

déterminée par la fixation de la protéine PRDM9 sur les séquences définies par les motifs reconnus par les doigts de zinc de cette protéine. La fixation de PRDM9 sur ses cibles permet, selon un mécanisme qui reste à découvrir, de spécifier des sites préférentiels d'initiation de la recombinaison à l'origine des points chauds. Des approches différentes ont permis à deux autres équipes d'identifier indépendamment le rôle de PRDM9 dans la spécification des points chauds de recombinaison chez la souris et chez l'homme [9, 10].

Une particularité remarquable de ce mécanisme est que des changements dans les doigts de zinc de PRDM9, s'ils modifient la séquence d'ADN reconnue, suffisent à changer les cibles génomiques de PRDM9 et par conséquent à renouveler les points chauds de recombinaison dans l'ensemble du génome. Par exemple, les protéines PRDM9 de l'homme et du chimpanzé diffèrent fortement au niveau de leurs doigts de zinc, ce qui permet d'expliquer que, malgré des génomes aux séquences très similaires (moins de 1,2 % de divergence), les points chauds de *crossing-over* ne soient pas conservés entre ces deux espèces [9].

L'étude de PRDM9 a permis de mettre en évidence une évolution extrêmement

rapide de ses doigts de zinc qui concerne essentiellement les acides aminés impliqués dans la spécificité des séquences d'ADN reconnues [11]. Cette évolution rapide se traduit par une grande diversité intra-spécifique et une forte divergence entre espèces de PRDM9. L'évolution rapide des doigts de zinc de PRDM9 semble être contrainte par sélection positive, c'est-à-dire une sélection favorisant la fixation de nouveaux allèles dont on ne connaît pas l'origine [11]. Il est intéressant de noter que *Prdm9* a été identifié comme un gène responsable de stérilité hybride chez la souris, par un mécanisme qui n'est pas connu à ce jour [12]. PRDM9 pourrait donc avoir une ou plusieurs fonctions s'ajoutant à la spécification des sites de recombinaison. ♦

Prdm9, a key control of mammalian recombination hotspots

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Handel MA, Schimenti JC. Genetics of mammalian meiosis: regulation, dynamics and impact on fertility. *Nat Rev Genet* 2010; 11 : 124-36.

- Buard J, de Massy B. Playing hide and seek with mammalian meiotic crossover hotspots. *Trends Genet* 2007; 23 : 301-9.
- Myers S, Bottolo L, Freeman C, et al. A fine-scale map of recombination rates and hotspots across the human genome. *Science* 2005; 310 : 321-4.
- Myers S, Freeman C, Auton A, et al. A common sequence motif associated with recombination hotspots and genome instability in humans. *Nat Genet* 2008; 40 : 1124-9.
- Grey C, Baudat F, de Massy B. Genome-wide control of the distribution of meiotic recombination. *PLoS Biol* 2009; 7 : e35.
- Hayashi K, Yoshida K, Matsui Y. A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. *Nature* 2005; 438 : 374-8.
- Buard J, Barthes P, Grey C, et al. Distinct histone modifications define initiation and repair of meiotic recombination in the mouse. *EMBO J* 2009; 28 : 2616-24.
- Baudat F, Buard J, Grey C, et al. PRDM9 is a major determinant of meiotic recombination hotspots in humans and mice. *Science* 2010; 327 : 836-40.
- Myers S, Bowden R, Tumian A, et al. Drive against hotspot motifs in primates implicates the PRDM9 gene in meiotic recombination. *Science* 2010; 327 : 876-9.
- Parvanov ED, Petkov PM, Paigen K. Prdm9 controls activation of mammalian recombination hotspots. *Science* 2010; 327 : 835.
- Oliver PL, Goodstadt L, Bayes JJ, et al. Accelerated evolution of the Prdm9 speciation gene across diverse metazoan taxa. *PLoS Genet* 2009; 5 : e1000753.
- Mihola O, Trachtulec Z, Vlcek C, et al. A mouse speciation gene encodes a meiotic histone H3 methyltransferase. *Science* 2009; 323 : 373-5.
- Baudat F, de Massy B. SP011 : une activité de coupure de l'ADN indispensable à la méiose. *Med Sci (Paris)* 2004; 20 : 213-8.

NOUVELLE

FOXL2, le gardien de l'identité ovarienne

Maëlle Pannetier, Eric Pailhoux

INRA, UMR 1198-Biologie du développement et de la reproduction, bâtiment J. Poly, 78350 Jouy-en-Josas, France.
eric.pailhoux@jouy.inra.fr
maelle.pannetier@jouy.inra.fr

► La différenciation sexuelle et les différences qui existent entre les deux sexes ont toujours été sources d'interrogations et de débat. Pour les philosophes grecs, le sexe du fœtus ou sa ressemblance avec l'un des parents était déterminé par un jeu d'opposition (force de la semence, opposition gauche/droite). À l'heure de

la biologie moléculaire, les mécanismes intervenant dans la détermination du sexe sont de mieux en mieux connus : le schéma général qui prévaut actuellement met en jeu différents signaux mâles et femelles qui s'opposent, provoquant le basculement vers un sexe ou vers l'autre.

Dans leur récente étude des conséquences de l'invalidation conditionnelle du gène *Foxl2*, les équipes de Mathias Treier et Robin Lovell-Badge démontrent que cette opposition mâle/femelle perdure même dans un tissu totalement différencié comme l'est l'ovaire adulte de souris [1].

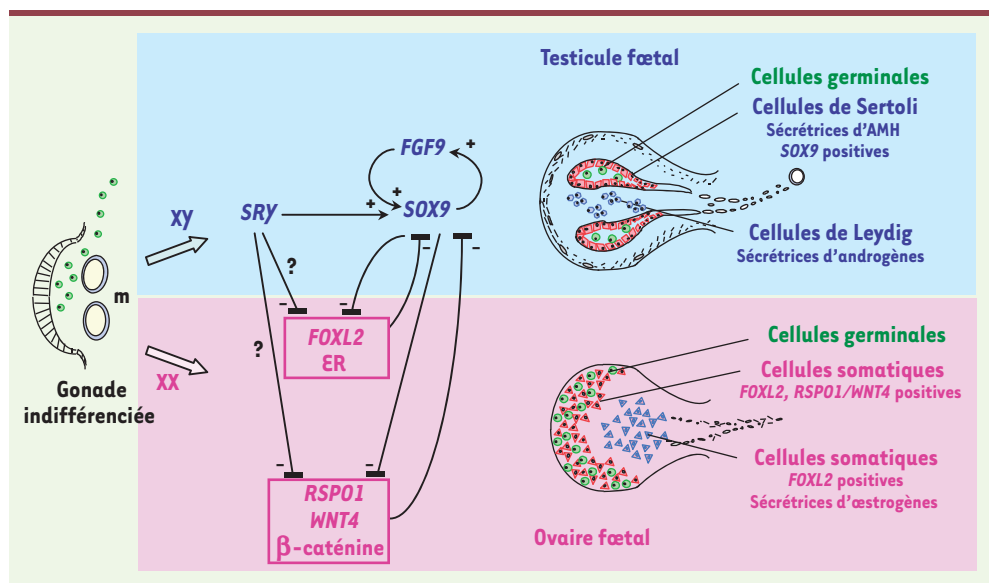


Figure 1. Signaux antagonistes au cours du développement gonadique fœtal chez la chèvre. Les crêtes génitales apparaissent sous forme d'un épaissement de l'épithélium cœlomique du mésonephros (m). Après un stade de croissance où la gonade est dite indifférenciée, la différenciation en testicule ou en ovaire va s'engager en fonction du sexe chromosomique du fœtus. Chez les individus XY, porteur du déterminant testiculaire *SRY*, la cascade des gènes mâles est activée en commençant par *SOX9*

dont l'expression est amplifiée grâce à une boucle de régulation utilisant la voie de signalisation FGF9 (*fibroblast growth factor*). L'expression de *SRY* puis de *SOX9* permet de spécifier les cellules précurseurs des cellules de Sertoli qui vont s'organiser pour former des tubes séminifères enfermant les cellules germinales en arrêt mitotique. À la suite de la différenciation de ces cellules de soutien, la lignée stéroïdogène se met en place sous la forme des cellules de Leydig qui vont sécréter des androgènes. Chez les individus XX où *SRY* est absent, deux voies moléculaires sont responsables de la différenciation ovarienne dans deux types cellulaires somatiques différents : la voie canonique de la β -caténine (activée par RSP01/WNT4) et la voie activée par FOXL2 et les récepteurs aux œstrogènes (ER). En effet, chez les bovidés (bovin, ovin, caprin), avant même l'initiation de la méiose des cellules germinales, l'ovaire s'organise très tôt en deux compartiments : le cortex où sont localisées les cellules germinales en phase active de division et les cellules exprimant RSP01/WNT4, et la médulla où les cellules somatiques XX produisent des œstrogènes sous le contrôle de FOXL2. Ces cellules stéroïdogènes n'ont pas d'équivalent dans l'ovaire fœtal de souris, chez qui la voie initiée par la β -caténine est privilégiée pour l'élaboration de la gonade femelle. De plus en plus de travaux réalisés chez la chèvre, chez la souris ou chez l'homme tendent à démontrer l'existence de signaux antagonistes entre la voie mâle (*SRY/SOX9*) et la voie femelle (*FOXL2* et β -caténine).

Sexe chromosomique et sexe phénotypique

Chez les mammifères, le sexe chromosomique du futur individu est déterminé dès la fécondation par l'apport, par le spermatozoïde fécondant, d'un chromosome X ou d'un chromosome Y. Au cours du développement fœtal, les gonades qui se différencient vont se déterminer en accord avec ce sexe génétique et évoluer vers des ovaires (XX) ou des testicules (XY). Une fois le testicule différencié, il sécrète différentes hormones (androgènes, *antimüllerian hormone* AMH) qui vont orienter la différenciation du tractus génital interne et externe vers un phénotype mâle. En l'absence de ces hormones, un tractus génital de type femelle se met en place. Ce sont ces dernières observations qui ont conduit une partie de la communauté scientifique à considérer, à tort, que le sexe femelle était un sexe par défaut.

SRY, un déterminant testiculaire

Après une quête qui a duré presque 30 ans et qui a été émaillée de quelques fausses pistes (antigène HY, ZFY¹), le gène *SRY*, déterminant du sexe mâle, nécessaire et suffisant à la différenciation du testicule, a été isolé sur le chromosome Y humain en 1990 [2]. Les preuves de son action déterminante pour la formation du testicule ont été apportées par : (1) la découverte de mutations de ce gène chez des patientes présentant une inversion sexuelle de type femmes XY et (2) l'induction d'une différenciation testiculaire chez des souris XX transgéniques pour ce seul gène du chromosome Y [3, 4]. À la suite

¹ Le gène ZFY (*zinc finger Y*) code une protéine capable de se fixer à l'ADN. Une séquence très fortement analogue est située sur le petit bras du chromosome X. ZFY intervient dans le processus de spermiogénèse mais pas dans la différenciation initiale du sexe mâle.

de la découverte de *SRY*, un autre gène-clé de la différenciation testiculaire a pu être mis en évidence, le gène *SOX9*. La surexpression ectopique de ce gène dans une gonade XX en cours de différenciation induit la formation de testicules comme le fait l'addition de *Sry* [5, 6]. Ainsi, *SOX9* est situé très en amont dans la cascade des gènes de la différenciation testiculaire et il serait « mis en marche » par *SRY*. Pendant près de 15 ans, les mécanismes moléculaires déclenchant l'activation de *SOX9* ont été recherchés, et ce n'est que récemment qu'une action activatrice directe de *Sry* sur la région promotrice de *Sox9* a pu être démontrée chez la souris [7]. Néanmoins, cette action directe sur l'activation de la voie mâle ne permet pas d'expliquer certaines pathologies d'inversion sexuelle de type mâle XX en l'absence de *SRY* [8]. Dans ces patho-

Le gène Z est un gène « hypothétique » issu d'une publication de l'équipe de Marc Fellous en 1993 [16]. Les auteurs y démontrent que l'on ne peut pas expliquer la survenue d'une différenciation testiculaire chez des individus XX uniquement à l'aide d'un modèle où *SRY* régule positivement *SOX9* (en 1993, les auteurs parlaient de gènes mâles, à l'heure actuelle on peut dire *SOX9*). Leur réflexion était la suivante : la plupart des pathologies d'inversion sexuelle de type mâle XX sont récessives et le caractère récessif est très fréquemment lié à une mutation perte de fonction. D'où l'obligation d'imaginer un gène « Z » (hypothétique) dont la fonction serait d'inhiber les gènes mâles (en l'occurrence *SOX9*). Dans cette hypothèse, *SRY* inhiberait Z pour lever l'inhibition de Z sur *SOX9* (ce que désigne ici le modèle de double inhibition). Mais surtout, la perte de fonction de Z, totale à l'état homozygote, permettrait l'expression de *SOX9* dans un contexte XX qui ne possède pas *SRY*... Il se trouve que pour la mutation PIS chez la chèvre, nous sommes exactement dans ce cas de figure : absence de *FOXL2* et conséquemment des œstrogènes, d'où expression très précoce de *SOX9* et *trans*-différenciation testiculaire très précoce chez les individus XX.

logies, une différenciation testiculaire se met en place chez des individus XX en réponse à l'expression de *SOX9* ; il faut donc imaginer que chez les femelles, ce gène mâle est normalement inhibé par un gène actif chez les femelles (modèle de double inhibition ou modèle du gène Z putatif, voir encadré). Ainsi, en plus d'une action directe sur *SOX9*, *SRY* protégerait la voie mâle en inhibant cet inhibiteur chez les individus XY. Chez les individus XX, des mutations amorphes homozygotes de Z (perte de fonction) induisent l'expression de *SOX9* en l'absence de *SRY*.

FOXL2, un gène Z candidat

Afin de découvrir de tels gènes Z, gènes « anti-testiculaires », différentes analyses génétiques ont été mises en place dans des populations d'individus mâles XX. Ce type d'inversion sexuelle est rencontré chez l'homme, mais aussi chez plusieurs espèces animales : le chien, le cheval, le porc et la chèvre. À l'heure actuelle, deux gènes responsables de ce type de pathologie ont pu être isolés, *FOXL2* chez la chèvre et *R-Spondin1* (*RSP01*) chez l'homme [9, 10]. Chez la chèvre, la perte de fonction du gène *FOXL2* est syndromique. Elle est

liée à la mutation PIS (*Polled intersex syndrome*) responsable de l'absence de cornes (dominant) et de l'inversion sexuelle des individus XX homozygotes (récessif). Cette mutation est une délétion d'environ 12 kb localisée à 300 kb en amont du gène *FOXL2*. C'est une mutation régulatrice qui affecte l'expression de *FOXL2* et d'au moins 2 longs ARN non codants, de manière différente selon le tissu considéré (perte d'expression dans les ovaires, gain d'expression dans les cornes). Dans les gonades, la perte de fonction de *FOXL2* entraîne très précocement (1) la déféminisation de la gonade, avec notamment perte de l'expression de l'enzyme codant pour l'aromatase (et donc perte de la production d'œstrogènes) et (2) la surexpression de *SOX9* et la masculinisation complète des gonades et du tractus génital interne et externe des individus XX [10, 11].

Invalidation de *Foxl2* chez la souris - Des différences entre espèces

L'invalidation du gène *Foxl2* a été réalisée chez la souris par deux équipes distinctes [12, 13]. Bien que ce gène soit exprimé très précocement au cours de la différenciation ovarienne murine, les effets de son inactivation ne sont

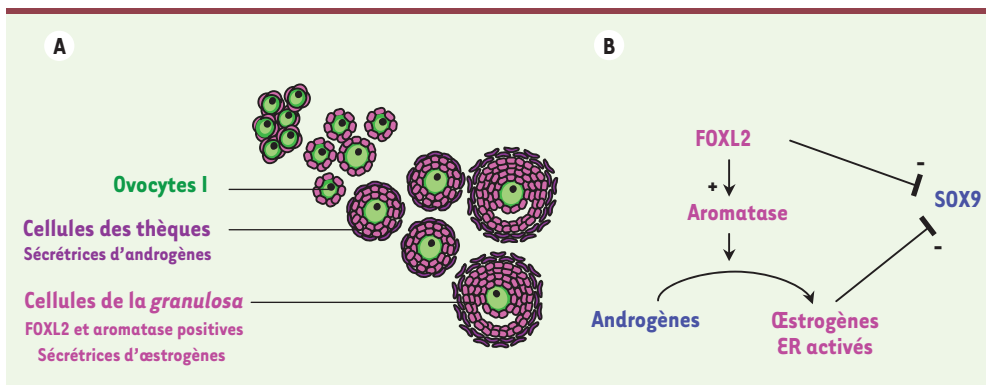


Figure 2. FOXL2 et les œstrogènes, gardiens de l'identité ovarienne dans l'ovaire adulte.

A. Développement folliculaire dans l'ovaire adulte. Lors de la formation des follicules ovariens, les cellules germinales ont déjà initié leur méiose et sont bloquées au stade prophase de la première division méiotique sous forme d'ovocytes I. Les cellules somati-

ques, futures cellules de la granulosa, s'organisent autour des ovocytes pour former des follicules. Au fur et à mesure de la croissance folliculaire, les cellules de la granulosa se multiplient, alors que les cellules des thèques se différencient autour des follicules. Ces dernières expriment toutes les enzymes de la stéroïdogénèse, permettant de produire des androgènes qui seront aromatisés en œstrogènes dans les cellules de la granulosa qui expriment l'ultime enzyme responsable de la synthèse d'hormones femelles, l'aromatase. **B.** Les gardiens de l'identité femelle dans l'ovaire adulte. *FOXL2* est un gène indispensable à la formation des follicules. Il est exprimé par les cellules de la granulosa où il va directement contrôler l'expression de l'aromatase et donc la production d'œstrogènes. C'est par l'action conjointe de *FOXL2* et des œstrogènes, via leurs récepteurs (ER), que le gène majeur de l'identité mâle, *SOX9*, est maintenu silencieux. L'absence d'expression de *FOXL2* ou des 2 types de ER entraîne une dérepression de *SOX9*, induisant une masculinisation des cellules somatiques de l'ovaire adulte.



visibles qu'après la naissance avec l'abolition de la formation des follicules primaires conduisant à une insuffisance ovarienne. Selon ces études, *Foxl2* joue un rôle majeur dans la formation des follicules ovariens et il constitue un gène-clé de la fertilité femelle.

Pour expliquer les différences de phénotypes observées entre la chèvre et la souris, un paramètre important doit être pris en compte : la production d'hormones femelles. En effet, dans l'espèce caprine les œstrogènes sont produits très tôt dans la gonade femelle, participant à la morphogenèse ovarienne précoce. Cette production hormonale est directement sous le contrôle de FOXL2 qui régule positivement l'expression du gène codant pour l'aromatase (responsable de la conversion des androgènes en œstrogènes) (Figure 1) [14]. Au contraire, dans l'espèce murine, le développement ovarien se fait en l'absence de toute production hormonale et ce n'est qu'après la naissance, lors de la croissance folliculaire, que la stéroïdogenèse ovarienne se met en place. Ainsi, pour faire un ovaire, la chèvre a besoin d'œstrogènes, alors que la souris a développé d'autres stratégies évolutives.

Perte de fonction du gène *Foxl2* chez la souris adulte

Dans leur étude récente d'inactivation conditionnelle du gène *Foxl2* dans l'ovaire adulte, les équipes de Mathias Treier et Robin Lovell-Badge viennent d'apporter des éléments de réconciliation entre les différents modèles [1]. En effet, la perte de fonction du gène *Foxl2* dans l'ovaire adulte entraîne, après un délai de seulement 4 jours, la surexpression du gène *Sox9* dans les cellules de la *granulosa*. Celles-ci

vont se *trans*-différencier en cellules de Sertoli qui, à leur tour, vont induire la *trans*-différenciation des cellules des thèques en cellules de Leydig conduisant à une « inversion » de la stéroïdogenèse ovarienne. Les auteurs montrent également que *Foxl2*, en partenariat avec les récepteurs des œstrogènes, inhibe directement la transcription du gène *Sox9* (Figure 2). En fait, l'inactivation conditionnelle de *Foxl2* ou l'inactivation complète des deux récepteurs œstrogéniques [15] conduit au même phénotype chez la souris : *trans*-différenciation des cellules de la gonade d'un caractère femelle vers mâle. Ces résultats permettent de mieux comprendre l'apparition d'une inversion sexuelle mâle XX dans le cadre de la mutation PIS chez la chèvre. Ainsi, la perte de fonction de FOXL2, engendrant très précocement l'inversion de la stéroïdogenèse ovarienne, est bien responsable de la surexpression de SOX9 dans les gonades XX mutantes.

Enfin, de façon plus générale, ces expériences démontrent, qu'en plus de son rôle dans la morphogenèse de la gonade femelle et en particulier dans la formation des follicules ovariens, FOXL2, à l'âge adulte, est un gardien de l'identité femelle.

La frontière entre le masculin et le féminin n'a jamais été aussi mince.

FOXL2, un seul gène vous manque et tout est déféminisé... ♦

FOXL2, the gatekeeper of ovarian identity

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Uhlenhaut NH, Jakob S, Anlag K, et al. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell* 2009; 139 : 1130-42.
- Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990; 346 : 240-4.
- Berta P, Hawkins JR, Sinclair AH, et al. Genetic evidence equating SRY and the testis-determining factor. *Nature* 1990; 348 : 448-50.
- Koopman P, Gubbay J, Vivian N, et al. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*. *Nature* 1991; 351 : 117-21.
- Vidal VP, Chaboissier MC, de Rooij DG, et al. *Sox9* induces testis development in XX transgenic mice. *Nat Genet* 2001; 28 : 216-7.
- Qin Y, Bishop CE. *Sox9* is sufficient for functional testis development producing fertile male mice in the absence of *Sry*. *Hum Mol Genet* 2005; 14 : 1221-9.
- Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific *Sox9* enhancer. *Nature* 2008; 453 : 930-4.
- McElreavey K, Vilain E, Abbas N, et al. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination : SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90 : 3368-72.
- Parma P, Radi O, Vidal V, et al. R-spondin1 is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy. *Nat Genet* 2006; 38 : 1304-9.
- Pailhoux E, Vigier B, Chaffaux S, et al. A 11.7-kb deletion triggers intersexuality and polledness in goats. *Nat Genet* 2001; 29 : 453-8.
- Pailhoux E, Vigier B, Vaiman D, et al. Ontogenesis of female-to-male sex-reversal in XX polled goats. *Dev Dyn* 2002; 224 : 39-50.
- Schmidt D, Ovitt CE, Anlag K, et al. The murine winged-helix transcription factor *Foxl2* is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development* 2004; 131 : 933-42.
- Uda M, Ottolenghi C, Crisponi L, et al. *Foxl2* disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development. *Hum Mol Genet* 2004; 13 : 1171-81.
- Pannetier M, Fabre S, Batista F, et al. FOXL2 activates P450 aromatase gene transcription : towards a better characterization of the early steps of mammalian ovarian development. *J Mol Endocrinol* 2006; 36 : 399-413.
- Couse JF, Hewitt SC, Bunch DO, et al. Postnatal sex reversal of the ovaries in mice lacking estrogen receptors alpha and beta. *Science* 1999; 286 : 2328-31.
- McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination : SRY represses a negative regulator of male development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90 : 3368-72.



Tarifs d'abonnement M/S - 2010

Abonnez-vous
à Médecine/Sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement
page 474 dans ce numéro de m/s

