Journal de la Société de Biologie, 196 (3), 197-205 (2002)

La génétique du déterminisme du sexe

par François Vialard[1, 2] & Marc Fellous[3]

[1] *Service d'Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Biologie de la Reproduction et Génétique Médicale, CHI Poissy-Saint Germain, Poissy (78)*
[2] *Unité de Génétique, Laboratoire Clément, Le Blanc Mesnil (93)*
[3] *INSERM 0021, Institut Pasteur, Paris*

(Reçu le 10 avril 2002)

RÉSUMÉ

La détermination du sexe chez les mammifères correspond à la détermination, chez le mâle, du testicule. Plus d'une dizaine de gènes impliqués dans le développement précoce de la gonade ont été décrits chez l'homme et en particulier le gène primaire de cette cascade : SRY.

Le produit de ces gènes correspond à des facteurs de transcription, à l'exception de FGF9 qui permet la division et la migration des cellules du mésonephros vers le mesenchyme.

Tous les produits de ces gènes sont sensibles au dosage génique : l'haploinsuffisance ou leur duplication entraîne chez l'homme une réversion du sexe.

SUMMARY Genetic of sex determination

The male sex determination controls the testis determination and differentiation. So far more than a dozen of gene have been caracterised, including the primary Y male sex determinant : SRY gene. All the genes encode transcription factor except FDF9 which encodes a growth factor allowing mesonophritic cell to divide and migrate to the mesenchyme.

All these gene products are sensitive in man (but not in the mouse model) to gene dosage: haploinsufficiency and or duplication of these genes all lead to sex reversal. Today, we still do not know how their products are epistatic in the sex determining cascade. So far no ovary sex determining gene has been caracterised.

DÉFINITION DU SEXE

Il existe 3 niveaux différents pour définir le sexe :

1. Le niveau génétique associé à la présence, chez l'homme, du chromosome Y (caryotype 46,XY) et chez la femme son absence (46,XX). On parle alors de sexe génétique.
2. Le niveau gonadique associé à la présence chez l'homme de testicules et d'ovaires chez la femme. On parle de sexe gonadique.
3. Le niveau phénotypique selon l'aspect des organes génitaux externes. On parle de sexe phénotypique.

Ces 3 niveaux sont les étapes d'une cascade puisque le sexe génétique va influencer l'apparition d'un type de gonades, et ces mêmes gonades vont ensuite sécréter des hormones qui vont permettre une évolution des organes génitaux externes et internes vers le phénotype féminin ou masculin.

GÉNÉRALITÉS EMBRYOLOGIQUES

Il va d'abord se créer un appareil génital sexuellement indifférencié qui va ensuite évoluer dans le sens féminin ou masculin (Fig. 1). Cette évolution peut être divisée en 2 grandes étapes : le déterminisme primaire qui sera la mise en place de la gonade indifférenciée puis son évolution vers un testicule ou vers un ovaire, et le déterminisme secondaire qui sera la mise en place des organes génitaux internes et externes.

Déterminisme primaire

A 4 semaines de développement in utero, le mésoderme intermédiaire va se différencier en un bourgeon gonadique et la crête génitale (Fig. 2). Cette crête va évoluer à 6 semaines vers une gonade indifférenciée caractérisée par un épithélium cœlomique sur la face

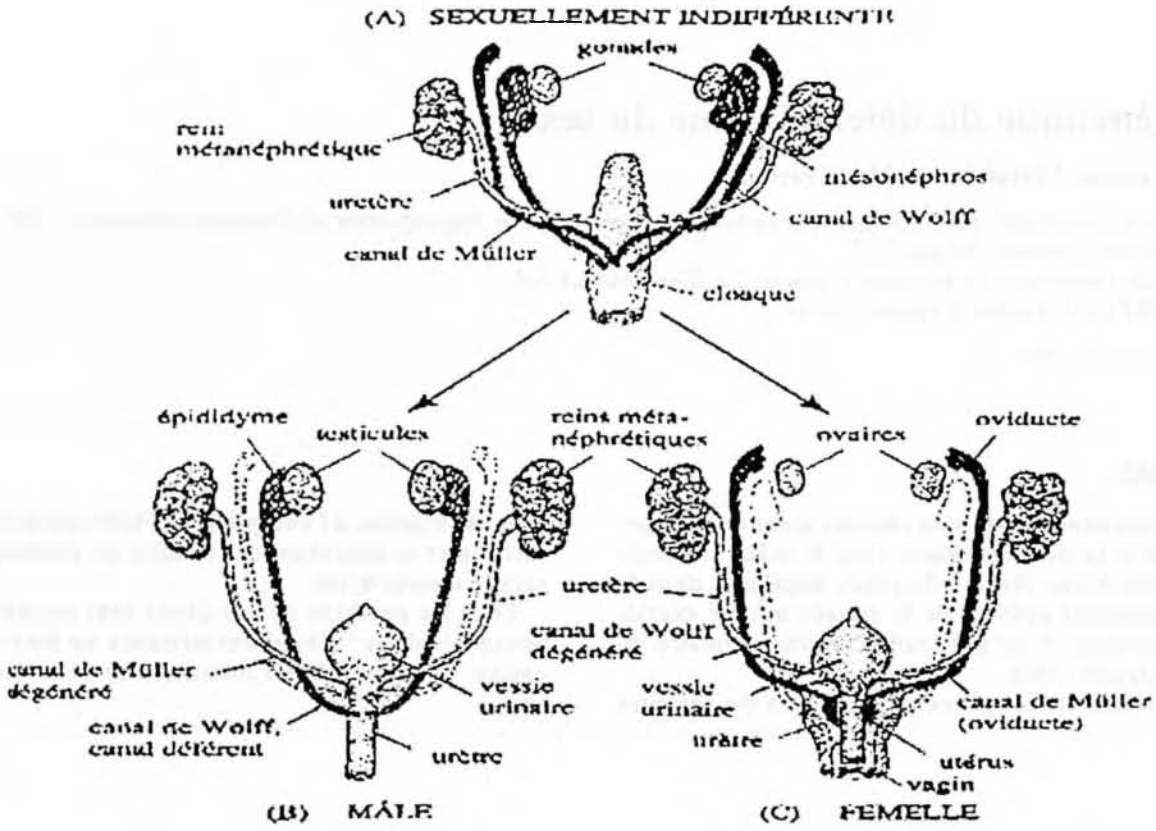


FIG. 1
D'après Biologie du Développement de Gilbert, 4e édition américaine traduite par Renée Tencer et Elyane Baltus.

externe et des cordons sexuels primitifs (Fig. 3). Puis, dès la 7e semaine, sous l'influence de la présence du chromosome Y, le fœtus mâle va permettre à cette gonade indifférenciée d'évoluer en testicule. Les cordons sexuels primitifs vont évoluer vers des cordons testiculaires qui vont fusionner dans leur partie antérieure avec les canaux de Wolff. L'épithélium quant à lui va donner l'albuginée (Fig. 4 et 5). Pour le fœtus femelle, l'absence de chromosome Y va laisser la gonade dans l'état indifférencié durant une semaine de plus puis celle-ci va spontanément ou non évoluer vers un ovaire. Il y aura dégénérescence des cordons testiculaires ainsi que des canaux de Wolff et apparition de follicules qui vont être ensuite colonisés par des oogonies (Fig. 6 et 7).

Déterminisme secondaire (Fig. 8)

Le testicule une fois formé, est constitué de 3 types de cellules : les cellules de Leydig, les cellules de Sertoli, les cellules germinales.

Les cellules de Leydig et de Sertoli vont participer à la mise en place du phénotype masculin. Les cellules de Sertoli vont sécréter de l'hormone anti-mullérienne (AMH) qui va faire involuer le canal de Müller. Les cellules de Leydig quant à elles vont sécréter la testostérone qui va permettre aux canaux de Wolff de se différencier en épididymes et canaux déférents. Cette testostérone va également rentrer dans une voie enzymatique pour donner de la dihydrotestostérone qui va faire évoluer le tubercule urogénital vers la formation d'un pénis.

L'ovaire quant à lui possède également 3 types de cellules, les cellules de la théque, les cellules de la granulosa, les cellules germinales.

Les cellules de la théque et de la granulosa vont sécréter des œstrogènes qui vont permettre au canal de Müller de se différencier en utérus et vagin supérieur, et au tubercule génital de se différencier en vagin inférieur et clitoris. Les canaux de Wolff, en l'absence de testostérone, vont involuer.

LES GENES IMPLIQUÉS DANS LE DÉTERMINISME DU SEXE

Il est facile d'imaginer que toutes les étapes sont régulées par la fonction de différents gènes. Nous n'évoquerons dans cette revue que le déterminisme primaire, et plus principalement celui du testicule, puisque, à l'heure

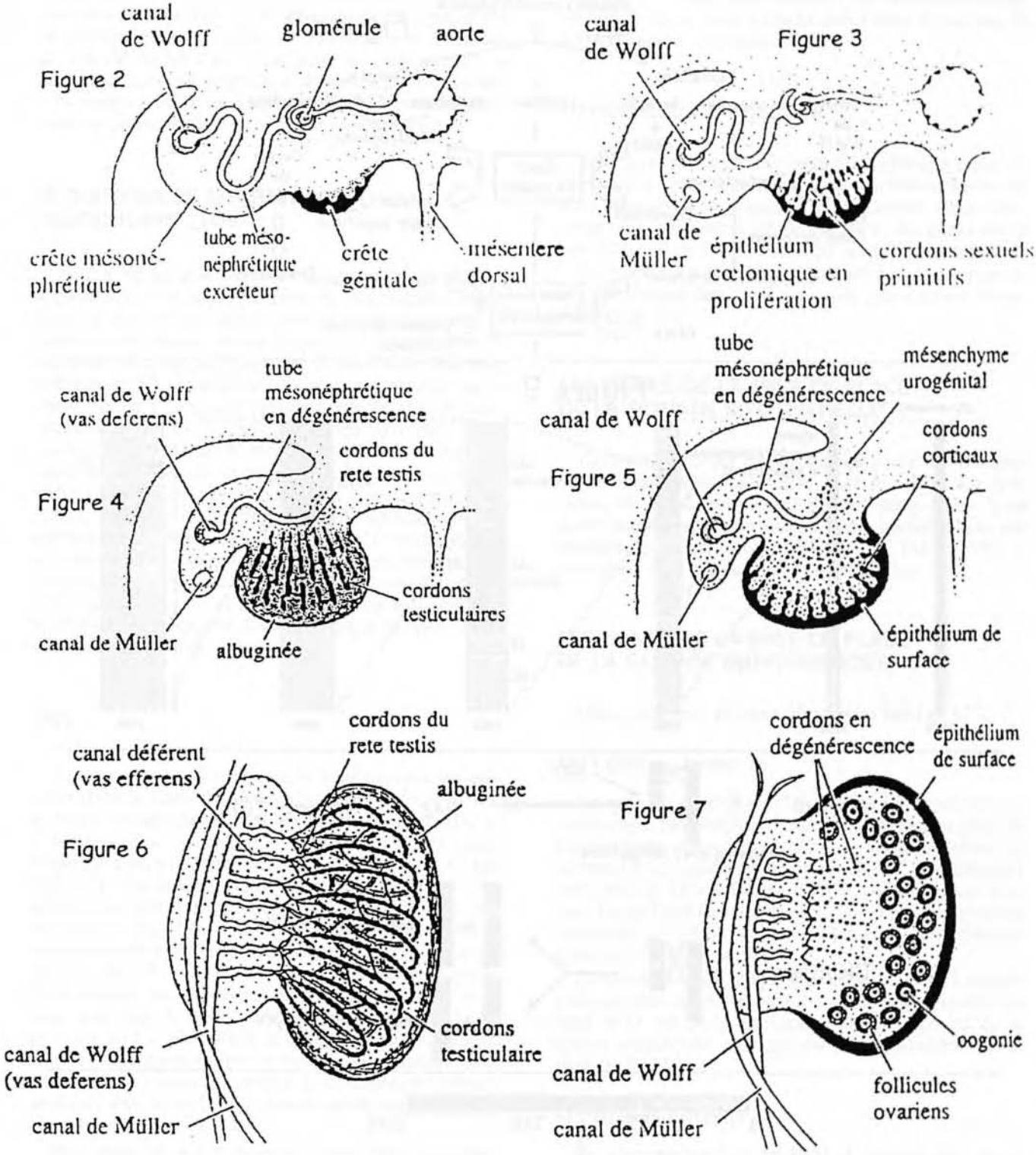
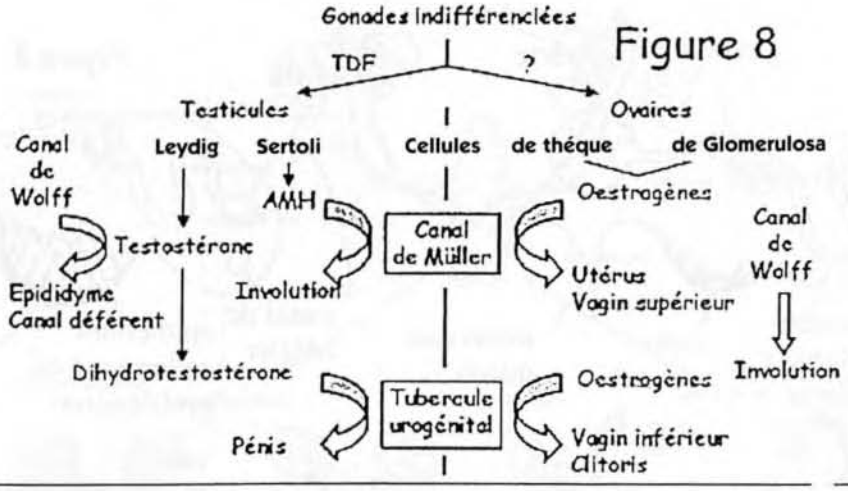


FIG. 2 à 7
D'après Biologie du Développement de Gilbert.


Gonades indifférenciées
TDF
?
Figure 8
Testicules
Ovaires
Canal de Wolff
Leydig
Sertoli
Cellules de théque de Glomerulosa
AMH
Oestrogènes
Canal de Müller
Canal de Wolff
Testostérone
Epididyme
Canal déférent
Involution
Utérus
Vagin supérieur
Dihydrotestostérone
Oestrogènes
Involution
Tubercule urogénital
Pénis
Vagin inférieur
Clitoris

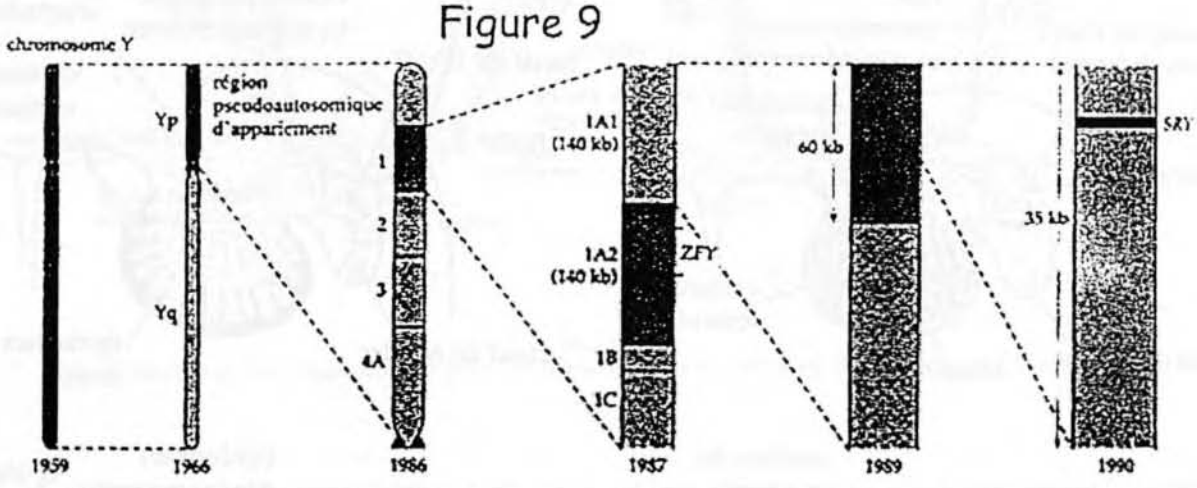
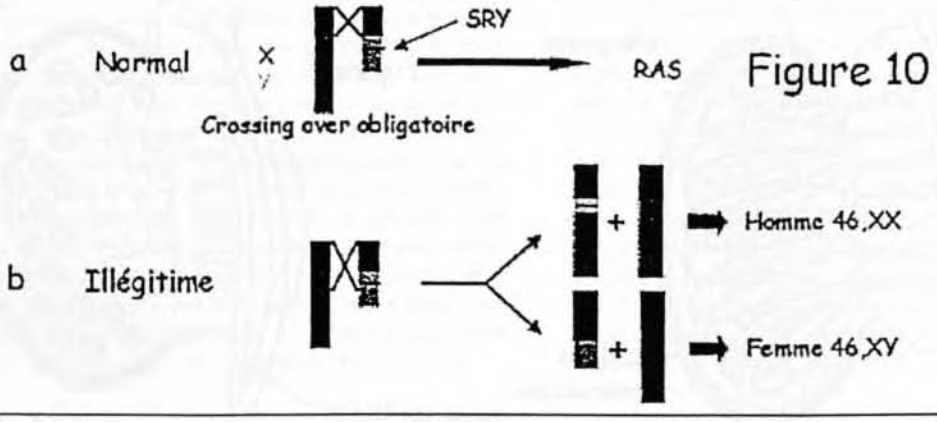


Figure 9
chromosome Y
région pseudoautosomique d'appariement
Yp
Yq
1
2
3
4A
1A1 (140 kb)
1A2 (140 kb)
1B
1C
ZFY
60 kb
35 kb
SRY
1959
1966
1986
1987
1989
1990


a Normal
X
Y
SRY
RAS
Figure 10
Crossing over obligatoire
b Illégitime
+
Homme 46,XX
+
Femme 46,XY

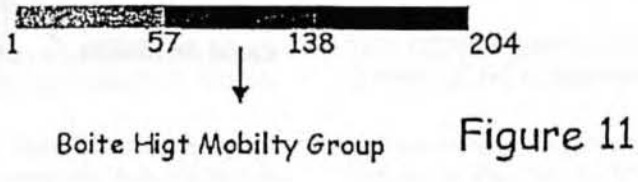

1
57
138
204
Boite Higt Mobilty Group
Figure 11

FIG. 8 à 11

actuelle, aucun gène de déterminisme ovarien n'est connu. A l'inverse, la cascade testiculaire est de mieux en mieux connue bien qu'il subsiste encore aujourd'hui de grandes zones d'ombre. Néanmoins tous les gènes qui ont été décrits l'ont été à partir de l'observation de cas présentant une pathologie du déterminisme sexuel, c'est-à-dire lorsque les 3 composantes, génétique, gonadique et phénotypique ne sont pas concordantes.

LE FACTEUR DE DIFFÉRENCIATION TESTICULAIRE (TDF)

TDF a été localisé sur le chromosome Y en 1959. Il apparaissait évident que le gène du déterminisme masculin ne pouvait se trouver que sur le chromosome Y, chromosome absent chez la femme. Il a fallu ensuite 31 ans pour identifier ce gène (Fig. 9) par l'observation de femmes 46,XY, et repérer une séquence délétée sur le chromosome Y, séquence ensuite retrouvée chez les individus mâles 46,XX. Ce gène est le gène SRY (Sex determining/Region of the Y chromosome) et il est localisé juste en dessous de la région pseudoautosomique 1 (PAR1). PAR1, localisée en Ypter et Xpter permet avec PAR2, localisée en Yqter et Xqter, l'appariement des chromosomes X et Y lors de la méiose. Cette région est le siège d'un crossing over obligatoire qui, lorsqu'il est illégitime, va s'étendre aux régions non homologues des chromosomes X et Y et donc être à l'origine de femmes 46,XY et d'hommes 46,XX par passage de SRY sur le chromosome X (Fig. 10).

SRY

Ce gène est mono-exonique et il est exprimé uniquement dans le testicule embryonnaire. Il code pour une protéine composée de 204 acides aminés répartis en 3 régions dont la centrale est une boîte HMG (High Mobility Group) ayant une haute affinité avec l'ADN (Fig. 11). Des expériences de génétique comparative ont permis de montrer que la séquence HMG était très conservée dans l'évolution. La validation de SRY a ensuite été faite par la description de mutations chez des femmes 46,XY avec dysgénésie gonadique. Ces mutations sont de tous les types, non-sens sur tout le gène, faux sens dans la boîte HMG uniquement et ses insertions sur tout le gène. Enfin la transgenèse chez l'animal a permis de montrer que la simple introduction de la séquence SRY chez une souris de constitution chromosomique femelle suffisait à donner un phénotype masculin normal type mâle XX.

Des gènes cibles ont été par la suite identifiés. Parmi eux on retrouve AMH dont l'expression est dépendante de SRY mais de façon indirecte. On sait également aujourd'hui que la présence de SRY induit la croissance des gonades XY, l'organisation des cellules de Sertoli et l'apparition de vaisseaux sanguins dans le testicule.

Néanmoins SRY, absent ou non, ne permet d'expliquer que 20 % des femmes 46,XY et 80 % des hommes 46,XX. Il existe donc d'autres gènes dans la cascade de différenciation testiculaire.

HYPOTHÈSE DE CASCADE

Pour pouvoir expliquer tous les différents types de phénotypes rencontrés, une cascade du déterminisme du sexe masculin a été proposée. Cette cascade ferait intervenir SRY, un gène Z inhibé par SRY, des gènes mâles spécifiques dont l'action seraient inhibée par celle de Z.

La plupart des phénotypes associés à une réversion du sexe pourraient être ainsi expliqués grâce à cette hypothèse (Fig. 12).

LES GENES DE LA MISE EN PLACE DE LA GONADE BIPOTENTIELLE

Certains gènes ont été identifiés à partir des modèles de recombinaison homologue chez la souris. La déficience de certains provoque l'absence des gonades. Il est intéressant de noter que tous les gènes identifiés sont des facteurs de transcription : SF1, EMX2, LIM1, WT1 et polycomb 33. La liste n'est pas exhaustive.

LES GENES DE LA MISE EN PLACE DE LA GONADE INDIFFÉRENCIÉE

Deux gènes ont été bien identifiés : WT1 et SF1.

WT1 (Wilms Tumor 1)

Ce gène est localisé en 11p13. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies connues qui s'associent pour les garçons à des phénotypes masculins variables, allant du normal à la complète reversion sexuelle. Ces syndromes sont celui de Denys Drash, WAGR (Wilms tumor Aniridia Genital and Renal abnormalities), Frasier et bien sûr la tumeur de Wilms. Tous sont associés à une délétion hétérozygote du gène WT1.

La recombinaison homologue murine de WT1 aboutit à une absence de différenciation gonadique et rénale. Le gène WT1 est donc impliqué le développement de la sphère urogénitale. Son activité agit également sur le gène de l'AMH.

SF1 (steroid factor 1)

Ce gène est localisé en 9p21. L'invalidation de ce gène chez la souris aboutit à une absence de différenciation surrénale et gonadique. Ce gène code pour une protéine faisant partie de la famille des récepteurs nucléaires. Celle-ci aurait un rôle clé dans les fonctions stéroïdogéniques dans le cortex surrénalien et de la

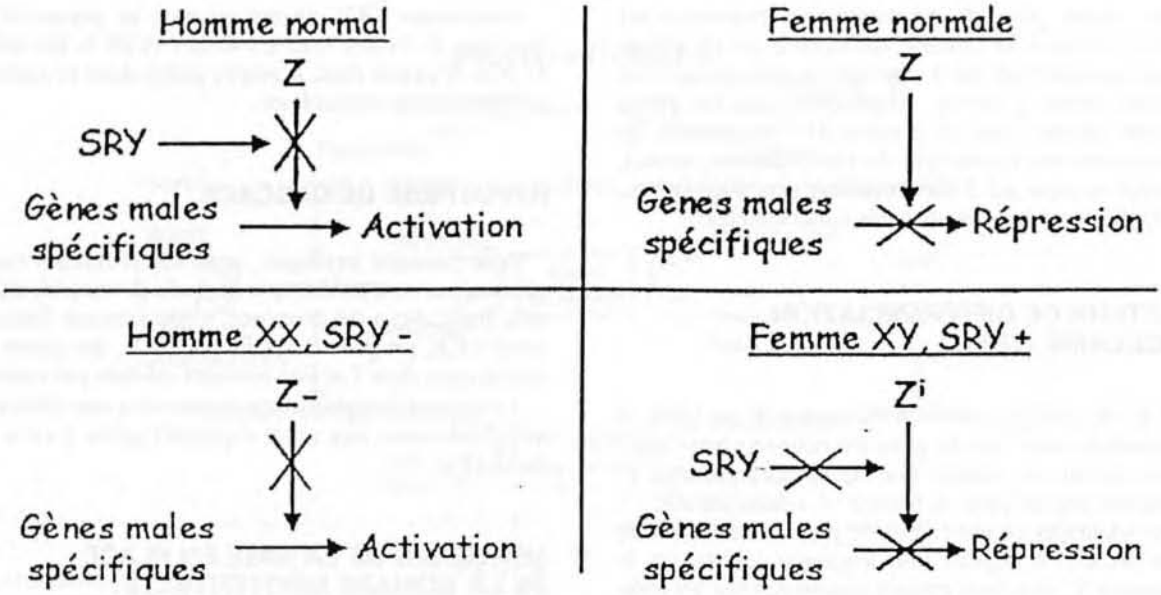


Figure 12

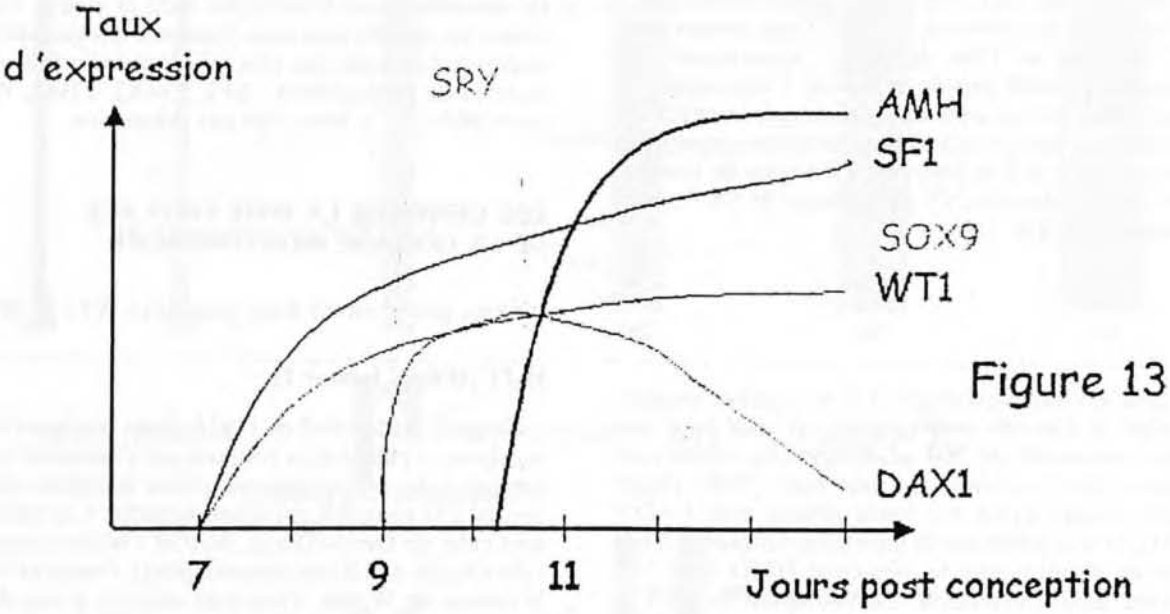


Figure 13

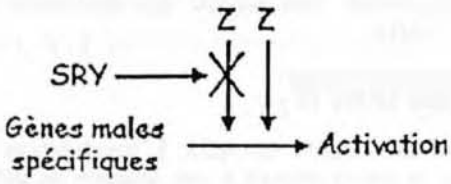


Figure 14

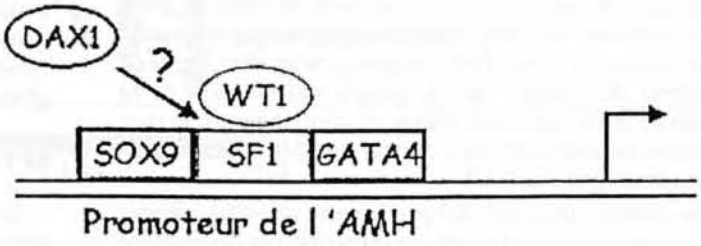


Figure 15

FIG. 12 à 15

gonade. Elle est exprimée de façon précoce dans le mésoderme intermédiaire sur les crêtes urogénitales. Au niveau de la gonade indifférenciée elle agit pour l'orienter dans l'axe médio-latéral.

LES GÈNES DU DÉTERMINISME PRIMAIRE

Aujourd'hui la cascade commence à être un peu mieux comprise et s'avère conforme aux hypothèses formulées, comportant l'activité d'un gène Z et des gènes mâles spécifiques. Ces gènes sont SOX9, DAX1, SF1, WT1. En fait, ils agissent tous ensemble pour réguler un gène, celui de l'AMH.

Chez la souris, l'évolution de l'expression de ces gènes a pu être étudiée (Fig. 13).

DAX1 (DSS (Dosage Sex Sensitive)-AHC (Adrenal Congenital Hypoplasia) critical region on human X chromosome gene 1)

Ce gène est localisé en Xp21. Les anomalies de DAX1 sont de 2 types :

– une mutation qui engendre une hypoplasie congénitale des surrénales mais avec des ovaires normaux chez la petite fille ;

– une duplication qui provoque une réversion du sexe mâle-femelle.

L'effet de la duplication qui engendre une réversion sexuelle signifie que SRY, chez les hommes, va contrer l'action de DAX1, autrement dit que DAX1 est probablement le gène Z (Fig. 14). Dans le cas de duplication chez les individus 46,XY, SRY ne peut pas contrôler la double dose de DAX1.

SOX9 (Sry bOX 9)

Comme son nom l'indique, le gène SOX9 fait partie de la même famille que SRY. Il est localisé en 17q24.3-q25.1.

Les anomalies liées à ce gène sont de deux types :

– délétion : c'est le syndrome de la dysplasie campomélique caractérisé par une dysplasie osseuse et une réversion sexuelle dans le sens mâle-femelle.

– duplication : réversion sexuelle dans le sens femelle-mâle.

La localisation de la protéine SOX9 est différente dans les testicules et le cartilage osseux, respectivement cytoplasmique et nucléaire. Aucune interprétation n'a pu encore être donnée quant à cette différence d'expression même si l'expression nucléaire fait penser à un gène régulateur.

Au niveau du testicule, SOX9 agit directement sur le gène de l'AMH. La délétion du site de SOX9 sur le promoteur du gène de l'AMH entraîne une absence d'expression du gène. SOX9 est donc le principal régulateur de l'AMH.

L'homologie de séquences des domaines HMG de SOX9 et SRY est très grande. Comme SOX9 est le principal régulateur de l'AMH qui code pour une protéine essentielle à la différenciation testiculaire, une hypothèse a été émise selon laquelle SOX9 ne serait ni plus ni moins que l'ancêtre de SRY, et que, au départ, il initiait la différenciation testiculaire. Mais au cours de l'évolution le chromosome Y s'est spécialisé pour le déterminisme, la différenciation et le maintien du sexe masculin. Puis le chromosome Y s'est enrichi de tous les gènes de la spermatogénèse comme DAZ ou les facteurs AZFa, AZFb et AZFc.

Le gène de l'AMH

C'est le gène clef de la différenciation testiculaire. Son expression est contrôlée par de nombreux gènes dont SOX9 (Fig. 15). Il est localisé en 19p13.

L'action de l'AMH se situe à différents niveaux. Tout d'abord cette hormone permet, chez les individus mâles, la régression des canaux de Müller. Elle a également un rôle dans la régulation de la prolifération des cellules de Leydig, et par conséquent sur la sécrétion de la testostérone. Enfin, chez la souris, on a observé une disparition de la sécrétion d'AMH quand la cellule de Sertoli devient mature.

On retrouve différentes pathologies associées au gène de l'AMH. La mutation du gène de l'AMH ou de son récepteur a pour conséquence la persistance des canaux de Müller, et l'absence de descente des testicules qui restent haut placés.

On a observé qu'une diminution de la teneur en AMH avait pour conséquence une augmentation de celle de la testostérone, et que ceci aboutit à une puberté précoce chez le garçon. A l'inverse l'augmentation de l'AMH entraîne une diminution de la testostérone et donc un retard pubertaire chez l'adolescent.

Autres gènes

Différentes localisations sont associées à une réversion sexuelle. Récemment, en 9p24.3, a été isolé la famille des gènes DMRT (DM-domaine related transcrit facteur 1). Cette famille présente une homologie avec le gène Double Sex de la drosophile et le gène Mab3 de Caenorhabditis elegans. Ces 2 gènes sont impliqués dans la différenciation testiculaire. Cette famille comporte 3 gènes, tous localisés en 9p24.3, mais seul DMRT1 semble être le gène impliqué dans la différenciation testiculaire puisqu'il est le seul à s'exprimer dans le testicule. Il est important de noter qu'aucune mutation n'a été décrite chez des femmes à caryotype 46,XY.

LES GÈNES DU DÉTERMINISME SECONDAIRE

Une fois tous les éléments en place, c'est à dire le testicule constitué de cellules de Leydig et de Sertoli, le déterminisme secondaire commence. Ce déterminisme se résume en fait au rôle de la testostérone qui va imprégner tout l'organisme.

La testostérone permet une masculinisation des organes génitaux internes et externes. Dès la 10e semaine post-conception elle va augmenter aussi la distance ano-pelvienne. Enfin à la fin de la 12e semaine l'organogénèse pénienne est terminée.

La pathologie liée à la testostérone porte sur toutes les étapes de la cascade de modification de la testostérone par des enzymes, ainsi qu'aux mutations du récepteur de la testostérone ou de ses dérivés. Suivant l'enzyme qui est touchée, la féminisation du fœtus sera plus ou moins importante en fonction des voies parallèles qui peuvent s'activer. Le cas le plus connu est celui du testicule féminisant avec formation d'un bloc au niveau de la 5α réductase.

CONCLUSION

La cascade du déterminisme du sexe masculin est de mieux en mieux connue (Fig. 16). Néanmoins nous n'arrivons pas encore à expliquer toutes les pathologies de réversion que l'on rencontre. Différents gènes sont donc encore à découvrir, bien que la connaissance de ces mécanismes ait beaucoup progressé ces dernières années. Ceci n'est pas du tout le cas pour le déterminisme du sexe féminin pour lequel, aucun gène n'a été identifié. Il semble de plus en plus probable que de tels gènes existent, et que l'absence de SRY n'est pas seule responsable de la féminisation du fœtus. Certes SRY est essentiel puisque son absence provoque une réversion mais il existe alors probablement des gènes autosomiques qui prennent le relais (Fig. 16).

BIBLIOGRAPHIE

Bishop C. E, Whitworth D. J., Qin Y. *et al.* A transgenic inserion upstream of Sox9 is associated with dominant XX sex reversal in the mouse. *Nat. Genet*, 2000, *26*, 490-494.

Cotinot C., Pailhoux E., Ottolenghi C., Veitia R. & Fellous M. Le déterminisme du sexe : son contrôle génétique. chapitre 11 de « La reproduction chez les mammifères et l'homme », coordonnateurs : Thibault C. & Levasseur M.-C. Editions INRA Ellipses, 215-234.

Hammes A., Guo J. K., Lutsch G., Leheste J. R., Landrock D., Ziegler U., Gubler M. C. & Schedl A. Two splice variants of the Wilms' tumor 1 gene have distinct functions during sex determination and nephron formation. *Cell*, 2001, *106*, 319-329.

Koopman P., Gubbay J., Vivian N. *et al.* Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature*, 1991, *351*, 117-121.

Koopman P., Munsterberger A., Capel B. *et al.* Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differenciation. *Nature*, 1990, *348*, 450-452.

Pelletier J., Bruening W., Li F. P. *et al.* WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumor. *Nature*, 1991, *353*, 431-434.

Salas-Cortes L., Jaubert F., Barbaux S., Nessmann C., Bono M. R.,

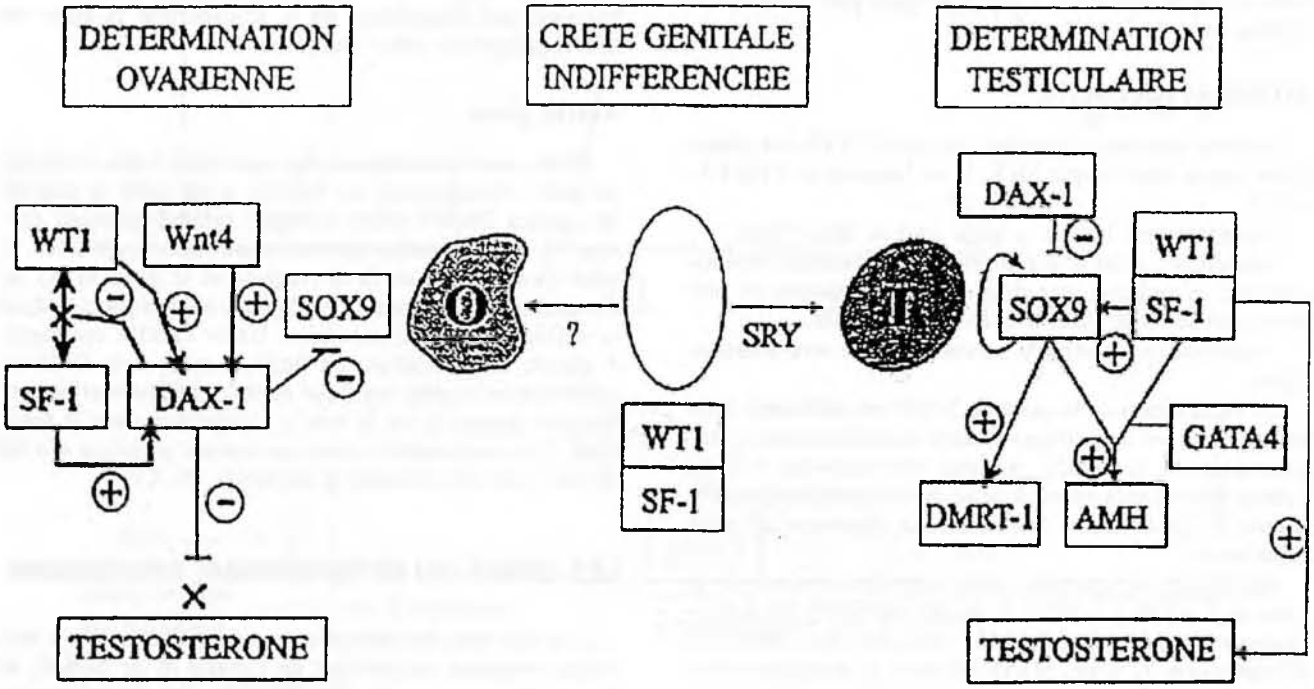


FIG. 16

Fellous M., McElreavey K. and Rosemblatt M. The human SRY protein is present in fetal and adult Sertoli cells and germ cells. *Int. J. Dev. Biol.*, 1999, *43*, 135-140.

Schmahl J., Eicher E. M., Washburn L. L. & Capel B. Sry induces cell proliferation in the mouse gonad. *Development*, 2000, *127*, 65-73.

Sinclair A. H., Berta P., Palmer M. S. *et al.* A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, 1990, *346*, 240-244.

Swain A., Narvaez V., Burgoyne P. *et al.* Dax1 antagonizes Sry action in mammalian sex determination. *Nature*, 1998, *391*, 761-767.

Swain A., Zanaria E., Hacker A. *et al.* Mouse Dax1 expression is consistent with a role in sex determination as well as in adrenal and hypothalamus function. *Nat. Genet.*, 1996, *12*, 404-409.

Vaiman D., Koutita O., Oustry A. *et al.* Genetic mapping of the autosomal region involved in XX sex-reversal and horn development in goats. *Mamm. Genome*, 1996, *7*, 133-137.

Séance du 19 septembre 2001