

Le gène CFTR : agénésie des déférents et mucoviscidose, deux maladies pour un même gène

**Claude Férec
Claudine Verlingue
Bernard Mercier**

L'absence bilatérale congénitale des canaux déférents (CBAVD) est une cause importante de stérilité masculine. L'étude des mécanismes moléculaires en cause dans cette affection a montré qu'environ la moitié des malades ont une mutation du gène *CFTR*, responsable de la mucoviscidose. Aujourd'hui, les résultats de l'analyse détaillée du gène *CFTR* chez un très grand nombre de patients montre que la base génétique de la CBAVD est complexe. La présence d'un variant polypyrimidique (5T) dans le site accepteur d'épissage de l'intron 8 du gène, responsable d'une diminution très importante de la synthèse du CFTR, est fortement associée à la CBAVD. Il faut noter, cependant, que dans 22 % des cas, on ne retrouve aucune anomalie du gène *CFTR*. L'affection est donc probablement génétiquement hétérogène et d'autres facteurs ou gènes sont en cause.

ADRESSE

C. Férec: docteur en médecine, docteur ès sciences, MCU-PH Génétique. C. Verlingue: technicienne. B. Mercier: docteur ès sciences. Centre de Biogénétique, Établissement de Transfusion Sanguine de Bretagne Occidentale (ETSBO), 46, rue Félix-Le-Dantec, BP 454, 29275 Brest Cedex, France.

TIRÉS À PART

C. Férec.

L'étude de la pathologie moléculaire du gène *CFTR* apporte aujourd'hui de nouvelles informations permettant de mieux comprendre les mécanismes génétiques complexes qui sous-tendent les relations entre le génotype et le phénotype d'une maladie. Cela a été illustré très récemment par le travail de Chillon *et al.* qui ont décrit une nouvelle mutation dans le gène *CFTR* impliquée dans les formes de stérilité masculine par absence de canaux déférents (*congenital bilateral absence of the vas deferens*, CBAVD) [1]. Depuis très

longtemps, il avait été observé que les patients atteints de mucoviscidose étaient, à de très rares exceptions près, stériles par absence de déférents [2]. Il revient à Dumur *et al.* d'avoir, pour la première fois, documenté l'hypothèse d'une implication du gène *CFTR* dans cette affection en montrant que 50 % environ des patients agénésiques étaient porteurs de la mutation la plus fréquente de ce gène, la délétion $\Delta F508$ [3]. En 1992, Anguiano rapporte la description de quelques sujets stériles, par ailleurs en parfaite santé, mais cette fois porteurs de deux mutations,

RÉFÉRENCES

1. Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Romero JR, Verlingue C, Claustres M, Nunes V, Férec C, Estivill X. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995; 332: 1475-80.
2. Holsclaw DS, Lober B, Jockin H, Schwachman H. Genital abnormalities in male patients with cystic fibrosis. *J Urol* 1971; 106: 568-74.
3. Dumur V, Gervais R, Rigot JM, Lafitte JJ, Manouvrier S, Biserte J, Mazeman E, Rousset P. Abnormal distribution of CF $\Delta F508$ allele in azoospermic men with congenital aplasia of the epididymis and vas deferens. *Lancet* 1990; 336: 512.
4. Anguiano A, Oates RD, Amos JA, Dean M, Gerrard B, Stewart C, Maher TA, White MB, Milunsky A. Congenital bilateral absence of the vas deferens. A primarily genital form of cystic fibrosis. *JAMA* 1992; 267: 1794-7.
5. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population variation of Common Cystic Fibrosis Mutations. *Hum Mutat* 1994; 4: 167-77.
6. Stutts MJ, Canessa C, Olsen JC, Hamrick JA, Cohn JA, Rossier B, Boucher RC. Pathogenesis of CF airways disease: the role of CFTR as a regulator of Na^+ channels. *Science* 1995; 269: 847-50.
7. Osborne LR, Lynch M, Middleton PG, Alton EFWF, Geddes DM, Pryor JP, Hodson ME, Santis GK. Nasal epithelial ion transport and genetic analysis of infertile men with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 10, 1605-9.

c'est-à-dire hétérozygotes composites aux loci *CFTR* (*m/s n° 3, vol. 9, p. 344*). Cela a permis de poser la question des rapports entre mucoviscidose et agénésie des déférents: la stérilité masculine par absence de canaux déférents est-elle une forme primitive de mucoviscidose à localisation uniquement génitale [4]? On dispose aujourd'hui d'éléments de réponse car le gène *CFTR* a été étudié de manière exhaustive grâce au travail exemplaire réalisé par le Consortium international d'étude des mutations du gène (*cystic fibrosis genetic analysis consortium*) [5]. A ce jour, plus de 550 mutations différentes ont été localisées dans ce gène qui comprend 27 exons et code pour une protéine de 1 480 acides aminés. Cette protéine transmembranaire a non seulement une activité canal chlorure réglée par l'AMPc, mais elle contrôle elle-même au moins l'activité de deux autres canaux l'ORCC (*outward rectifying chloride channel*) et l'ENaC (*epithelial sodium channel*) (*m/s n° 11, vol. 11, p. 1612*) [6]. Par ailleurs, et comme souvent en génétique, l'étude des ségrégations familiales a contribué dans ce domaine à nous éclairer. La connaissance de cette nouvelle génétique des sujets CBAVD impose aujourd'hui de prendre en charge l'information et le conseil génétique de ces couples car les progrès conjugués des techniques de fécondation *in vitro* par micro-aspiration de sperme épидидymaire et les techniques d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes permettent à ces couples de donner naissance à un enfant.

Mutations du gène *CFTR* et absence congénitale de canaux déférents

L'étude des anomalies moléculaires du gène *CFTR*, chez les sujets azoospermiques par absence de canaux déférents, nécessite une sélection clinique extrêmement rigoureuse des patients. A l'appui d'un examen clinique très évocateur, révélant à la palpation du trajet de l'épididyme et du canal déférent une solution de continuité, le spermogramme montre l'absence de spermatozoïdes. Parmi les examens biologiques complémentaires réalisés, l'étude hormonale indique que la FSH est normale et l'étu-

de biochimique du sperme montre une concentration de carnitine abaissée. Lors du test de la sueur, la concentration de sodium reste inférieure à 70 mmol/l mais les valeurs intermédiaires entre 40 et 50 mmol/l sont souvent observées chez ces patients. Enfin, une échographie rénale permet de récuser les patients porteurs d'une agénésie rénale associée. L'interrogatoire et l'examen clinique éliminent tous signes d'appel pulmonaires ou digestifs.

Les résultats des recherches de mutations du gène *CFTR* chez les patients CBAVD publiés par quelques équipes sont difficiles à comparer. Certains groupes ont simplement recherché la présence des cinq ou six mutations les plus fréquentes, d'autres ont étudié de façon exhaustive les 27 exons du gène par des techniques performantes comme le séquençage systématique [7], le polymorphisme conformationnel de l'ADN simple brin (SSCP) [8-10] ou l'électrophorèse en gradient de gel dénaturant (DGGE) [11, 12]. Les résultats des quatre dernières études sont comparables: 10 à 20 % des patients sont porteurs de deux allèles *CFTR* mutés, 40 à 60 % sont porteurs d'une seule mutation et 30 à 50 % ne sont porteurs d'aucune mutation identifiée dans le gène *CFTR* [8-11].

Plusieurs mutations originales ont été rapportées par nous-mêmes [11] ou d'autres [13] ainsi que par le Consortium International (communication personnelle). Il s'agit des mutations K1060T [10], A800G, G149R, R258G, E193K, [11]*. Il faut souligner la difficulté, en l'absence de test fonctionnel, d'apprécier l'impact réel de ces mutations faux sens sur le fonctionnement de la protéine CFTR. Il est très probable que ces mutations, situées dans les régions transmembranaires du gène, affectent négativement la conductance chlorure. Sheppard avait montré que les cellules COS, transfectées avec un ADNc *CFTR* porteur d'une mutation faux sens (R117H) obtenue par mutagenèse dirigée, étaient capables d'exprimer environ 10 % de conductance canalaire résiduelle [14].

* Mutations remplaçant la lysine 1060 par une tyrosine, l'alanine 800 par un glyco-colle, le glyco-colle 149 par une arginine, l'arginine 258 par un glyco-colle et l'acide glutamique 193 par une lysine.

Tableau I

GÉNOTYPES DES PATIENTS HÉTÉROZYGOTES COMPOSITES

Δ F508 (exon 10) / S1235R (exon 19)
 Δ F508 (exon 10) / S1235R (exon 19) + G628R (exon 13)
 Δ F508 (exon 10) / R74W (exon 3) + D1270N (exon 20)
 Δ F508 (exon 10) / R117H (exon 4)
R553X (exon 11) / G576A (exon 12) + R668C (exon 13)
 Δ F508 (exon 10) / D1152H (exon 18)
2183 AA \rightarrow G* (exon 13) / L927P (exon 15)
 Δ F508 (exon 10) / G576A (exon 12)
R347H (exon 7) / R1066H (exon 17b)
 Δ 1152H (exon 18) / Δ F508
G576A (exon 12) / G149R (exon 4)
N1303K (exon 21) / E193K (exon 5)
 Δ F508 (exon 10) / R75L (exon 3)
Q1291R (exon 20) / Δ F508 (exon 10)
I1139V (exon 18) / Δ F508 (exon 10)
R117H (exon 4) / Δ F508 (exon 10)
G542X (exon 11) / T338I (exon 7)
R347H (exon 7) / 3659 del C (exon 19)**
G542X (exon 11) / H949R (exon 15)
 Δ F508 (exon 10) / G576A (exon 12)
G542X (exon 11) / R117H (exon 4)

Code à une lettre des acides aminés: A: Ala; C: Cys; D: Asp; E: Glu; F: Phe; G: Gly; H: His; I: Ile; K: Lys; L: Leu; M: Met; N: Asn; P: Pro; Q: Gln; R: Arg; S: Ser; T: Thr; V: Val; W: Trp; Y: Tyr.

* Délétion d'une base A et changement A \rightarrow G.

** Délétion d'une base C en position 3659.

Il apparaît clairement que des patients CBAVD identifiés « hétérozygotes composites » portent, soit l'association d'une mutation de classe I (mutation entraînant un déphasage du cadre de lecture: G542X* par exemple), de classe II (mutation affectant la maturation cellulaire de la protéine CFTR telles la Δ F508 ou la Δ I507) ou de classe III (mutation affectant la régulation du canal chlorure: G551D) et d'une mutation de classe IV (mutation produisant un dysfonctionnement de la conduction: R117H, D1270N, R347H, D1152H, etc.), soit l'association de deux allèles qualifiés de peu sévères [15]. Le Tableau I reprend les génotypes des sujets CBAVD hétérozygotes composites retrouvés dans notre série.

L'observation, due initialement à Anguiano *et al.* (*m/s n° 3, vol. 9, p. 344*) [4], qu'un même génotype Δ F508/R117H pouvait être observé à la fois chez des patients présentant une mucoviscidose peu sévère

s'accompagnant d'une suffisance pancréatique et chez des patients stériles par absence de canaux déférents mais sans aucun autre signe clinique était troublante et a fait discuter le concept de « forme de mucoviscidose à expression uniquement génitale ». Cette complexité des relations génotype/phénotype du CFTR reçut un début d'explication lorsque Chu *et al.* montrèrent que la mutation R117H pouvait être associée à deux haplotypes CFTR différents [16]. Il existe un variant polypyrimidique constitué d'une succession de thymidines situées en amont de l'exon 9 du gène CFTR. Ce variant peut se présenter sous trois formes dans la population générale, une suite de 5T, 7T ou 9T représentant respectivement 5 %, 84 % et 11 % des allèles dans la population. Kiesewetter *et al.* montrèrent que chez les patients atteints de mucoviscidose de génotype Δ F508/R117H, la mutation R117H était portée par un variant 5T alors que les sujets stériles par absence de déférents de même génotype mais sans mucoviscidose voyaient leur mutation R117H portée par un

variant 7T [17]. Ce polymorphisme de T est situé en position - 5 de l'exon 9 et cette succession variable de pyrimidines est impliquée dans la séquence consensus du site accepteur d'épissage de l'intron 8 [16]. Ainsi un variant 5T conduit à un messageur très incomplètement épissé, 90 % environ du transcrit est anormal, dépourvu d'exon 9 (exon 9 -), alors que l'épissage est correctement réalisé avec le variant 7T ou le variant 9T. L'hypothèse qu'une « mutation » influençant le niveau d'expression d'un messageur CFTR en quantité normale puisse expliquer, pour une part, les relations génotype/phénotype dans l'absence de canaux déférents méritait d'être examinée. C'est le résultat de ce travail que nous venons de publier [1]: l'augmentation très significative chez 102 patients porteurs d'une absence de déférents, de la fréquence de l'allèle 5T (21,1 % contre 5,2 % dans la population normale [$\chi^2 = 39,3$, $P < 0,001$]), permet de montrer, sans ambiguïté, l'implication de cette « mutation » chez ces patients. La présence de cette suite polypyrimidique 5T dans le site accepteur d'épissage de l'intron 8 conduit à la synthèse d'une très faible quantité d'ARNm CFTR normal; un sujet homozygote 5T ne synthétise que 8 % à 12 % de la quantité normale d'ARNm, ce qui permet toutefois la synthèse d'une quantité de protéine CFTR suffisante pour éviter un phénotype de mucoviscidose. En revanche, lorsque ce chromosome portant un variant 5T est associé à un allèle portant une mutation délétère, la petite quantité de messageur CFTR normal (entre 3 % et 8 %) peut se traduire par une absence de canaux déférents chez l'homme. Cette règle n'est très certainement pas absolue. Pour preuve, des patients de génotype Δ F508/5T ont donné naissance à des enfants, mais également 3 patients Δ F508/5T, présentant une mucoviscidose diagnostiquée après 30 ans, avec une atteinte pulmonaire discrète et sans atteinte pancréatique, ont été décrits [15]. Ainsi, une large variété de profils cliniques semble pouvoir être associée à cette « mutation 5T ». Au total, en prenant en compte cette mutation à partir de cette série de 102 patients, on constate que 33 % des sujets ont un génotype

* Mutation créant un changement de phase de lecture à partir du glycolle 542.

RÉFÉRENCES

8. Culard JF, Desgeorges M, Costa P, Laus-sel M, Razakatzara G, Navratil H, Demaille J, Claustres M. Analysis of the whole *CFTR* coding regions and splice junctions in azoospermic men with congenital bilateral aplasia of epididymis or vas deferens. *Hum Genet* 1994; 93: 467-70.

9. Rave-Harel N, Madgar I, Goshen R, Nissim-Rafinia M, Ziadni A, Rahat A, Chiba O, Kalman YM, Brautbar C, Levinson D, Augarten A, Kerem E, Kerem B. *CFTR* haplotype analysis reveals genetic heterogeneity in the etiology of congenital bilateral aplasia of the vas deferens. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 1359-66.

10. Casals T, Bassas LL, Ruiz-Romero J, Chillón M, Gimenez J, Ramos MD, Tapia G, Narvaez H, Nunes V, Estivill X. Extensive analysis of 40 infertile patients with congenital absence of the vas deferens; in 50 % of cases only one *CFTR* allele could be detected. *Hum Genet* 1995; 56: 205-11.

11. Mercier B, Verlingue C, Lissens W, Silber F, Novelli G, Bonduelle M, Audrézet MP, Férec C. Is congenital bilateral absence of vas deferens a primary form of cystic fibrosis? Analyses of the *CFTR* gene in 67 CBAVD patients. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 272-7.

12. Dreyfus JC, Akli S, Poenaru L. Maladies de Tay-Sachs et de Sandhoff. Les déficits en β -hexosaminidases, modèles des maladies des lysosomes. *médecine/sciences* 1992; 8: 797-803.

13. Costes B, Girodon E, Ghanem N, Flori E, Soufir JC, Goossens M. The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD). 20th European Cystic Fibrosis Conference. Brussels, Belgium - 18-21 June 1995.

14. Sheppard DN, Rich DP, Ostedgaard LS, Gregory RJ, Smith AE, Welsh M. Mutations in *CFTR* associated with mild-disease-form Cl-channels with altered pore properties. *Nature* 1993; 362: 160-4.

15. Férec C, Mercier B, Audrézet M. Les mutations de la mucoviscidose: du génotype au phénotype. *médecine/sciences* 1994; 10: 631-9.

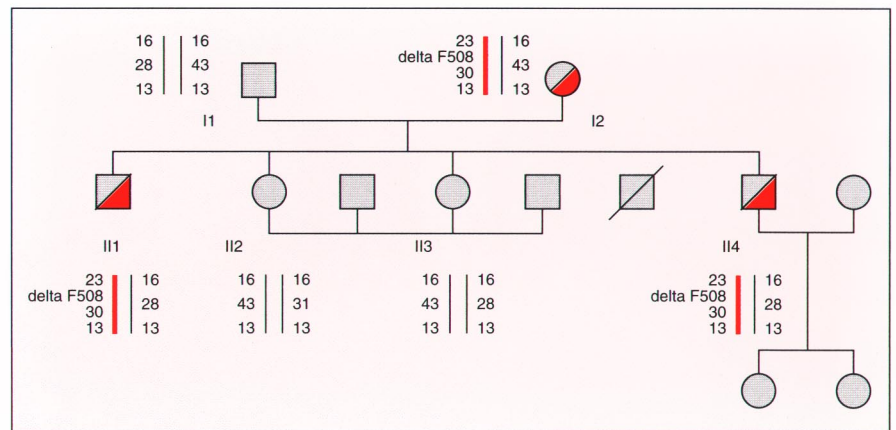


Figure 1. **Pedigree d'une famille au sein de laquelle CBAVD et caractéristiques du locus *CFTR* sont indépendants.** Les microsatellites (IVS 8 CA, IVS 17b TA, IVS 17b CA) nous ont permis de construire les haplotypes et quatre phases sont bien distinctes (16/28/13, 16/31/13, 16/43/13 et 23/30/13). Les nombres 16, 28, 13 indiquent les nombres de répétitions CA, TA et CA aux loci IVS 8, IVS 17b TA et IVS 17b CA; le locus IVS 17b CA est ici non polymorphe. Leur ségrégation montre que les 2 frères II₁ et II₄ sont identiques au locus *CFTR*. La mutation Δ F508 est située dans l'exon 10 du gène *CFTR* entre IVS 8 CA et IVS 17b TA. Le sujet II₁ est un patient CBAVD et son frère II₄ est fertile, la paternité est biologiquement confirmée. Cette famille est un bel exemple de l'hétérogénéité génétique de la CBAVD.

pe qui résulte de l'action combinée d'une mutation du gène *CFTR* sur un allèle et d'un variant 5T sur l'autre; 19 % sont hétérozygotes composites; 20 % sont porteurs d'un allèle 5T sans qu'aucune autre mutation n'ait été identifiée sur l'autre allèle; enfin, on n'a trouvé aucune mutation chez 21 % des sujets malgré une étude exhaustive du gène. Ces résultats suggèrent que cette affection est probablement hétérogène et complexe. Par l'étude des familles, nous avons essayé de mieux comprendre cette hétérogénéité génétique.

Études familiales

Nous nous sommes attachés à étudier les familles ayant plusieurs garçons atteints d'absence de canaux déférents ou des familles comptant plusieurs garçons dont l'un au moins serait stérile. Le gène *CFTR* a été caractérisé à l'aide de marqueurs polymorphes de type microsatellite (dinucleotide repeat CA et TA situés dans l'intron 8 et 17b du gène *CFTR*); ces marqueurs très polymorphes permettent la construction d'haplotypes et l'étude de leur ségré-

gation. Une des familles rapportée ici est particulièrement instructive [18].

La famille R... (figure 1)

Dans cette famille, deux frères II₁ et II₄ sont tous deux identiques aux loci *CFTR* (figure 1), l'un est porteur d'une agénésie déférentielle, l'autre est père de deux enfants (la paternité de ces deux enfants a été confirmée au plan biologique). Si les génotypes sont identiques, les phénotypes sont ici bien différents. Cette observation suggère que d'autres gènes seraient impliqués dans cette affection. Très récemment, notre équipe [19] et celle de Kerem [9] ont rapporté la description de familles dans lesquelles deux frères CBAVD sont porteurs de deux haplotypes *CFTR* différents, ce qui souligne très clairement l'hétérogénéité génétique qui peut exister dans cette affection. Cette hétérogénéité a été également illustrée par Augarten *et al.* qui ont montré que les patients CBAVD, avec des malformations rénales associées, ne présentent pas de mutation dans le gène *CFTR*, alors que le groupe de patients sans anomalies rénales présente un taux important de mutations [20]. Les ano-

malies du gène *CFTR* ne sont donc retrouvées que lorsqu'il n'y a pas d'anomalie du développement associée à l'absence de canaux déférents.

Le conseil génétique

Les résultats des études moléculaires du gène *CFTR* chez les patients stériles par absence de canaux déférents nous montrent aujourd'hui clairement que dans cette population un homme sur deux est porteur d'au moins un allèle *CFTR* muté. Une femme sur 25, dans notre population, est hétérozygote asymptomatique, ce qui signifie que 1 couple sur 50 consultant pour ce problème de stérilité est à risque d'avoir un enfant mucoviscidose dans la proportion de 1 sur 4. Il importe de proposer à ces couples une consultation de conseil génétique, pour leur expliquer les bases génétiques de l'affection telle que nous la connaissons à ce jour, tout en les rassurant quant au risque évolutif de mucoviscidose. De plus, il convient de réaliser une étude approfondie des mutations du gène *CFTR* chez les conjoints, pour bien entendu repérer les couples à risque de mucoviscidose, recherchant chez les partenaires d'un hétérozygote 90 à 95 % des mutations du gène à l'aide d'une technique performante. Cela peut être réalisé par la recherche des 30 mutations les plus fréquentes du gène *CFTR* par des techniques d'hybridation spécifique d'allèle ou par l'exploration en gradient de gel dénaturant (DGGE), par l'étude du polymorphisme de conformation de l'ADN simple brin (SSCP) ou le séquençage d'une grande partie de la région codante du gène *CFTR*. Si 90 % des mutations ont été écartées chez le partenaire, le risque résiduel de mucoviscidose pour ces couples est alors de 1/1 000. Les techniques de fécondation *in vitro* suivies d'un diagnostic préimplantatoire ont d'ores et déjà été réalisées par une équipe belge [20]. En France, les problèmes médicaux et éthiques posés par le diagnostic préimplantatoire sont discutés et non encore réglés à l'heure actuelle.

Conclusion

Il y a vingt ans, Holsclaw *et al.* suggéraient que l'azoospermie excrétoire

par absence de canaux déférents chez l'homme pouvait être l'expression phénotypique d'une forme *a minima* de mucoviscidose [2]. L'idée fut reprise et étayée par Dumur *et al.* en 1990 [3] et aujourd'hui le résultat des études moléculaires plus complètes réalisées chez ces patients confirme bien l'implication du gène *CFTR* dans cette affection, puisque 20 % des patients sont hétérozygotes composites et présentent un génotype associant une mutation qualifiée de « sévère » (classes 1, 2 ou 3: $\Delta F508$, G542X, W1282X, etc.) à une mutation faux sens qualifiée de « peu sévère » (classe 4) sur l'autre allèle. La mise en évidence aujourd'hui d'un variant « 5T » dans le site accepteur d'épissage de l'intron 8, variant qui conduit à la synthèse d'une quantité très faible du messageur *CFTR* correctement épissé, représente une forme originale de mutation qui contribue à l'expression de ce phénotype de stérilité masculine.

Ainsi, à partir d'une étude regroupant 102 patients de France, d'Espagne, de Belgique et des États-Unis, nous avons montré que 33 % d'entre eux étaient porteurs du génotype: mutation *CFTR* sur l'un des allèles/allèle 5T sur l'autre chromosome. Il manque aujourd'hui quelques pièces au puzzle de cette affection moléculaire puisque chez 22 % des sujets aucune mutation n'a été mise en évidence ni l'allèle 5T retrouvé. Les quelques études de ségrégation familiale informelle que nous ayons menées suggèrent que d'autres gènes, en association ou non avec le *CFTR*, pourraient contribuer à cette affection.

Il est important de connaître et de comprendre les bases génétiques des stérilités masculines car les techniques de fécondation *in vitro* (FIV) à l'aide de micro-aspiration de sperme épидидymaire (technique dite MESA pour *microsurgical epididymal sperm aspiration*) et d'injection intracytoplasmique de sperme (technique dite ICSI pour *intra cytoplasmic sperm injection*) ont révolutionné le traitement de ces stérilités masculines. Van Steirteghem *et al.* [21] et Silber *et al.* [22] ont obtenu, par cette technique, un taux d'ovules fertilisés de 47 %, ce qui améliore de 7 à 10 fois les résultats obtenus à l'aide des techniques de FIV classiques. La moitié environ

RÉFÉRENCES

16. Chu CS, Trapnell BC, Murtagh JJ Jr, Moss J, Dalemans W, Jallat S, Mercenier A, Pavirani A, Lecocq JP, Cutting GR, Guggino WB, Crystal RG. Variable deletion of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. *EMBO J* 1991; 10: 1355-63.
17. Kiewewetter S, Macek M Jr, Davis C, Curristin SM, Chu CS, Graham C, Shrimpton AE, Cashman SM, Tsui LC, Mickle J, Amos J, Highsmith WE, Shuber A, Witt DR, Crystal RG, Cutting GR. A mutation in *CFTR* produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nature Genet* 1993; 5: 274-8.
18. Morral N, Estivill X. Multiplex PCR amplification of three microsatellites within the *CFTR* gene. *Genomics* 1992; 13: 1362-4.
19. Lissens W, Mercier B, Tournaye H, Bonduelle M, Seneca S, Verlingue C, Liebaers I, Férec C. Genetic heterogeneity in congenital bilateral absence of the vas deferens. 20th European Cystic Fibrosis Conference. Brussels, Belgium - 18-21 June 1995.
20. Augarten A, Yahav Y, Kerem BS, Halle D, Laufer J, Szeinberg A, Dor J, Mashiach S, Gazit E, Madgar I. Congenital bilateral absence of vas deferens in the absence of cystic fibrosis. *Lancet* 1994; 344: 1473-4.
21. Van Steirteghem AC, Liu J, Joris H, Nagy Z, Janssenswillen C, Tournaye H, Derde M, Van Assche E, Devroey P. Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Human Reprod* 1993; 8: 1055-60.
22. Silber SJ, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Lissens W, Férec C, Liebaers I, Devroey P, Van Steirteghem AC. The use of epididymal and testicular sperm for ICSI: the genetic implications for male infertility. *Hum Reprod* 1996 (sous presse).

de ces couples va pouvoir donner naissance à un enfant, ce qui impose une prise en charge génétique extrêmement vigilante, s'accompagnant d'une exploration systématique des principales mutations du gène *CFTR* chez les deux partenaires. Ainsi pourront être repérés des couples à risque de 1 sur 4 et il pourra leur être proposé, s'ils le souhaitent, un diagnostic prénatal à 10 semaines d'aménorrhée sur prélèvement de villosités choriales, voire un diagnostic préimplantatoire dans l'avenir. Pour les autres couples, chez lesquels une seule mutation est repérée chez l'un ou l'autre des partenaires, il est possible de les rassurer quant au risque résiduel très faible de mucoviscidose pour leur descendance.

L'étude de la pathologie moléculaire du gène *CFTR* illustre bien comment la combinaison des diverses mutations d'un gène peut conduire à une extrême variation dans le spectre des phénotypes observés chez les patients ■

Remerciements

Ces recherches ont bénéficié du soutien de l'Association Française de Lutte contre la Mucoviscidose et du Conseil Régional de Bretagne.

Summary

Molecular basis of congenital bilateral absence of the vas deferens

Congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD) is an important cause of male sterility. The molecular basis of this condition is still unclear however it has been shown recently that about 50 % of these patients carry one mutation in their cystic fibrosis gene. To extend this observation the *CFTR* gene has been exhaustively analyzed in a large number of patients. The results of our studies and those of others show that the molecular genetic basis of CBAVD is complex. We have shown that a special DNA variant (the 5T allele), in the acceptor splice site of intron 8, causing reduced level of normal *CFTR*, is strongly associated with the CBAVD phenotype. However in 22 % of patients no *CFTR* mutation was found and the 5T allele is not present, these data combined with familial segregation analysis suggest that in a part of these male sterilities other factor(s) or gene(s) could be involved. The molecular basis of CBAVD is of importance to improve our understanding of phenotype/genotype correlation in CF as well as to improve genetic counselling for these couples.