

## Récepteurs stéroïdiens et mécanismes d'action des stéroïdes sexuels

par Anne Guiochon-Mantel et Edwin Milgrom

*INSERM U135, Laboratoire d'Hormonologie et Biologie Moléculaire, Hôpital Bicêtre, AP-HP, 78, rue du Général Leclerc, 94275-Le Kremlin Bicêtre Cedex.*

*Tél. : 01 45 21 33 29. Fax : 01 45 21 27 51. e-mail: u135@kb.inserm.fr*

*Reçu le 19 juillet 1999*

### RÉSUMÉ

Les récepteurs stéroïdiens définissent une large famille de protéines. Un second récepteur des œstrogènes a été récemment identifié. Cette découverte implique l'existence d'un nouveau mécanisme d'action des œstrogènes faisant intervenir la formation d'hétérodimères. Elle a également des conséquences importantes en pharmacologie. L'activation des récepteurs par leur ligand entraîne la modulation de la transcription de gènes spécifiques. Les protéines impliquées

dans cet effet ont été récemment identifiées. Ce sont des coactivateurs, des corépresseurs et des cointégrateurs. Leur mécanisme d'action a été caractérisé. Il fait intervenir des modifications de l'acétylation des histones au voisinage du promoteur correspondant. Les récepteurs des stéroïdes sexuels sont localisés dans le noyau et font en permanence une navette entre le noyau et le cytoplasme. Des effets non génomiques des stéroïdes ont également été décrits.

### SUMMARY Sex steroid receptors and mechanism of action

Steroid hormone receptors define a large family of proteins. Recently, a new estradiol receptor has been identified. This discovery suggests the existence of a previously unrecognized pathway of estrogen signaling. Moreover, it implies important pharmacological consequences. Receptors activation induces the modulation of transcription of specific genes. Proteins involved in this effect have been identified: coactiva-

tors, corepressors and cointegrators. Their mechanism of action have been characterized. They modify histone acetylation of the corresponding promotor. Sex steroid receptors are located in the nucleus. This nuclear localization is in fact a dynamic situation, resulting from a continuous shuttling of the receptor between the cytoplasm and the nucleus. Non genomic effects of steroids have also been described.

Les effets des stéroïdes sexuels, œstrogènes, progestérone et androgènes, s'exercent aux différents niveaux de la reproduction féminine et masculine : développement des organes génitaux, comportement sexuel, préparation de l'endomètre à l'implantation, poursuite de la grossesse... Ils ont d'une part un rôle trophique par la stimulation de la prolifération cellulaire et, d'autre part, un rôle sur la différenciation cellulaire. Enfin, ils stimulent la prolifération des cellules tumorales exprimant les récepteurs correspondants, telles que celles de cancer du sein exprimant les récepteurs des œstrogènes ou celles de cancer de la prostate exprimant le récepteur des androgènes. Les hormones stéroïdes sont de petites molécules lipophiles qui peuvent donc passer les membranes cellulaires, et entrer dans les cellules cibles où

elles interagissent alors avec une protéine spécifique, le récepteur. Ce récepteur est localisé dans le noyau cellulaire. Les récepteurs d'hormones stéroïdes sexuelles appartiennent tous à la même famille de protéines. On rattache à cette famille, outre les récepteurs des autres hormones stéroïdes (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes), constituant les récepteurs dits « classiques », des récepteurs pour d'autres petits ligands hydrophobes tels que la vitamine D, l'acide rétinoïque (dérivé de la vitamine A) ou les hormones thyroïdiennes. Les oxystéroïdes ainsi que les acides biliaires et différents dérivés lipidiques activent également des protéines homologues. D'autres protéines dont le ligand n'a pas été identifié à ce jour appartiennent à la même famille. Ce sont les récepteurs « orphelins ».

## FAMILLE DES RÉCEPTEURS STÉROÏDIENS

Cette famille de protéines se caractérise par la présence d'une structure en trois domaines homologues d'un récepteur à l'autre et dans les différentes espèces pour un récepteur donné. Les études de mutagenèse et d'expression de récepteurs mutants dans les cellules ont permis de rattacher une fonction à ces trois domaines structuraux (Carson-Jurica *et al.*, 1990; Mangelsdorf *et al.*, 1995). Le domaine N terminal est le moins conservé en séquence et en longueur. Il contient un domaine de transactivation constitutif, permettant l'interaction avec la machinerie transcriptionnelle (AF1 : Activation Function 1). Le domaine central est très conservé. Il est structuré en deux doigts de zinc dont l'un est responsable de l'interaction spécifique avec la chromatine et l'autre de la dimérisation des récepteurs sur l'ADN. Le domaine C terminal est moins conservé et sa fonction est complexe. Il se comporte comme un « interrupteur moléculaire » et contrôle de multiples fonctions du récepteur. Il contient le domaine de transactivation hormono-dépendant AF2 (Activation Function 2). En l'absence d'hormone, il permet l'interaction avec la protéine de choc thermique, hsp 90. Il permet la liaison de l'hormone. Après cette liaison, la hsp 90 se dissocie, et ce domaine acquiert différentes propriétés telles que l'interaction avec une autre molécule de récepteur (dimérisation) et l'interaction avec des protéines intermédiaires, les coactivateurs, permettant alors la transactivation hormono-dépendante. La cristallographie du domaine homologue du récepteur de l'acide rétinoïque en l'absence et en présence de ligand a montré qu'il est formé d'un sandwich de douze hélices  $\alpha$ . La liaison du ligand entraîne le repliement de la dernière hélice  $\alpha$  (H12) sur le domaine. Des cristaux du récepteur de la progestérone en présence de progestérone ont été obtenus très récemment (Tanenbaum *et al.*, 1998; Williams *et al.*, 1998). Leur conformation est superposable à la conformation des autres récepteurs en présence de ligand. L'interaction avec l'antagoniste RU486 a pu être modélisée, et entraîne un déplacement différent de l'hélice H12. Le même résultat a été obtenu pour le récepteur des œstrogènes en présence d'agoniste ou d'antagoniste, les deux molécules entraînant une conformation différente de l'hélice H12 (Brzozowski *et al.*, 1997). Ces données donnent donc des bases structurales pour le mécanisme d'action des agonistes et des antagonistes.

Les deux domaines AF1 et AF2 activent la transcription différemment selon le type cellulaire et le promoteur impliqué. Ils travaillent de manière synergique et sont tous deux requis pour une activité optimale du récepteur dans la plupart des cellules (Bocquel *et al.*, 1989).

## LES GÈNES CODANT POUR LES RÉCEPTEURS DE LA PROGESTÉRON ET DE L'ŒSTRADIOL

L'ADN codant pour le récepteur de la progestérone a été cloné dans la plupart des espèces, incluant l'Homme,

le Lapin, le Poulet et le Rat (Loosfelt *et al.*, 1986; Misrahi *et al.*, 1987). La structure du gène a été étudiée chez l'Homme. Il existe une seule copie, qui comprend plus de 90 kbp et est composée de 8 exons. Il est localisé sur le chromosome 11q22-23 chez l'Homme. Deux protéines PR-A (85 kDa) et PR-B (115 kDa) ont été décrites (Horwitz & Alexander, 1983). PR-A ne diffère de PR-B que par le fait qu'il ne contient pas les 164 premiers acides aminés. Récemment, un troisième domaine de transactivation (AF-3) a été mis en évidence. Il est localisé dans ce domaine N terminal, spécifique de PR-B. Il n'est actif que sur certains promoteurs et dans certaines cellules. PR-A et PR-B sont codés par le même gène mais leur production est contrôlée par deux promoteurs différents, aboutissant à la synthèse de deux ARN messagers différents. Dans les cellules de cancer du sein en culture, les deux protéines PR-A et PR-B sont produites en quantité équivalente. Dans les cancers du sein, le niveau d'expression relatif des deux protéines est très variable d'un sujet à l'autre (Graham *et al.*, 1996). L'importance physiologique de ces variations de niveau relatif d'expression n'a pas été explorée à fond et leur modulation relative *in vivo* n'est pas connue.

Le récepteur des œstrogènes présente deux formes,  $\alpha$  et  $\beta$ , codées par deux gènes différents. Le récepteur  $\beta$  a été découvert récemment à partir de prostate de rat (Kuiper *et al.*, 1996). Il a ensuite été retrouvé chez l'Homme et dans de nombreuses espèces (Mosselman *et al.*, 1996). Cette découverte est venue bouleverser les théories sur le mécanisme d'action des œstrogènes, impliquant un récepteur unique. Les deux récepteurs sont très homologues dans leur domaine de liaison à l'ADN, mais divergent dans leur domaine de liaison au ligand. La caractérisation du gène codant pour le récepteur  $\beta$  a pu être effectuée (Enmark *et al.*, 1997). Il est structuré en huit exons, dont les frontières sont les mêmes que celles du récepteur  $\alpha$ . Sa taille (environ 40 kbp) est en revanche beaucoup plus petite que celle du récepteur  $\alpha$  (plus de 140 kbp). Sa localisation chromosomique a été déterminée par FISH en 14q22-24, alors que le gène codant pour le récepteur  $\alpha$  est localisé sur le chromosome 6. La localisation tissulaire, et au sein d'un même tissu, la localisation cellulaire, des deux récepteurs est différente. Cela suggère l'existence de deux voies de signalisation pour les œstrogènes : une voie passant par le récepteur  $\alpha$  ou par le récepteur  $\beta$  dans les cellules qui n'expriment que l'un des deux récepteurs, et une voie passant par la formation d'hétérodimères dans les cellules exprimant les deux.

## MÉCANISME CLASSIQUE D'ACTION DES STÉROÏDES SEXUELS

En l'absence de ligand, le récepteur est dans la cellule sous forme inactive, complexé à d'autres protéines, les protéines de choc thermique et les immunophilines (Smith & Toft, 1993). La synthèse des protéines de choc thermique est induite par différents stress cellulaires,

thermiques ou chimiques. Elles ont un rôle de chaperon moléculaire. Dans le complexe hétéro-oligomérique qu'elles constituent avec les récepteurs, elles lui donnent une conformation lui permettant de lier l'hormone avec une forte affinité. La liaison de l'hormone entraîne la dissociation des protéines de choc thermique. Le récepteur subit alors l'« activation », c'est-à-dire qu'il acquiert une forte affinité pour l'ADN. La conformation du domaine de liaison à l'hormone se modifie, comme cela a été bien montré par les expériences de cristallographie. La liaison de l'agoniste, en entraînant le déplacement de l'hélice H12, permet l'interaction du récepteur avec les coactivateurs par l'intermédiaire de AF2. En revanche, les antagonistes, qui entraînent un déplacement différent de l'hélice H12, empêchent cette interaction, et pourraient même entraîner l'interaction de cette région avec des corépresseurs. Le récepteur se dimérise avec une autre molécule de récepteur activée. Les dimères de récepteurs lient alors des séquences d'ADN spécifiques, les HREs (Hormone responsive elements), localisés dans les promoteurs des gènes régulés par l'hormone (Truss & Beato, 1993). C'est le promoteur qui détermine l'initiation de la transcription du gène. Les HREs sont de courtes séquences d'ADN palindromiques, constituées de deux éléments de six bases espacés par trois bases. Les HREs des récepteurs des androgènes et de la progestérone sont identiques. Celui des oestrogènes ne diffère du précédent que par deux bases dans chaque élément de six. Cette interaction avec les HREs permet au récepteur activé de se positionner sur l'ADN et d'interagir avec le complexe de transcription par l'intermédiaire des coactivateurs (Horwitz *et al.*, 1996). Il a été récemment montré que les coactivateurs recrutent une activité histone acétylase. La fonction de ces enzymes est d'acétyler les histones qui constituent les nucléosomes, aboutissant à une activation de la transcription du gène avoisinant (Pazin & Kadonaga, 1997). Les coactivateurs ont par ailleurs une activité histone acétylase intrinsèque. Inversement, les corépresseurs recrutent une activité histone désacétylase et ont une activité histone désacétylase intrinsèque. Cette désacétylation des histones aboutit à une inhibition de la transcription du gène avoisinant. L'interaction du récepteur activé avec une région spécifique de la chromatine va donc permettre de recruter dans cette région une cascade de protéines aboutissant à l'acétylation des histones puis à l'activation de la transcription du gène correspondant. A ce jour, une interaction des récepteurs stéroïdiens a été montrée avec plusieurs coactivateurs. Le premier coactivateur du récepteur de la progestérone décrit a été la protéine SRC-1 (Steroid receptor coactivator 1) (Oate *et al.*, 1995). La protéine CBP/P300 interagit, d'une part avec les coactivateurs, mais aussi avec d'autres voies de transduction cellulaire induites par d'autres hormones ou par des facteurs de croissance (AMPC, STAT, fos-jun...). Elle présente également une activité histone acétylase intrinsèque. Elle joue donc un rôle de cointégrateur des différentes voies de transduction dans la cellule (Kamei *et al.*, 1996). L'ensemble de ces protéines, récepteurs stéroïdiens, coactivateurs et corépresseurs, cointégra-

teurs, histone acétylases et désacétylases, constitue donc un réseau autour du complexe de transcription. C'est la modulation subtile de ces interactions qui aboutit à la modulation de la transcription.

Les facteurs de transcription se liant sur un promoteur donné sont nombreux et dépendent de la séquence du promoteur. De nombreuses autres séquences d'ADN spécifiques permettant l'interaction avec des facteurs de transcription existent. Parmi ceux-ci, plusieurs sont activés par les voies de transduction des facteurs de croissance. C'est le cas des éléments de réponse à l'AMPC (CRE), qui permettent l'interaction avec la protéine CREB activée par l'AMPC, et donc activée par certains facteurs de croissance, ou des sites AP1 (TRE) qui permettent l'interaction avec les protéines de type fos/jun également activées par les mitogènes, ou enfin des éléments reconnus par les STATs, activés par les cytokines, etc. La proximité de ces différents sites sur l'ADN va entraîner une interaction entre les facteurs de transcription correspondants qui va aboutir soit à une coopération entre ces protéines, soit au contraire à un déplacement de l'une des protéines par une autre si les sites se chevauchent. Les facteurs de transcription peuvent également interagir entre eux en solution, avant la liaison à l'ADN, aboutissant à un effet inhibiteur, ou interférence transcriptionnelle. On voit donc que les interférences potentielles entre les voies de transduction des récepteurs stéroïdiens et celles activées par les différents types de facteurs de croissance sont nombreuses.

Il existe également un mécanisme d'activation des récepteurs indépendants de l'hormone. En effet, la phosphorylation des récepteurs peut interférer avec leur activité. Dans le cas du récepteur des œstrogènes, il a été montré que sa phosphorylation par différents types de kinases, MAP kinase ou tyrosine kinase, elles mêmes activées par les facteurs de croissance, entraîne une activation du récepteur, en l'absence de ligand. C'est donc un autre exemple d'interférence entre ces deux voies de transduction.

## EFFETS NON GÉNOMIQUES DES STÉROÏDES SEXUELS

Des effets rapides, de l'ordre de la minute, ne dépendant pas de la liaison de l'hormone à son récepteur nucléaire, ni de l'activation de la transcription, ont été décrits depuis longtemps. Il s'agit soit de modification de concentration calcique dans l'ovocyte ou dans le spermatozoïde, soit de modification de perméabilité membranaire, soit encore d'augmentation d'AMPC ou de NO intracellulaire (Baulieu *et al.*, 1978; Blackmore *et al.*, 1990). Des sites de liaison spécifiques au niveau de la membrane n'ont à ce jour pas été caractérisés. Dans le cas de la progestérone, la liaison au récepteur du GABA, du NMDA ou de l'acétylcholine dans le système nerveux central, ainsi que sa liaison au récepteur de l'ocytocine a été caractérisée et pourrait expliquer ces effets rapides (Lambert *et al.*, 1995; Grazzini *et al.*, 1998). Les effets



des œstrogènes sur la prolifération des cellules de cancer du sein sont également médiés par ce type d'effets non transcriptionnels. Il a en effet été montré que les œstrogènes activent l'oncogène *ras* aboutissant à l'activation de la cascade des MAP kinases (Castoria *et al.*, 1999). Cet effet passe par une interaction directe entre le récepteur classique des œstrogènes et *sarc*. Dans ces mêmes cellules, les progestatifs activent également cette voie. Cet effet des progestatifs implique une interaction directe entre les récepteurs des œstrogènes et de la progestérone (Migliaccio *et al.*, 1998). Cette interaction n'est pas bien caractérisée, mais il semble bien montré actuellement que l'effet prolifératif de ces stéroïdes sur les cellules de cancer du sein passe également par un effet non transcriptionnel.

### TRAFIC INTRACELLULAIRE DES RÉCEPTEURS STÉROÏDIENS

Les récepteurs stéroïdiens sont des protéines intracellulaires qui peuvent être retrouvées dans le noyau ou le cytoplasme d'homogénats tissulaires. Jusqu'aux années 80, le modèle classique d'action des stéroïdes, basé sur les études biochimiques, proposait que le récepteur cytoplasmique en l'absence de ligand serait transloqué dans le noyau en sa présence (Gorski *et al.*, 1968; Jensen *et al.*, 1968). Cette translocation nucléaire permettait alors ses effets transcriptionnels. C'est l'obtention d'anticorps monoclonaux, dans les années 80, qui a permis de réaliser des études d'immunohistochimie sans perturber les membranes cellulaires. Ces études ont montré que la plupart des récepteurs stéroïdiens sont nucléaires en l'absence de ligand (King & Greene, 1984; Perrot-Applanat *et al.*, 1985). Cette localisation nucléaire a été démontrée dans un grand nombre de tissus cibles et dans différentes espèces.

Le signal responsable de cette localisation nucléaire est un signal complexe constitué de plusieurs regroupements d'acides aminés basiques qui sont tous nécessaires pour la localisation nucléaire (Guiochon-Mantel *et al.*, 1989; Picard *et al.*, 1990; Ylikomi *et al.*, 1992). Il englobe la région charnière entre le domaine de liaison à l'ADN et le domaine de liaison au ligand. Dans le cas des récepteurs de la progestérone et des androgènes, il englobe également la totalité du second doigt du domaine de liaison à l'ADN. Cette localisation nucléaire n'est pas une situation statique, mais le résultat d'un équilibre constant entre le noyau et le cytoplasme. Le récepteur sort en permanence du noyau vers le cytoplasme et est en permanence et activement pompé vers le noyau, grâce au signal de localisation nucléaire (Guiochon-Mantel *et al.*, 1991; Dauvois *et al.*, 1993). Ce phénomène implique que le récepteur peut avoir des effets biologiques dans le cytoplasme ou y interagir avec d'autres voies de transduction cellulaire. Des composés anti-œstrogènes, tels que le ICI 182780 agissent en partie en bloquant la rentrée du récepteur. Cela n'a pas été montré dans le cas des antiprogestérone.

### BIBLIOGRAPHIE

1. Baulieu E. E., Godeau J. F., Schorderet M. & Schorderet-Slatkine S., Steroid induced meiotic division in *Xenopus laevis* oocytes: surface and calcium. *Nature*, 1978, 275, 593-598.
2. Blackmore P. F., Beebe S. J., Danforth D. R. & Alexander N., Progesterone and 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone. Novel stimulators of calcium influx in human sperm. *J. Biol. Chem.*, 1990, 265, 1376-1380.
3. Bocquel M. T., Kumar V., Stricker C., Chambon P. & Gronemeyer H., The contribution of the N- and C-terminal regions of steroid receptors to activation of transcription is both receptor and cell-specific. *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 2581-2595.
4. Brzozowski A. M., Pike A. C. W., Dauter Z., Hubbard R. E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene G. L., Gustafsson J. A. & Carlquist M., Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 1997, 389, 753-758.
5. Carson-Jurica M. A., Schrader W. T. & O'Malley B. W., Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.*, 1990, 11, 201-220.
6. Castoria G., Barone M. V., Di Domenico M., Bilancio A., Ametrano D., Migliaccio A. & Auricchio F., Non-transcriptional action of oestradiol and progestin triggers DNA synthesis. *EMBO J.*, 1999, 18, 2500-2510.
7. Dauvois S., White R. & Parker M. G., The antiestrogen ICI182780 disrupts estrogen receptor nucleocytoplasmic shuttling. *J. Cell Sci.*, 1993, 106, 1377-1388.
8. Enmark E., Peltö-Huikko M., Grandien K., Lagercrantz S., Lagercrantz J., Fried G., Nordenskjöld M. & Gustafsson J. A., Human estrogen receptor  $\beta$ -gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, 82, 4258-65.
9. Gorski J., Toft D., Shyamala G., Smith D. & Notides A., Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with the uterus. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 1968, 24, 45-81.
10. Graham J. D., Yeates C., Balleine R. L., Harvey S. S., Milliken J. S., Bilous A. M. & Clarke C. L., Progesterone receptor A and B protein expression in human breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1996, 56, 93-98.
11. Grazzini E., Guillon G., Mouillac B. & Zingg H. H., Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature*, 1998, 392, 509-512.
12. Guiochon-Mantel A., Loosfelt H., Lescop P., Sar S., Atger M., Perrot-Applanat M. & Milgrom E., Mechanisms of nuclear localization of the progesterone receptor: evidence for interaction between monomers. *Cell*, 1989, 57, 1147-1154.
13. Guiochon-Mantel A., Lescop P., Christin-Maitre S., Loosfelt H., Perrot-Applanat M. & Milgrom E., Nucleocytoplasmic shuttling of the progesterone receptor. *EMBO J.*, 1991, 10, 3851-3859.
14. Horwitz K. B. & Alexander P. S., *In situ* photolinked nuclear progesterone receptors of human breast cancer cells: subunit molecular weights after transformation and translocation. *Endocrinology*, 1983, 113, 2195-2201.
15. Horwitz K. B., Jackson T. A., Bain D. L., Richer J. K., Takimoto G. S. & Tung L., Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Mol. Endocrinol.*, 1996, 10, 1167-1177.
16. Jensen T., Suzuki T., Kawashima T., Stumpf W. E., Jungblut P. W. & de Sombre E. R., A two-step mechanism for the interaction of oestradiol with the rat uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1968, 59, 632-638.
17. Kamei Y., Xu L., Heinzel T., Torchia J., Kurokawa R., Glass B., Lin S. C., Heyman R. A., Rose D. W., Glass C. K. & Rosenfeld M. G., A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. *Cell*, 1996, 85, 403-414.

18. King W. J. & Greene G. L., Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature*, 1984, 30, 7745-7747.
19. Kuiper G. G. J. M., Enmark E., Peltö-Huikko M., Nilsson S. & Gustafsson J. A., Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 5925-5930.
20. Loosfelt H., Atger M., Misrahi M., Guiochon-Mantel A., Meriel C., Logeat F., Benarous R. & Milgrom E., Cloning and sequence analysis of rabbit progesterone-receptor complementary DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 9045-9049.
21. Mangelsdorf D. J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schutz G., Umesono K., Blumberg B., Kastner P., Mark M., Chambon P. & Evans R. M., The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell*, 1995, 83, 835-839.
22. Migliaccio A., Piccolo D., Castoria G., Di Domenico M., Bilancio A., Lombardi M., Gong W., Beato M. & Auricchio F., Activation of the Src/p21/Erk pathway by progesterone receptor via cross-talk with estrogen receptor. *EMBO J.*, 1998, 17, 2008-2018.
23. Misrahi M., Atger M., d'Auriol L., Loosfelt H., Meriel C., Fridlansky F., Guiochon-Mantel A., Galibert F. & Milgrom E., Complete amino acid sequence of the human progesterone receptor deduced from cloned cDNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 143, 740-748.
24. Mosselman S., Polman J. & Dijkema R., Erß: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett.*, 1996, 392, 49-53.
25. Onate S. A., Tsai S. Y., Tsai M. J. & O'Malley B. W., Sequence and characterization of a coactivator for the steroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1995, 270, 1354-1357.
26. Pazin M. J. & Kadonaga J. T., What's up and down with histone deacetylation and transcription? *Cell*, 1997, 89, 325-328.
27. Perrot-Applanat M., Logeat F., Groyer-Picard M.T. & Milgrom E., Immunocytochemical study of mammalian progesterone receptor using monoclonal antibodies. *Endocrinology*, 1985, 116, 1473-1484.
28. Picard D., Kumar V., Chambon P. & Yamamoto K. R., Signal transduction by steroid hormones: nuclear localization is differentially regulated in estrogen and glucocorticoid receptors. *Cell Reg.*, 1990, 1, 291-299.
29. Smith D. F. & Toft D. O., Steroid receptors and their associated proteins. *Mol. Endocrinol.*, 1993, 7, 4-11.
30. Tanenbaum D. M., Wang Y., Williams S. P. & Sigler P. B., Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 5998-6003.
31. Truss M. & Beato M., Steroid hormone receptors: interaction with deoxyribonucleic acid and transcription factors. *Endocr. Rev.*, 1993, 14, 459-479.
32. Williams S. P. & Sigler P. B., Atomic structure of progesterone complexed with its receptor. *Nature*, 1998, 383, 392-396.
33. Ylikomi T., Bocquel M. T., Berry M., Gronemeyer H. & Chambon P., Cooperation of proto-signals for nuclear accumulation of estrogen and progesterone receptors. *EMBO J.*, 1992, 11, 3681-3694.