florissantes après la publication par plusieurs groupes de résultats inquiétants montrant une baisse importante de la qualité du sperme au cours de la deuxième moitié de ce siècle, et particulièrement dans les pays industrialisés [4-6]. Par ailleurs, l'existence d'anomalies chromosomiques et de cas familiaux montre qu'un défaut génétique est à l'origine de certains cas de stérilité [7-12]. L'infertilité peut également être associée à d'autres phénotypes. C'est le cas de la mucoviscidose, où les hommes porteurs de mutations dans le gène CFTR présentent une agénésie des canaux déférents et sont stériles (*m/s n° 7, vol. 8, p. 730*) [13]. Mises à part ces affections dites azoospermies obstructives ou excrétoires, la stérilité sécrétoire causée par un déficit primaire dans la production

de spermatozoïdes touche environ 2 % des hommes dans le monde. Même si, dans la majorité des cas, l'origine de l'anomalie n'est pas identifiée, de nombreux moyens thérapeutiques sont disponibles pour les couples inféconds [14]. L'assistance médicale à la procréation (AMP) a énormément progressé au cours de ces dernières années [14]. Ainsi, la fécondation *in vitro* ou plus récemment l'ICSI (*intracytoplasmic sperm injection*) ont permis à de nombreux couples incapables de procréer naturellement d'avoir des enfants. Mais ces techniques, et surtout leur banalisation, posent certains problèmes. Elles permettent d'outrepasser le défaut empêchant une fécondation correcte, mais si ce défaut est de nature génétique, quel est le risque de transmission aux enfants nés par AMP ? Il apparaît donc essentiel de pouvoir connaître la nature de l'anomalie des patients, génétique ou non, afin de leur fournir un conseil génétique éclairé et de les orienter vers le traitement le plus adapté [15]. Cet article traite des causes génétiques de l'infertilité masculine et des résultats récents obtenus en ce qui concerne l'identification de gènes impliqués dans la méiose et la spermiogenèse.

Infertilité et spermatogenèse

La spermatogenèse se divise en 2 grandes étapes : la méiose, qui est le passage des spermatogonies diploïdes (2n) aux spermatocytes II haploïdes (n), et la spermiogenèse, qui est la différenciation du spermatide en spermatozoïde mûr (*figure 1*). Les

Note ajoutée aux épreuves

Depuis la rédaction de cet article, nous avons isolé un gène autosomique humain (DAZLA) homologue à DAZ et localisé sur le chromosome 3. Ce nouveau gène est un excellent candidat pour les cas de stérilité chez l'homme.

spermatogonies se divisent pendant toute la vie sexuelle, et les cellules filles entrent en division méiotique ou contribuent à maintenir la réserve de cellules souches. Au cours de la première division méiotique (division réductionnelle), les chromatides des deux chromosomes homologues appariés sont séparés sur toute la longueur par une structure tripartite appelée complexe synaptonémal. C'est à cette étape, spécifique de la méiose, que se produisent les chiasmas et les *crossing-over*. Au cours de la deuxième division méiotique (division équationnelle), les deux spermatocytes II se divisent rapidement en quatre spermatides haploïdes. Au cours de la différenciation du spermatide en spermatozoïdes, trois caractères évoluent de façon concomitante : la condensation du noyau, la formation de l'acrosome, et le développement du flagelle et de la pièce intermédiaire (*figure 1*). Chez l'homme, la méiose dure environ deux semaines et la spermiogénèse trois semaines.

Théoriquement, le mauvais fonctionnement d'une de ces étapes peut causer une stérilité. Pour préciser à quel stade le défaut a lieu, le phénotype du patient est déterminé par l'analyse de son sperme et, dans certains cas, par l'étude microscopique d'une biopsie testiculaire. Le spermogramme est défini selon trois critères : la concentration, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes. Un large spectre de phénotypes uniques ou combinés est observé : une absence totale de spermatozoïdes (azoospermie), une diminution du nombre de spermatozoïdes (oligozoospermie, en dessous de 20 millions par millilitre), une absence ou une baisse de la motilité des spermatozoïdes (akinétozoospermie ou asthénozoospermie), ou une malformation des spermatozoïdes (térazoospermie). Même si les génotypes sont assez mal connus, il a été clairement montré que certaines anomalies chromosomiques, délétions du chromosome Y ou mutations de gènes impliqués dans la méiose ou la spermiogénèse peuvent perturber ou supprimer totalement la production de spermatozoïdes.

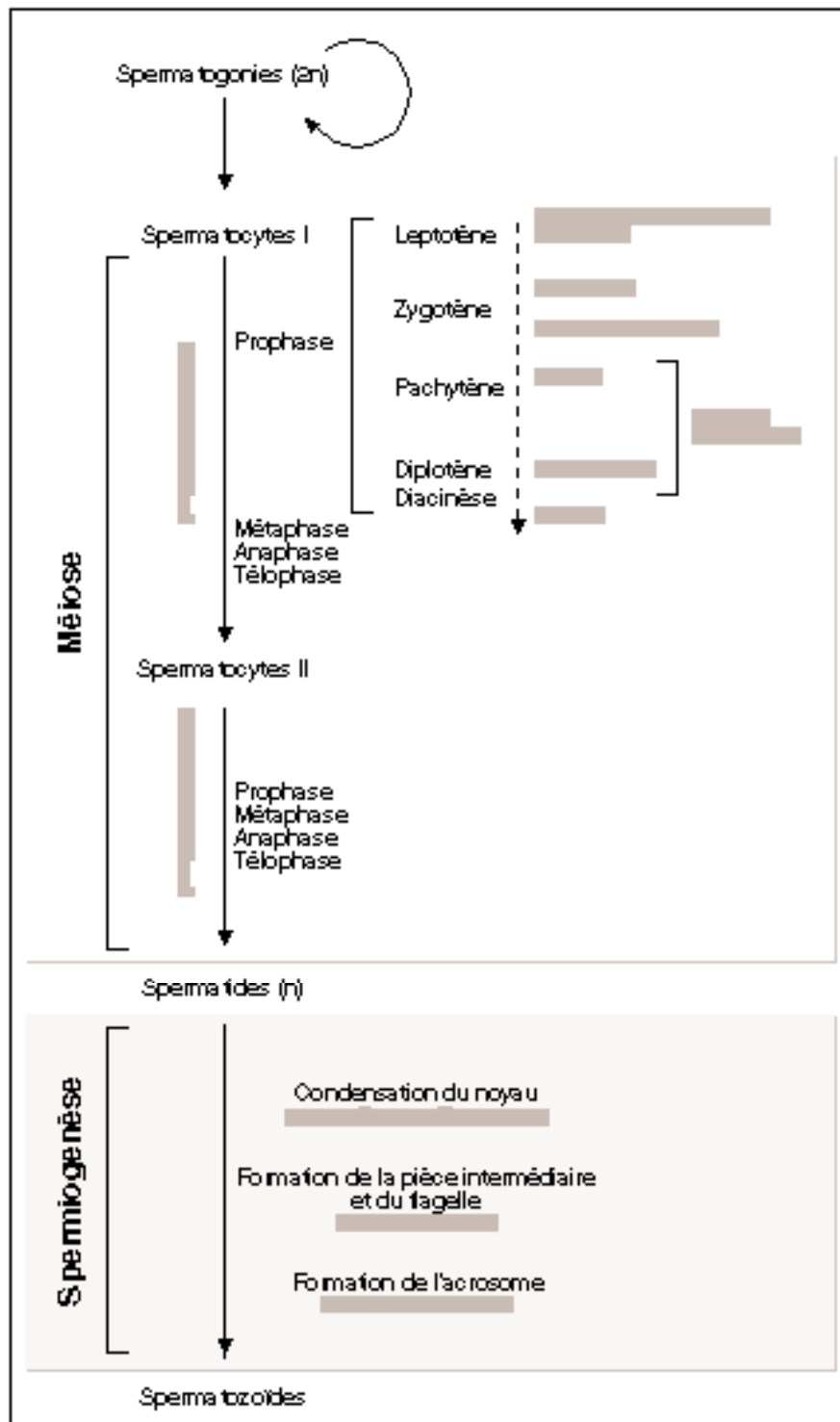


Figure 1. Schéma des différentes étapes de la spermatogenèse.

Infertilité et anomalies chromosomiques

De nombreuses études cytogénétiques ont montré des anomalies chromosomiques au niveau des lymphocytes ou des cellules germinales de patients stériles [8, 9, 11]. La fréquence de ces anomalies (2 % à 10 % selon les études) est environ dix fois plus élevée chez les patients stériles que chez des hommes témoins fertiles. Les anomalies chromosomiques donnant un phénotype de stérilité sont divisées en trois groupes. Le plus fréquent implique uniquement les chromosomes sexuels et inclut, notamment, le syndrome de Klinefelter (47, XXY), qui représente plus de 60 % des anomalies liées à ce groupe. D'autres anomalies de nombre plus rares (48, XXXY; 49, XXXXY; 48, XXYY...) ont aussi été décrites. La fréquence du syndrome XYY chez les patients stériles est identique à celle de la population générale (1 %). Enfin, les hommes 46, XX sont stériles, mais ces cas de réversion du sexe sont très rares (1/20 000). Le deuxième groupe d'anomalies comporte les translocations X-autosome ou Y-autosome. Ces phénomènes sont rares, et leur incidence sur la stérilité semble variable selon les cas. Le troisième type d'anomalie met en jeu uniquement la structure des autosomes. Tous les types de remaniements chromosomiques ont été décrits dans les cas d'infertilité. Les translocations Robertsoniennes (fusion centrique des chromosomes acrocentriques) et les translocations réciproques semblent néanmoins plus fréquentes que les inversions et insertions. A partir de ces observations, trois mécanismes ont été proposés pour expliquer l'arrêt de maturation des cellules germinales chez ces patients: interaction X-autosomes, mésappariement des chromosomes homologues au cours de la méiose (asynapsis) ou malformation anatomique de la gonade, chacun pouvant agir seul ou en synergie avec les autres. D'un point de vue moléculaire, la relation entre la stérilité et le remaniement chromosomique est difficile à établir. Deux hypothèses sont envisageables: (1) le remaniement chromosomique sup-

prime un ou plusieurs gènes impliqués dans la spermatogenèse; (2) le remaniement empêche le bon appariement des chromosomes homologues et déclenche de façon mécanique un arrêt de la méiose. Cette deuxième hypothèse semble être, dans la majorité des cas, la plus vraisemblable, du fait qu'il n'existe pas de chromosome ou de région chromosomique plus fréquemment remaniés dans les cas de stérilité. D'autre part, les études par microscopie électronique montrent, très souvent, des anomalies dans l'appariement X-autosomes (même dans les anomalies purement autosomiques) ou un asynapsis au niveau des points de cassure. Pour ces différentes raisons, il y a peu de chances qu'une anomalie cytogénétique soit le point de départ du clonage d'un gène de la spermatogenèse. Il existe cependant une exception pour le ou les gènes portés par le chromosome Y.

Infertilité et chromosome Y

Dans les années 1970, des réarrangements importants du chromosome Y ont été observés dans le caryotype d'hommes atteints d'azoospermie sécrétoire [12, 16, 17]. Les anomalies décrites comprenaient une délétion de la majeure partie du bras long du chromosome Y, facilement repérable par la perte de la fluorescence terminale. Ces observations établies sur de nombreux patients ont conduit à l'hypothèse qu'un facteur, nommé AZF pour *azoospermia factor*, codé par un ou des gènes portés par le chromosome Y, serait indispensable à la spermatogenèse [17]. Au cours de ces dernières années, les progrès de la biologie moléculaire ont permis de développer des sondes spécifiques du chromosome Y, et de délimiter ses différentes régions (figure 2). En septembre 1996, le deuxième congrès international consacré au chromosome Y a permis d'établir une nouvelle carte intégrée de marqueurs anonymes (STS) [18]. Cet outil permet une analyse rapide, efficace et relativement précise du chromosome Y (approximativement 1 marqueur/30 kb). Parallèlement, plusieurs équipes internationales se sont intéressées à

l'identification du facteur AZF responsable de la stérilité de patients par ailleurs tout à fait normaux [16, 17]. En 1995, Reijo *et al.* (Cambridge, MA, USA) ont analysé 89 patients azoospermiques afin de découvrir des délétions interstitielles du chro-

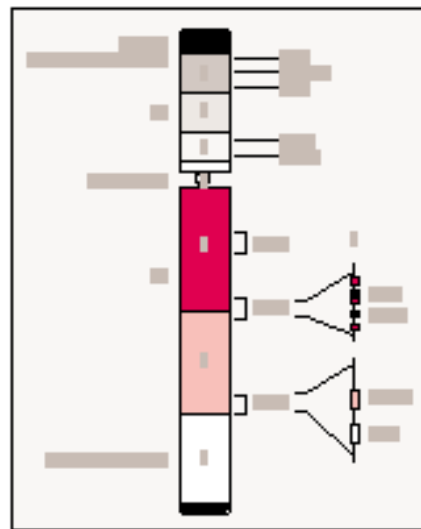


Figure 2. Le chromosome Y et les gènes candidats dans la stérilité masculine. Les loci plus directement impliqués dans la spermatogenèse, déterminés après étude de 370 patients stériles [16], sont au nombre de trois regroupés sous la dénomination de AZF (azoospermia factor). On ne connaît pas encore les gènes contenus dans l'intervalle AZFa; les gènes candidats pour AZFb font partie de la famille des gènes RBM (RNA binding motif) et de séquences pY6H, analogues du gène dhMif exprimé dans les spermatoocytes primaires de la drosophile; les gènes candidats pour AZFc sont SPGY (spermatogenesis gene on Y) et DAZ (deleted in azoospermia), codant tous deux pour des protéines de liaison à l'ARN synthétisées spécifiquement dans les testicules. Il faut noter qu'aucune mutation d'aucun de ces gènes n'a encore été mise en évidence chez les patients stériles.

mosome Y. Ils ont ainsi pu définir une région minimale, commune à toutes les délétions, devant contenir le facteur AZF [17]. Plus récemment, les travaux de Vogt *et al.* (Heidelberg, Allemagne) portant sur 370 hommes stériles, ont permis de dénombrer trois *loci* différents sur le chromosome Y, nommés *AZFa*, *AZFb* et *AZFc* (figure 2) [16]. La fréquence de ces délétions chez les hommes stériles varie de 5 % à 20 %. Au niveau de l'intervalle comprenant *AZFa*, les gènes candidats ne sont pas encore connus. Les délétions de ce locus sont associées au syndrome de *Sertoli Cell Only* (absence totale de cellules germinales) et à un petit volume testiculaire, suggérant une anomalie prépubère de la spermatogenèse [13]. Les gènes candidats pour *AZFb* font partie de la famille des gènes *RBM* (*RNA binding motif*) [16]. Parmi les quatre copies portées par le chromosome Y un seul gène semble être actif et code pour une protéine de liaison à l'ARN, spécifique des testicules (spermatocytes I et spermatides) (*m/s n° 5, vol. 12, p. 656*). Outre ces gènes, une famille de séquences mal identifiées nommées *pY6H* est aussi délétée chez les patients porteurs d'une délétion d'*AZFb* [16]. Ces séquences ont été isolées par analogie avec le gène *dh-MiFi* exprimé dans les spermatocytes primaires chez *Drosophila hydei*. Le rôle de ces séquences chez l'homme est en cours d'étude et, si la fonction de ces gènes est conservée au cours de l'évolution, ces résultats pourraient fortement suggérer un rôle des gènes *pY6H* dans la spermatogenèse. Les gènes candidats pour *AZFc* sont *DAZ* (*deleted in azoospermia*) et *SPGY* (*spermatogenesis gene on the Y*) [16, 17]. Ces deux gènes codent pour des protéines de liaison à l'ARN synthétisées spécifiquement dans les testicules. L'ADNc de *DAZ* code pour une protéine de 366 acides aminés de masse moléculaire estimée à 41,3 kDa. La partie carboxyterminale de la protéine comporte sept répétitions en tandem de 24 acides aminés, et la partie aminoterminal contient la séquence consensus RNP/RRM (*ribonucleoprotein/RNA recognition motif*), qui est observée dans de nombreuses protéines se liant à l'ARN ou

à l'ADN simple-brin. Par ailleurs, la séquence protéique (incluant les tandems) est caractérisée par une concentration importante de proline, glutamine et tyrosine, acides aminés typiques des protéines RNP/RRM. La séquence déduite de l'ADNc de *SPGY* contient elle aussi un motif de liaison à l'ARN et au moins douze répétitions en tandem homologues de celles présentes dans *DAZ*. Malgré l'absence d'analogie avec les gènes de la famille des *RBM* situés au locus *AZFb* et sur le bras court du chromosome Y, les analyses de séquence suggèrent une fonction de liaison à l'ARN pour les deux protéines *DAZ* et *SPGY*. Chez la souris, le gène *Dazla* (*DAZ like, autosomal*) homologue de *DAZ* n'est pas localisé sur le chromosome Y, mais sur le chromosome 17 [19]. L'établissement d'une souris chez laquelle ce gène aura été invalidé (*knock-out*) devrait permettre de mieux comprendre le rôle et les cibles de cette protéine.

A ce jour, aucune mutation n'a été mise en évidence dans les gènes *DAZ* et *SPGY* chez les patients stériles. Cependant, l'implication de *DAZ* dans le processus de spermatogenèse vient d'être fortement suggéré par un travail récent chez la drosophile [20]. En effet, Eberhart *et al.* (Dallas TX, USA) ont isolé le gène *boule* qui est l'homologue de *DAZ*, et ont montré que la perte de ce gène chez la drosophile donne un phénotype d'azoospermie. L'analyse histologique des testicules de la mouche mutante montre un blocage de la division méiotique, suggérant un rôle de *boule* (et de *DAZ*?) dans la méiose [20]. Ces résultats sont d'autant plus importants qu'ils encouragent l'utilisation des données obtenues chez la drosophile et la souris pour mieux comprendre la spermatogenèse chez l'homme.

Malgré la quantité importante de gènes candidats sur le chromosome Y, aucune mutation touchant un seul de ces gènes n'a été mise en évidence dans les cas de stérilité humaine. Par ailleurs, il existe d'autres gènes localisés sur les autosomes ou sur le chromosome X impliqués dans la spermatogenèse, et jouant potentiellement un rôle dans la stérilité mâle.

Infertilité et autres gènes de la spermatogenèse

Alors que chez l'homme les bases moléculaires de la stérilité sont très mal connues, chez certains modèles animaux les études progressent très vite. Depuis longtemps, il existait de nombreuses souris porteuses de mutations spontanées ou induites avec un phénotype de stérilité mâle [21]. Malheureusement, si la localisation chromosomique de ces mutations est parfois connue, les bases moléculaires de ces infertilités ne sont toujours pas identifiées. En revanche, l'utilisation de la transgénèse chez la souris a permis de démontrer le rôle de certains gènes soupçonnés d'intervenir dans la spermatogenèse, ou de découvrir les effets pléiotropes d'autres gènes sur la fertilité. A notre connaissance, le premier article présentant une souris *knock-out* avec un phénotype de stérilité mâle a été publié en 1995. Cette souris est déficiente pour la protéine PMS2 (*post meiotic segregation 2*), impliquée dans la réparation de l'ADN [22]. Peu après, on a décrit plusieurs souris stériles avec d'autres gènes invalidés: *BAX*, *CREM*, *HSP 70-2*, *RXRb*, *MLH1* et *Dhh* (Tableau I) [23-28].

PMS 2 est une protéine homologue de la protéine bactérienne mutL impliquée dans la réparation de l'ADN [29, 30]. Chez l'homme, ce gène a été impliqué dans la prédisposition aux cancers coliques familiaux [29, 30]. La souris mutante *Pms2^{-/-}* présente une instabilité des microsatellites dans plusieurs tissus incluant la lignée germinale masculine, et semble être plus susceptible au développement de sarcomes et de lymphomes [22]. Les souris mâles sont stériles, produisant des spermatozoïdes anormaux et en faible quantité. L'analyse histologique et microscopique des cellules germinales indique une anomalie au niveau du complexe synaptonémal et des synapses chromosomiques pendant la méiose. La souris mutante est oligoasthénéto-teratozoospermique [22]. *MLH1*, comme PMS2, est une protéine homologue de mutL, et les mutations dans ce gène prédisposent aux cancers coliques [29]. Les souris mu-

Tableau I		
GÈNES CANDIDATS DANS LA STÉRILITÉ MASCULINE		
Gène	Fonction chez l'homme	Localisation du gène chez l'homme
<i>Acrosine</i>	Protéase de l'acrosome des spermatozoïdes Souris mutante fertile	22q13-qter
<i>BAX</i> (<i>Bcl2 Associated X protein</i>)	Partenaire de Bcl2 Souris mutante azoospermique	19q13.3-13.4
<i>CREM</i> (<i>cAMP Responsive Element Modulator</i>)	Facteur de transcription Souris mutante hétérozygote oligo-asthéo-tératozoospermique Souris mutante homozygote azoospermique	10p12.1
<i>DAZ</i> (<i>Deleted in Azoospermia</i>)	Protéine de liaison à l'ARN Délétion du gène chez des hommes stériles	Yq11 (AZFc)
<i>DHH</i> (<i>Desert Hedgehog</i>)	Protéine de signalisation Souris mutante azoospermique	?
<i>HSP 70-2</i> (<i>Heat Shock Protein</i>)	Protéine de choc thermique Souris mutante azoospermique	14q24.1
<i>MLH1</i> (<i>MutL Homolog</i>)	Protéine de réparation de l'ADN Souris mutante azoospermique	3q21.3
<i>PRM1 et PRM2</i> (<i>Protamines 1 et 2</i>)	Protéine de structure de la chromatine des spermatozoïdes	16p13.3
<i>RBM</i> (<i>RNA Binding Motif</i>)	Protéine de liaison à l'ARN Délétion du gène chez des hommes stériles	Yq11 (AZFb)
<i>RXRβ</i> (<i>Retinoid X receptor β</i>)	Récepteur du rétinol X Souris mutante oligo-asthéo-tératozoospermique	6q21.3
<i>SPGY</i> (<i>Spermatogenesis gene Y chromosome</i>)	Protéine de liaison à l'ARN Délétion du gène chez des hommes stériles	Yq11 (AZFc)
<i>TNP1 et 2</i> (<i>Transition protein</i>)	Protéine de structure de la chromatine des spermatozoïdes	2q35-q36 et 16p13.3

tantes *Mlh*^{-/-} présentent une instabilité des microsattellites, et sont susceptibles à l'apparition de lymphomes [27]. Contrairement à la souris déficiente pour PMS2, les deux sexes sont stériles. Chez la femelle, les ovaires sont plus petits et possèdent très peu de follicules. Chez le mâle, l'analyse histologique des tubules séminifères montre une absence complète de spermatides et un excès de spermatocytes I, suggérant un arrêt au stade pachytène de la première division de méiose. L'analyse microscopique montre un mauvais appariement des chromosomes analogues, et un arrêt en première division de méiose. La souris mutante est azoospermique [27].

Bax est le partenaire hétérodimérique de Bcl2, et peut induire l'apoptose dans certaines conditions. La souris mutante *Bax*^{-/-} montre certaines anomalies spécifiques de lignées cellulaires [23]. On peut noter, entre autres, une hyperplasie des thymocytes et des cellules B et un excès de cellules de la granulosa dans les ovaires. Alors que les femelles sont normalement fertiles, les mâles sont stériles, présentant un excès de cellules préméiotiques atypiques dans les tubules séminifères. La souris mutante est azoospermique [23].

CREM (*cAMP responsive element modulator*) est un activateur de transcription fortement exprimé dans les cellules postméiotiques. La souris mâle mutante *Crem*^{-/-} est stérile (*m/s n°6, vol. 12, p. 840*) [24]. L'analyse des tubes séminifères met en évidence un arrêt postméiotique au départ de la spermatogénèse. Une absence de spermatides et une augmentation de cellules germinales en apoptose sont observées. Enfin, le déficit en CREM induit l'absence d'expression des gènes postméiotiques comme ceux codant pour les protamines, les protéines de transition... Ces résultats montrent que CREM est un des facteurs de transcription indispensables pour l'expression des gènes de la spermiogénèse. La souris hétérozygote *Crem*^{+/-} a une fertilité réduite, et la souris homozygote *Crem*^{-/-} est azoospermique [24].

HSP 70-2 est une protéine de choc thermique synthétisée en grande

quantité au cours de la spermatogénèse. Elle est localisée dans le complexe synaptonémal des spermatocytes au stade pachytène de la méiose. La souris mâle et mutante homozygote pour le gène *HSP 70-2* est stérile, avec une absence de spermatides postméiotiques et de spermatozoïdes mûrs [25]. L'anomalie de méiose s'accompagne d'une augmentation importante de spermatocytes en apoptose. La souris mutante est azoospermique [25].

Le récepteur RXR β (*retinoid X receptor*) fait partie, avec RXR α et RXR γ , de la superfamille des récepteurs nucléaires [26]. Ces protéines sont impliquées dans différentes voies de transmission du signal sous la forme d'homodimères ou comme partenaires hétérodimériques associés à d'autres récepteurs tels que les récepteurs de l'acide rétinoïque ou de l'hormone thyroïdienne (*m/s n°3, vol. 8, p. 283*). Environ la moitié des souris mutantes *RxrB*^{-/-} meurent avant ou à la naissance. Les souris qui survivent, apparaissent normales, mais les mâles sont stériles [26]. L'analyse histologique montre une accumulation de lipides dans les cellules de Sertoli et un très faible nombre de spermatozoïdes, possédant des queues et des acrosomes anormaux. L'expression spécifique de *RXR β* , et le moment d'apparition des anomalies histologiques suggèrent que le déficit primaire se situe au niveau des cellules de Sertoli. La souris mutante est oligo-asthénétozoospermique [26].

Dhh (*Desert hedgehog*), un gène codant pour une protéine impliquée dans la transmission du signal, s'exprime dans le testicule très précocement, juste après *Sry*, le gène de la détermination du sexe [28]. Son expression est limitée aux cellules de Sertoli et persiste chez l'adulte. La souris mâle homozygote *Dhh*^{-/-} est stérile [28]. L'analyse histologique du testicule adulte montre un alignement résiduel de cellules de Sertoli, et une absence pratiquement totale de cellules germinales. L'étude du développement testiculaire suggère que *Dhh* règle les stades précoces et tardifs de la spermatogénèse. La souris mutante est azoospermique [28].

Parallèlement à ces études, les gènes impliqués dans la méiose ou dans la spermatogénèse sont en cours d'identification chez l'homme, augmentant ainsi le nombre de gènes candidats pour l'étude de la stérilité mâle. Encore récemment, les généticiens qui étudiaient la méiose dans les cellules de mammifères ne pouvaient qu'envier les généticiens de la levure ou de la drosophile. Toutefois, entre autres grâce aux souris *knock-out* décrites précédemment, les moyens d'étude de la méiose dans les cellules de mammifères se développent actuellement. Il existe, en outre, un très grand nombre de gènes connus pour jouer un rôle dans la méiose de la levure dont le clonage des homologues murins ou humains est en cours [31]. Il est donc raisonnable de penser que le nombre de souris déficitaires pour la méiose va augmenter rapidement. Dans ce sens, l'exemple des gènes *PMS2* et *MLH1* décrit bien la stratégie actuelle. La première étape a été l'identification chez la bactérie des gènes et de leur rôle dans la réparation de l'ADN [29, 30]. La deuxième étape a été la recherche des homologues de levure et humains, et la mise en évidence du rôle de ces gènes dans la méiose de *S. cerevisiae* [26]. Enfin, la construction d'une souris *knock out* a permis de démontrer l'implication de ces gènes dans la méiose des mammifères [22, 27]. Cette approche permet d'obtenir des modèles animaux pour étudier la méiose chez les mammifères et une situation pathologique qui lui est associée : la stérilité. Néanmoins une étape n'a toujours pas été franchie, la mise en cause d'un de ces gènes dans les cas de stérilité humaine.

Concernant la spermiogénèse, l'existence de gènes exprimés dans les gamètes animaux avait été longtemps mise en question [32]. Cependant, depuis la fin des années 1980, de nombreux gènes exprimés dans les cellules postméiotiques, ont été mis en évidence [32]. Ainsi, il a été clairement montré que les histones, protéines de structure et de compactage de l'ADN, sont remplacées au cours de la spermatogénèse par les protéines de transition (TP1, TP2), puis finalement par les protamines. Ce changement permet

ainsi la très forte condensation de l'ADN observée dans le spermatozoïde mûr. Certaines protéines comme la tubuline α et la dynéine sont elles aussi synthétisées et polymérisées au fur et à mesure de la croissance du flagelle. Enfin, l'acrosome riche en phospholipides et en glycoprotéines renferme les enzymes lytiques synthétisées dans les spermatides. La séquence, la localisation chromosomique et le profil d'expression de certains des gènes codant pour ces protéines sont maintenant connus [32]. De par leurs fonctions, tous ces gènes sont des candidats potentiels pour les cas d'infertilité. Certaines réserves sont cependant nécessaires concernant la relation génotype/phénotype, et le cas de la souris mutante pour l'acrosine en est l'exemple-type [33]. L'acrosine est la protéase majeure de l'acrosome des spermatozoïdes mûrs. Le rôle de cette sérine protéase a longtemps été lié au processus de protéolyse permettant la pénétration du spermatozoïde à travers la membrane pellucide de l'ovocyte. Malgré ceci, de façon surprenante, la souris mâle dont le gène de l'acrosine a été invalidé est fertile. De plus, les études de fécondation *in vitro* montrent que les spermatozoïdes déficitaires pour l'acrosine peuvent pénétrer la membrane pellucide et féconder l'ovocyte. Ainsi, contre toute attente, ce travail montre que chez la souris, l'acrosine ne joue pas un rôle essentiel dans le pouvoir fécondant des spermatozoïdes. Malgré l'augmentation du nombre des gènes de spermiogenèse identifiés, aucun n'a été mis en cause dans les cas de stérilité humaine.

Quelle stérilité ?

L'identification des gènes de méiose et de spermiogenèse, associés aux récentes souris *knock-out* mâles stériles, va, sans aucun doute, permettre de préciser les bases génétiques de l'infertilité humaine. Il reste cependant un point difficile à cerner : la définition précise du phénotype de stérilité. En effet l'infertilité est un phénotype extrêmement complexe, associé vraisemblablement à une hétérogénéité génétique importante. Plus que pour toutes autres études, une description

clinique précise des individus atteints est nécessaire [34]. La corrélation entre le phénotype clinique et le génotype nécessite une très bonne connaissance de certains paramètres, tels que le volume testiculaire, la présence ou l'absence d'anomalies anatomiques (varicocèle, hypospadias, cryptorchidie* ou obstruction du tractus génital), le résultat de la biopsie si elle est disponible, le spermogramme, les données hormonales (testostérone, LH et FSH) et le caryotype.

Trois grandes difficultés peuvent, dans une certaine mesure, expliquer l'échec des généticiens dans la découverte des gènes de la stérilité. La première est l'incidence sûrement très importante de l'environnement sur la fertilité. Il est ainsi très difficile d'évaluer et de préciser si la stérilité est d'origine génétique ou si elle est liée à l'environnement. De par la nature même de l'affection (associée à une grande discrétion des couples qui consultent pour stérilité), le nombre de cas familiaux décrits dans la littérature est faible. Pour ces raisons, l'utilisation des techniques classiques d'identification de gènes par liaison génétique est moins efficace. Le deuxième problème réside dans la difficulté d'utiliser les remaniements chromosomiques comme point de départ du clonage d'un gène impliqué dans la spermatogenèse. Enfin, la troisième raison était l'absence de modèles animaux pour la stérilité mâle bien caractérisés d'un point de vue moléculaire. Cette lacune semble maintenant comblée par l'arrivée, entre autres, de nombreuses souris *knock-out* dotées d'un phénotype de stérilité.

Conclusion

La découverte des gènes de l'infertilité demande de nouveau une très forte collaboration entre cliniciens, cytogénéticiens et biologistes moléculaires. Si les progrès récents doivent permettre l'identification des bases

moléculaires de la stérilité masculine, certains moyens thérapeutiques sont d'ores et déjà accessibles.

L'ICSI permet désormais la fécondation d'ovocytes par des spermatozoïdes prélevés directement dans le testicule [14, 15]. Une telle technique appliquée à un homme présentant une oligospermie extrême peut lui permettre d'avoir un enfant. Mais la cause de son anomalie peut être génétique, par exemple une délétion interstitielle du chromosome Y. Son fils héritera de ce chromosome défectueux, et présentera le même phénotype. D'autres défauts génétiques pourraient ainsi être transmis aux générations suivantes. La connaissance des gènes responsables de la stérilité pourra permettre d'abord d'identifier clairement la mutation responsable de l'anomalie, de fournir au couple et à leur famille un conseil génétique expliquant les risques de récurrence de la maladie, et de les orienter vers la solution la plus adaptée à leur problème, de l'ICSI à l'insémination avec donneur. Lorsque le rôle précis de ces gènes sera connu, des traitements ciblés pourront être envisagés pour corriger la fonction défectueuse.

Dans un cadre plus général, une meilleure connaissance de la spermatogenèse devrait aussi permettre de localiser plus finement les cibles préférentielles de l'environnement sur la baisse de fertilité, et d'évaluer les risques de chaque produit toxique. Enfin, il est aussi envisageable d'utiliser ces données en vue de l'élaboration d'une contraception masculine. En effet, la compréhension des cascades d'événements biochimiques au cours de la spermatogenèse devrait permettre d'élaborer des molécules agissant de façon réversible comme inhibiteurs de la production des gamètes ■

Thomas Bourgeron
Sandrine Barbaux
Ken McElreavey
Marc Fellous

Laboratoire d'Immunogénétique Humaine,
Inserm U. 276, Institut Pasteur 25, rue du
Docteur-Roux 75724 Paris Cedex 15,
France.

* *Varicocèle* : dilatation d'un plexus veineux au niveau du testicule ; *hypospadias* : ouverture de l'urètre à la face antérieure de la verge, dans le sillon balanique, dans l'angle pénoscrotal ou entre les deux ; *cryptorchidie* : migration incomplète du testicule.

Références

1. Bhasin S, DeKretser DM, Baker HWG. Clinical review 64: pathophysiology and natural history of male infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1525-9.
2. Haidl G. New aspects of the aetiology of male fertility disorders. *Arch Gynecol Obstet* 1994; 255: S301-8.
3. Jégou B. Les hommes deviennent-ils moins fertiles? *La Recherche* 1996; 288: 60-5.
4. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br Med J* 1992; 305: 609-13.
5. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med* 1995; 332: 281-5.
6. Spira A, Thonneau P, Ducot B, Jouannet P. La qualité du sperme a-t-elle baissé au cours des cinquante dernières années? *médecine/sciences* 1995; 11: 621-2.
7. Lilford R, Jones AM, Bishop DT, Thornton J, Mueller R. Case-control study of whether subfertility in men is familial. *Br Med J* 1994; 309: 570-3.
8. Gabriel-Robez O, Rumpler Y. The meiotic pairing behavior in human spermatocytes carrier of chromosome anomalies and their repercussions on reproductive fitness. I – Inversions and insertions. A european collaborative study. *Ann Genet* 1994; 37: 3-10.
9. Gabriel-Robez O, Rumpler Y. The meiotic pairing behavior in human spermatocytes carrier of chromosome anomalies and their repercussions on reproductive fitness. II – Robertsonian and reciprocal translocations. A european collaborative study. *Ann Genet* 1996; 39: 17-25.
10. Guichaoua MR, Luciani JM. Aspects génétiques de la stérilité masculine. *Rev Prat* 1993; 43: 960-4.
11. Rosenbusch BE. Cytogenetics of human spermatozoa: what about the reproductive relevance of structural chromosome aberrations? *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 375-83.
12. Vogt PH. Genetic aspects of human infertility. *Int J Androl* 1995; 18: 3-6.
13. Férec C, Verlingue C, Mercier B. Le gène *CFTR*: agénésie des déférents et mucoviscidose, deux maladies pour un même gène. *médecine/sciences* 1996; 12: 485-90.
14. Morris RS, Gleicher N. Genetic abnormalities, male infertility, and ICSI. *Lancet* 1996; 347: 1277.
15. Boué A, Novaes S. Rapport du groupe de travail sur l'assistance médicale à la procréation. *médecine/sciences* 1994; 10: 929-35.
16. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Köhn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C, Hartmann M, Hartschuh W, Meschede D, Behre HM, Castel A, Nieschlag E, Weidner W, Cröne H-J, Jung A, Engel W, Haidl G. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 933-43.
17. Reijo R, Lee TY, Salo P, Alagappan R, Brown LG, Rosenberg M, Rozen S, Jaffe T, Straus D, Hovatta O, de la Chapelle A, Silber S, Page DC. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nature Genet* 1995; 10: 383-93.
18. Affara N, Bishop C, Brown W, Cooke H, Davey P, Ellis N, Graves JM, Jones M, Mitchell M, Rappold G, Tyler-Smith C, Yen P, Lau YFC. Report of the second international workshop on Y chromosome mapping 1995. *Cytogenet Cell Genet* 1996; 73: 33-76.
19. Cooke HJ, Lee M, Kerr S, Ruggiu M. A murine homologue of the human *DAZ* gene is autosomal and expressed only in male and female gonads. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 513-6.
20. Eberhart CG, Maines JZ, Wasserman SA. Meiotic cell cycle requirement for a fly homologue of human deleted in azoospermia. *Nature* 1996; 381: 783-5.
21. Chubb C. Genetically defined mouse models of male infertility. *J Androl* 1989; 10: 77-88.
22. Baker SM, Bronner CE, Zhang L, Plug AW, Robatzek M, Warren G, Elliot EA, Yu J, Ashley T, Arnheim N, Flavell RA, Liskay RM. Male mice defective in the DNA mismatch repair gene *PMS2* exhibit abnormal chromosome synapsis in meiosis. *Cell* 1995; 82: 309-19.
23. Knudson CM, Tung KSK, Tourtellotte WG, Brown GAJ, Korsmeyer SJ. Bax-deficient mice with lymphoid hyperplasia and male germ cell death. *Science* 1995; 270: 96-9.
24. Nantel F, Monaco L, Foulkes NS, Masquillier D, LeMeur M, Henriksen K, Dierich A, Parvinen M, Sassone-Corsi P. Spermiogenesis deficiency and germ-cell apoptosis in *CREM*-mutant mice. *Nature* 1996; 380: 159-65.
25. Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman-Allen P, Goulding EH, Eddy EM. Targeted gene disruption of *Hsp70-2* results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3264-8.
26. Kastner P, Mark M, Leid M, Gansmuller A, Chin W, Grondona JM, Décimo D, Krezel W, Dierich A, Chambon P. Abnormal spermatogenesis in *RXRβ* mutant mice. *Genes Dev* 1996; 10: 80-92.
27. Baker SM, Plug AW, Prolla TA, Bronner CE, Harris AC, Yao X, Christie DM, Monell C, Arnheim N, Bradley A, Ashley T, Liskay RM. Involvement of mouse *mlh1* in DNA mismatch repair and meiotic crossing over. *Nature Genet* 1996; 13: 336-42.
28. Bitgood MJ, Shen LY, McMahon AP. Sertoli cell signaling by desert hedgehog regulates the male germline. *Curr Biol* 1996; 6: 298-304.
29. Kolodner RD. Mismatch repair: mechanisms and relationship to cancer susceptibility. *Trends Biochem Sci* 1995; 20: 397-401.
30. Thomas G. Dix ans de recherche sur les prédispositions génétiques au développement des tumeurs. *médecine/sciences* 1995; 11: 336-48.
31. Roeder GS. Sex and the single cell-Meiosis in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10450-6.
32. Erickson RP. Post-meiotic gene expression. *Trends Genet* 1990; 6: 264-9.
33. Baba T, Azuma S, Kashiwabara SI, Toyoda Y. Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 269: 31845-9.
34. Meschede D, Nieschlag E, Horst J. The importance of clinical documentation in genetic studies of male infertility. *Hum Genet* 1995; 96: 500-1.

TIRÉS À PART

T. Bourgeron.

Remerciements

Les auteurs remercient Catherine Alcaide et Agnès Rôtig pour leur aide lors de la rédaction de ce manuscrit.

Summary

Genetics of male infertility

About 15% of couples world wide are affected by sterility problems. A substantial genetic component in male infertility is indicated by familial cases and *de novo* chromosomal rearrangements associated with the phenotype. Relatively little research has focused on the genetic aetiology of this frequent problem, whose the genetic causes are thus still unknown. Recent progress in understanding the genetics of meiosis in other organisms such as yeast and mice may permit the isolation of human homologous genes involved in this process. In this respect a number of homozygous null mutant mice (« knockout » mice) have been described where the only phenotypic abnormality is an absence of spermatogenesis. These genes represent excellent candidates for human male idiopathic infertility. Surprisingly, no gene mutations have been described in man that cause only a defect in spermatogenesis. A better understanding of the genetics of spermatogenesis should provide simple procedures to evaluate potential male carriers prior to expensive assisted reproductive techniques. It should also provide a knowledge-based approach to the management and treatment of male infertility. Such information should allow the development of effective fertility treatments, possibly through gene therapy, and of novel, reversible, male contraceptives.