

## Hormone anti-müllérienne : l'overdose !

L'excès en tout est un défaut : en construisant une lignée de souris transgéniques exprimant, dès la vie fœtale, jusqu'à 50 fois la quantité d'hormone anti-müllérienne (AMH) sécrétée normalement chez le mâle, les apprentis sorciers Richard Behringer, Richard Palmiter et Ralph Brinster ont obtenu des femelles masculinisées et des mâles incomplètement virilisés [1].

Pour parvenir à ce résultat, l'équipe de l'université de Pennsylvanie à Philadelphie, dont les travaux sur la transgénèse font autorité, a « emprunté » le gène de l'AMH humaine — appelée *Müllerian-inhibiting substance* (MIS) outre-Atlantique — au Dr Richard Cate, de la société Biogen à Boston, et l'ont placé sous le contrôle du promoteur de la métallothionéine-1 (*figure 1*). L'AMH est une glycoprotéine dimère, apparentée à une « superfamille » de protéines intervenant dans la croissance et la différenciation cellulaire, dont font partie le TGF- $\beta$ , l'inhibine, et le produit de gènes présents chez la drosophile et chez *Xenopus* [2]. Normalement, le gène, situé sur le chromosome 19 humain [3] ne s'exprime que dans les cellules de Sertoli immatures [4] et, à un niveau très inférieur, dans les cellules de la granulosa après la naissance [5]. Les organes cibles de l'AMH sont les canaux de Müller, qui régressent sous son influence, et l'ovaire fœtal qui, cultivé en présence d'AMH, perd ses cellules germinales, développe des tubes séminifères [6] et produit de la testostérone au lieu d'œstradiol [7]. Ces organes cibles perdent leur sensibilité à l'AMH après la naissance, ainsi la faible quantité d'hormone produite par les follicules ovariens adultes n'est pas nocive pour l'appareil génital femelle. Soustrait à l'influence régulatrice de son promoteur naturel, et poussé au maximum de son régime par un pro-

moteur ubiquitaire s'exprimant précocement, le transgène de l'AMH déverse son produit dans la circulation des souris transgéniques des deux sexes. Les souris femelles (*figure 2*), examinées après la naissance, n'ont plus de tractus génital : utérus et trompes ont régressé. L'état des ovaires est variable : le plus souvent, ils ont disparu, toutefois, en l'absence de tractus génital, les ovaires sont difficiles à localiser, il est possible que les gonades les plus masculinisées aient migré dans le canal inguinal, échappant ainsi à l'examen. Cette situation anatomique a été décrite chez des *freemartins* bovins, issus d'une grossesse gémellaire hétérosexuée, au cours de laquelle des anastomoses placentaires établies précocement permettent le passage de l'AMH produite par les testicules du jumeau mâle dans la circulation du jumeau femelle [8]. Plus rarement, les ovaires des souris transgéniques sont présents à la naissance, mais ils perdent rapidement leur stock de cellules germinales, et ces gonades stériles développent parfois des structures ressemblant à des tubes séminifères. Quant aux mâles, ils sont en général normaux, et permettent la propagation de la lignée transgénique. Toutefois, ceux qui expriment

le plus d'AMH présentent une cryptorchidie et un défaut de masculinisation du tractus génital, témoignant d'un déficit androgénique pour l'instant inexplicé.

Outre l'origine des lésions provoquées par l'hyperexpression de l'AMH chez le mâle, la très belle étude de Behringer et de ses collaborateurs pose essentiellement deux problèmes, dont l'un seulement est discuté par les auteurs, l'autre étant abordé dans une « préface » figurant dans le même numéro de *Nature* [9]. Anne McLaren s'y interroge sur l'origine de la masculinisation tardive des ovaires transgéniques. L'AMH induit-elle directement la formation de tubes séminifères après la naissance, ou son action, dans le modèle décrit par Behringer *et al.* [1] se limite-t-elle à la destruction des cellules germinales XX, qui, ont le sait, ne survivent pas au-delà de la naissance dans un environnement testiculaire ? Pour Anne McLaren, l'aplasie ovarienne ainsi que la formation tardive de structures tubulaires pourraient résulter de la disparition des ovocytes induite par la sécrétion intempestive d'AMH.

Il est vrai que la chronologie de la masculinisation de ces souris transgéniques diffère de celle, tant morpho-

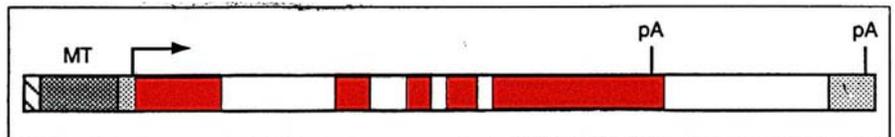


Figure 1. Carte du gène de l'AMH placé sous le contrôle du promoteur de la métallothionéine-1, utilisé pour engendrer des souris transgéniques par Behringer *et al.* [1]. De gauche à droite : hachures noires : séquences SV40 ; trame gris foncé : promoteur de la métallothionéine-1 ; gris : séquences non codantes du gène de la protamine de souris ; rouge : exons du gène de l'AMH ; blanc : introns du gène de l'AMH ; flèche : initiation de la transcription du gène de l'AMH ; MT : métallothionéine-1 ; pA : sites de polyadénylation. D'après Behringer *et al.* [1].

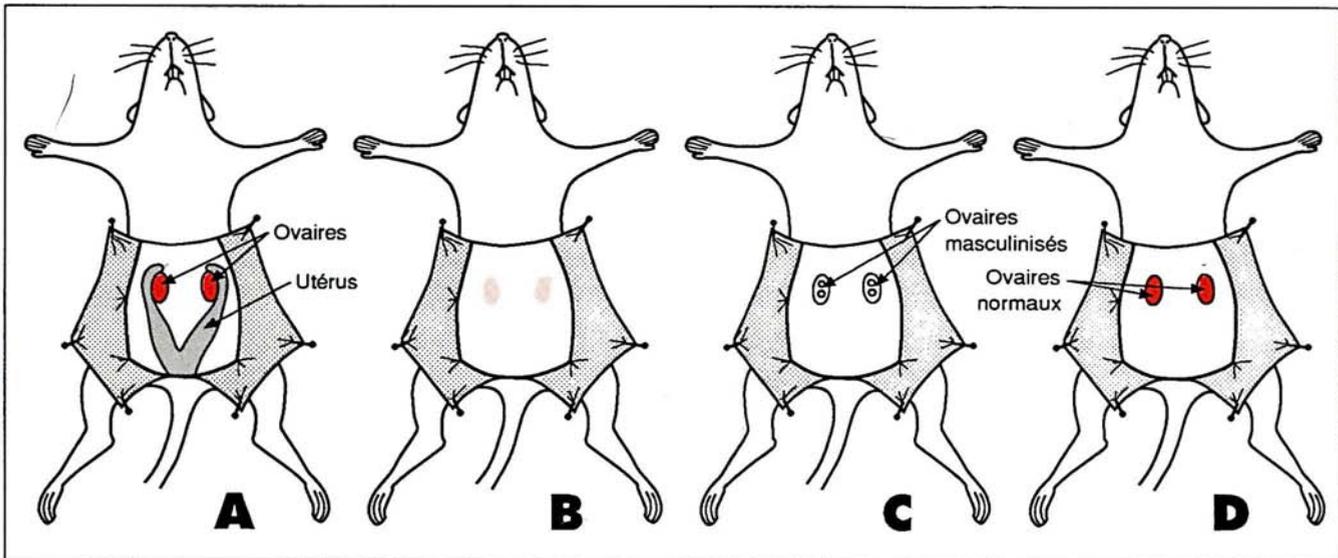


Figure 2. **Anomalies génitales chez les souris femelles exprimant le transgène de l'AMH.** **A** : témoin femelle normale, utérus, trompes et ovaires sont présents ; **B** : absence de tractus génital, gonades non identifiées ; **C** : absence de tractus génital, ovaires masculinisés ; **D** : absence de tractus génital, ovaires normaux.

logique que fonctionnelle, obtenue *in vitro* sur l'ovaire de fœtus de rat par Vigier et ses collaborateurs [6, 7], toutefois il est possible que les ovaires transgéniques les plus masculinisés aient échappé à l'examen, pour les raisons indiquées plus haut. L'étude de fœtus transgéniques devrait permettre de répondre à cette question. Si on arrive à prouver que l'AMH est capable, *in vivo*, d'induire une différenciation testiculaire dès le début de l'organogenèse gonadique, peut-on aller plus loin et considérer qu'elle intervient aussi dans la différenciation testiculaire normale, chez le fœtus XY ? Bien que le gène clé de la différenciation testiculaire ait réussi, une fois encore, à se soustraire à la curiosité des biologistes [10], il agit vraisemblablement en contrôlant l'activité d'autres gènes, probablement autosomiques. Le gène de l'AMH en fait-il partie, comme le suggèrent Behringer et ses collègues ? Pour l'instant, cette hypothèse ne repose sur aucune base expérimentale, et elle est même contredite par le fait que des sujets présentant une anomalie du gène de l'AMH empêchant sa traduction [11] ont des tes-

ticules parfaitement normaux. Toutefois, les processus physiologiques fondamentaux disposent souvent de voies métaboliques « de secours ». L'organogenèse testiculaire constitue une étape déterminante du développement masculin, et la plupart des hommes ne trouveraient pas superflu un mécanisme de sécurité en cas de panne d'un des facteurs de la masculinisation gonadique. L'AMH est-elle suffisante mais non indispensable à la différenciation testiculaire ? Les données expérimentales dont nous disposons actuellement ne permettent pas de répondre.

N. J.  
B. V.  
J.-Y. P.

1. Behringer RR, Cate RL, Froelick GJ, Palmiter RD, Brinster RL. Abnormal sexual development in transgenic mice chronically expressing Müllerian inhibiting substance. *Nature* 1990 ; 345 : 167-70.
2. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986 ; 45 : 685-98.
3. Cohen-Haguénauer O, Picard JY, Mattei MG, et al. Mapping of the gene for anti-Müllerian hormone to the short arm of

human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet* 1987 ; 44 : 2-6.

4. Tran D, Meusy-Dessolle N, Josso N. Anti-Müllerian hormone is a functional marker of fetal Sertoli cells. *Nature* 1977 ; 269 : 411-2.

5. Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N. Production of anti-Müllerian hormone : another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology* 1984 ; 114 : 1315-20.

6. Vigier B, Watrin F, Magre S, Tran D, Josso N. Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it *in vitro*. *Development* 1987 ; 100 : 43-55.

7. Vigier B, Forest MG, Eychenne B, et al. Anti-Müllerian hormone produces endocrine sex-reversal of fetal ovaries. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 3684-8.

8. Vigier B, Tran D, Legeai L, Bézard J, Josso N. Origin of anti-Müllerian hormone in bovine freemartin fetuses. *J Reprod Fert* 1984 ; 70 : 473-9.

9. McLaren A. Of MIS and the mouse. *Nature* 1990 ; 345 : 111-2.

10. Palmer MS, Sinclair AH, Berta P, et al. Genetic evidence that ZFY is not the testis-determining factor. *Nature* 1989 ; 342 : 937-9.

11. Knebelmann B, Guerrier D, Legeai L, Kahn A, Josso N, Picard JY. A nonsense mutation in the last exon of the anti-Müllerian hormone gene is responsible for the persistent Müllerian duct syndrome in three brothers (abstr.). 2<sup>e</sup> réunion annuelle de la Société d'endocrinologie pédiatrique, *Acta Paediatr Scand* (in press).