

> L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) se caractérise par un arrêt de la fonction ovarienne normale avant l'âge de 40 ans. Elle touche environ 1 % des femmes avec souvent une transmission familiale évoquant une contribution génétique. NR5A1 est un récepteur nucléaire régulant la transcription de nombreux gènes impliqués dans le développement sexuel et la reproduction. Plusieurs mutations dans le gène correspondant ont été associées à des anomalies du développement des surrénales ou des testicules. Nous avons identifié des mutations dans NR5A1 associées à une IOP incluant des cas 46,XX et 46,XY dans une même famille. Ce gène joue donc un rôle important dans le développement et le fonctionnement de l'ovaire. Cependant, plusieurs questions importantes demeurent. Quelle est la prévalence des mutations dans NR5A1 chez des patientes présentant diverses formes d'insuffisance ovarienne ? Quelles sont les corrélations entre génotype et phénotype ? Y a-t-il une perte progressive de la fonction ovarienne chez les individus porteurs de mutations dans NR5A1 ? La réponse à ces questions permettra une meilleure compréhension du fonctionnement ovarien conduisant à l'élaboration de nouveaux outils diagnostiques et thérapeutiques. <

NR5A1 et insuffisance ovarienne primaire

**Anu Bashamboo, Celia Ravel,
 Raja Brauner, Ken McElreavey**



A. Bashamboo, C. Ravel,
 K. McElreavey :
 Human Developmental Genetics,
 Institut Pasteur,
 25-28, rue du Docteur Roux,
 75724 Paris Cedex 15, France.
 R. Brauner : Université
 Paris Descartes et AP-HP,
 Hôpital Bicêtre,
 94270 Le Kremlin Bicêtre, France.
kemce@pasteur.fr
bashamboo@hotmail.co.uk

et que plusieurs gènes modulateurs sont impliqués [3, 4]. Chez des femmes qui présentent au moins une parente du premier degré atteinte de ménopause précoce et qui en sont elles-mêmes atteintes, les observations cliniques suggèrent que certains gènes, peut-être les mêmes gènes, sont également impliqués dans les infertilités précoces. De fait, les IOP se caractérisent à la fois par une transmission héréditaire familiale et par une composante ethnique suggérant le rôle de facteurs génétiques dans certains cas. L'incidence des IOP familiales idiopathiques est de l'ordre de 4 % à 31 % [5-7]. Cette variabilité reflète non seulement l'hétérogénéité génétique mais également le large spectre des pathologies que recouvre cette appellation, ainsi que l'absence de critères clairement établis pour en établir le diagnostic. La prévalence de l'IOP chez les femmes de moins de 40 ans est estimée à environ 0,1 % à 1,4 % et varie considérablement avec l'origine ethnique (1 % des Caucasiennes, 1,4 % des Afro-Américaines, 1,4 % des Hispaniques, 0,5 % des Chinoises et 0,1 % des Japonaises) évoquant des facteurs génétiques protecteurs ou de prédisposition [8].

Données cliniques et épidémiologiques

L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) est une pathologie caractérisée par une absence ou un arrêt de la fonction ovarienne normale avant l'âge de 40 ans [1, 2]. Elle peut se manifester par une absence de développement pubertaire, une aménorrhée primaire ou secondaire ou par une ménopause précoce [2]. L'âge auquel la ménopause normale survient est très variable, allant de 40 jusqu'à plus de 60 ans. Plusieurs études ont montré que l'âge de survenue d'une ménopause précoce a une forte composante génétique (dans 85 % des cas)

Altérations génétiques associées à une ménopause précoce

Plusieurs altérations génétiques sont associées aux ménopauses précoces, parmi lesquelles la monosomie X et l'expansion de triplets CGG dans la région 5' du gène *FMR1* (*fragile X mental retardation 1*) de la zone normale

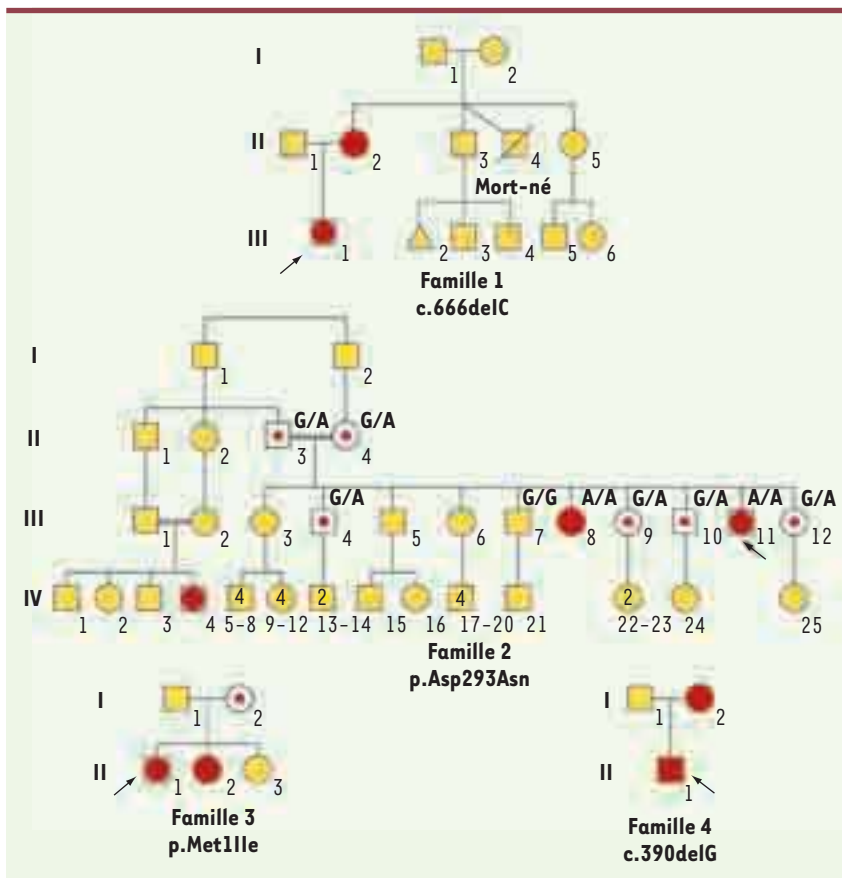


Figure 1. Arbre généalogique des quatre familles de patients 46,XY DSD (disorder of sex development) et 46,XX avec insuffisance ovarienne. Les carrés représentent les individus de phénotype masculin et les cercles les individus de phénotype féminin. Les carrés rouges représentent les individus atteints 46,XY déclarés garçons. Les carrés contenant des disques rouges représentent les individus atteints 46,XY déclarés filles. Les cercles et les carrés contenant un point rouge représentent les porteurs de mutations apparemment sains. Les triangles représentent les fausses couches. Les chiffres à l'intérieur des symboles indiquent les grossesses multiples. Le cas index est signalé par une flèche dans chacune des familles. Génotypage de la famille 2 : les génotypes des parents ont été déduits tandis que tous les autres ont été déterminés par analyse moléculaire.

à la zone « pré-mutée » [9]. Cette zone comprend 55 à 200 trinucléotides et son allongement est corrélé de façon proportionnelle à la survenue d'une insuffisance ovarienne. D'autres régions du chromosome X peuvent également être associées à une insuffisance ovarienne. Il s'agit des locus POF-1 (*premature ovarian failure 1*), POF-2 et POF-3, dont on sait qu'ils contiennent plusieurs candidats, sans qu'un gène précis n'ait été identifié [10, 11].

Les mutations dans des gènes entraînant une insuffisance ovarienne sont également souvent responsables d'autres anomalies somatiques. C'est le cas des mutations autosomiques récessives dans les gènes *APECED*, *EIF2B* et *GALT* [12, 13] (voir glossaire). Les IOP sont également associées au syndrome blépharophimosis-ptosis-épicanthus inversus¹ (BPES) lié à des mutations dans le gène *FOXL2* [12, 13]. Dans les formes non syndromiques de ménopause précoce, des mutations rares inactivatrices récessives des récepteurs de la FSH (*follicle stimulating hormone*) et de la LH (*luteinising hormone*) ont été décrites [12, 13]. Des mutations dans le facteur de transcription à homéoboîte spécifique du tissu ovarien (NOBOX) sont également une cause rare d'IOP [14]. Récemment, certaines études ont suggéré que des mutations dans *BMP15*, facteur ovocytaire dont le gène est situé sur le chromosome X, entraînaient des insuffisances

ovariennes non syndromiques, mais ces données sont controversées [12, 13].

Mutations de NR5A1, anomalies du développement testiculaire et insuffisance ovarienne

Le récepteur nucléaire NR5A1 (aussi appelé facteur stéroïdogénique 1 - SF1 ou Ad4BP [*adrenal 4 binding protein*]) est un régulateur majeur de la transcription de gènes impliqués dans le contrôle de la stéroïdogénèse via l'axe hypothalamo-hypophysaire [15]. La protéine NR5A1 humaine comporte 461 acides aminés et présente une homologie de structure avec d'autres membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. Elle comporte ainsi un domaine amino-terminal en « doigt de zinc » permettant une liaison à l'ADN, une région « charnière » et un domaine de liaison au ligand [15]. Les souriceaux déficients en NR5A1 ne développent ni gonades, ni surrénales et présentent une altération de l'expression des gonadotrophines hypophysaires ainsi que des anomalies structurales du noyau ventral de l'hypothalamus [16]. NR5A1 est exprimé dans le cortex surrénalien fœtal et adulte mais également dans le testicule par les cellules de Sertoli et de Leydig [15, 16]. En concordance avec

¹ Les anomalies oculaires incluent : blépharophimosis (réduction de l'ouverture des paupières dans toutes leurs dimensions), ptosis, télécanthus (augmentation de la distance entre les canthi internes), et épicanthus inversus (petit pli de peau partant du bord interne de la paupière inférieure et allant rejoindre la paupière supérieure en recouvrant partiellement le canthus interne) (source : orphanet).

GLOSSAIRE

AMH : anti-mullerian hormone

APECED : autoimmune polyendocrinopathy - candidiasis - ectodermal dystrophy*

BMP15 : bone morphogenetic protein 15

CYP11A1 (P450_{sc}) : cytochrome P450, family 11, subfamily A, polypeptide 1 ou cytochrome P450 cholesterol side-chain cleaving enzyme

CYP17A1 : cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1 ou steroid 17-hydroxylase/17,20-lyase

CYP19A1 : cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 ou aromatase

DMRT1 : doublesex and mab-3 related transcription factor 1

DSD : disorders of sex development

EIF2B : eukaryotic initiation factor 2B

FMR1 : fragile X mental retardation 1

FOXL2 : forkhead box L2

FSH : follicle stimulating hormone

GALT : galactose-1-phosphate uridylyltransferase

INH1A1 : inhibin A1

LH : luteinising hormone

NR5A1 : nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1

POF-1 : premature ovarian failure 1

SRY : sex-determining region of Y chromosome

StAR : steroidogenic acute regulatory protein

WT1 : Wilms tumor 1

* Cliniquement, l'APECED comprend différentes affections auto-immunes affectant principalement les organes endocriniens comme les glandes parathyroïdes, la glande thyroïde, le cortex des glandes surrénales, le pancréas et les gonades. Les patients développent alors des anticorps contre les organes atteints, dont les glandes s'atrophient peu à peu au cours de l'évolution de la maladie. Les mutations de la protéine AIRE causent le syndrome APECED.

ce profil d'expression, NR5A1 régule la transcription de gènes majeurs impliqués dans la différenciation sexuelle et la reproduction, incluant en particulier StAR, CYP17A1, CYP11A1 (P450_{sc}), AMH, CYP19A1 (aromatase) et INHA1 [15, 17] (voir glossaire). NR5A1 est également exprimé dans plusieurs types cellulaires, dans l'ovaire fœtal, postnatal, pré-pubertaire et mature [15, 16, 18]. L'inactivation spécifique dans les cellules de la granulosa de Nr5a1 chez la souris entraîne une infertilité associée à une hypertrophie ovarienne [18]. Les ovaires Nr5a1^{-/-} ont des follicules mais sans corps jaune, ce qui indique une ovulation perturbée [18]. Ces données permettent d'établir le rôle clé de Nr5a1 dans le développement et la fonction de l'ovaire chez la souris.

Mutations de NR5A1 chez l'homme

Chez l'homme, 18 mutations du gène NR5A1 ont été rapportées [15]. Sur la base du phénotype des souris Nr5a1^{-/-}, les premières recherches se sont focalisées sur les patients 46,XY présentant une insuffisance surrénalienne et une dysgénésie gonadique, et ont permis d'identifier trois mutations [19-21]. Des analyses ultérieures ont révélé la présence de mutations hétérozygotes délétères dans 15 cas [15]. Tous ces patients présentaient des anomalies du développement testiculaire (DSD : disorder of sex development) de degrés variables, sans signe d'insuffisance surrénalienne avec un caryotype 46,XY. Ces données

indiquent donc que les mutations dans le gène NR5A1 sont associées à des anomalies du développement testiculaire 46,XY avec une prévalence d'environ 15%. La plupart des patients porteurs d'une mutation dans le gène NR5A1 présentent des signes d'hypoandrogénie plutôt que des signes de dysgénésie testiculaire suggérant que les mutations altèrent la voie de la synthèse d'androgènes plutôt que le déterminisme testiculaire.

Mutations de NR5A1 et insuffisance ovarienne

Si la plupart des mutations surviennent *de novo*, environ un tiers d'entre elles est hérité d'une mère phénotypiquement normale, suggérant que seuls les individus 46,XY porteurs de la mutation sont atteints [15]. Puisque les données chez la souris indiquent un rôle primordial de NR5A1 dans le développement ovarien, nous avons recherché si des mutations dans NR5A1 pouvaient contribuer à la survenue d'une insuffisance ovarienne. Pour cela, nous avons analysé le gène NR5A1 dans quatre familles dans lesquelles certains individus 46,XY présentaient un DSD et d'autres, 46,XX, présentaient une insuffisance ovarienne (Figure 1) [22]. Les différents gènes intervenant dans le développement testiculaire tels SRY, DMRT1 et WT1 (voir glossaire) avaient au préalable été séquencés à la recherche de mutations chez les individus 46,XY atteints mais aucune mutation n'avait été décelée. En revanche, le séquençage de NR5A1 a révélé différentes mutations dans chacune des familles (Figure 2). Les familles 1 et 4 présentaient des mutations hétérozygotes de type « frameshift », c'est-à-dire des mutations qui génèrent la présence d'un codon de terminaison prématurée (*premature termination codon* = PTC) aboutissant à la synthèse d'une protéine tronquée. Les deux mutations, c666delC et c.390delG, entraînent un PTC au niveau du 295^e acide aminé, reconnu par des complexes de surveillance et dégradé.

Dans la famille 3, les individus atteints, qu'ils soient XY ou XX, portent la même mutation hétérozygote c.3G>A que leur mère apparemment indemne [22]. Cette mutation abolit une séquence consensus Kozak pour l'initiation de la traduction, pouvant entraîner une abolition ou un défaut de traduction. L'absence de phénotype chez la mère porteuse de la même mutation que ses enfants atteints suggère une pénétrance incomplète. Celle-ci pourrait résulter d'un effet de dosage de l'allèle muté, conséquence d'un défaut de traduction de degré variable et/ou de l'existence de gènes modificateurs et/ou d'effets environnementaux.

Dans la famille 2, le mode de transmission du phénotype est récessif. Les individus atteints sont porteurs d'une mutation homozygote p.Asp293Asn dans le domaine de

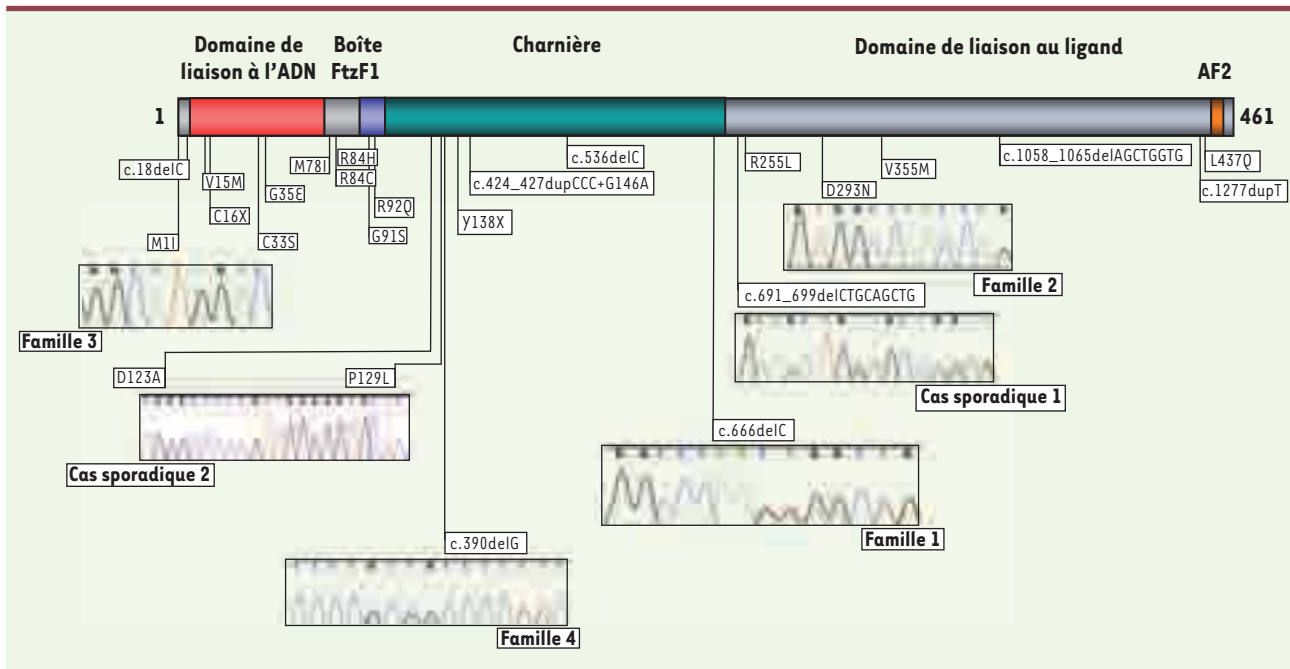


Figure 2. Distribution des mutations de NR5A1 au sein de la protéine. Une représentation schématique des domaines fonctionnels de la protéine NR5A1 montre la position des mutations déjà connues, ainsi que les six récemment décrites. Les chromatogrammes de chacune de ces mutations sont représentés. Le domaine de liaison à l'ADN contenant les deux motifs en « doigt de zinc » est indiqué. La boîte FtzF1 stabilise la liaison de la protéine à l'ADN. La région charnière est importante pour la stabilité du domaine de liaison au ligand et interagit avec d'autres protéines qui contrôlent l'activité transcriptionnelle de NR5A1. Le domaine AF2 recrute les cofacteurs nécessaires à l'activité de transactivation de NR5A1.

liaison au ligand de NR5A1 [22]. Les enfants non atteints qui ont pu être génotypés étaient soit hétérozygotes pour la mutation, soit porteurs de l'allèle sauvage. Le mode de transmission récessif peut être expliqué par une activité résiduelle de la protéine NR5A1 p.Asp293Asn. En effet, avec l'utilisation d'un gène rapporteur, nous avons démontré une différence d'activité de la protéine mutée comparée à celle de la protéine normale. Pour cela, nous avons utilisé les promoteurs des gènes *CYP11a1* (cytochrome P-450) et *CYP19a1* (aromatase). L'activité de la protéine NR5A1 p.Asp293Asn est réduite de 50 %, tandis que celle des autres protéines mutantes est nulle [22]. Un taux d'activité minimum de 50 % de NR5A1 semble donc nécessaire à l'expression du phénotype gonadique. L'analyse de ces familles a établi que des mutations dans NR5A1 pourraient contribuer à la survenue d'une insuffisance ovarienne. Nous avons étendu l'analyse à vingt cinq patientes présentant une IOP idiopathique [22]. Nous avons ainsi trouvé chez une patiente une délétion de trois acides aminés (p.231Leu_Leu233) dans le domaine de liaison au ligand (LBD) de NR5A1 [22]. Ces trois acides aminés sont fortement conservés dans les récepteurs nucléaires et présentent un chevauchement avec la première hélice (hélice 1) du LBD. Cette hélice contient un domaine de fonction d'activation (AFH1) qui est essentiel pour une fonction optimale du récepteur par son interaction avec des co-activateurs. La protéine NR5A1 mutée ne peut plus transactiver les promoteurs de *CYP11a1* et *CYP19a1*, ce qui confirme le rôle fonctionnel important de cette hélice. Chez une deuxième patiente, porteuse d'une double mutation, les analyses fonctionnelles ont indiqué qu'un de ces changements,

p.Pro129Leu, est très certainement pathologique puisqu'il altère sévèrement l'activité transcriptionnelle [22]. Que ce soit dans les cellules de la thèque ou de la granulosa, NR5A1 régule des gènes nécessaires à la stéroïdogénèse ovarienne, à la croissance et à la maturation folliculaire, notamment *StAR*, l'*ocytocine*, *CYP11A1*, *CYP19A1*, le récepteur de la *LH* et l'*INH1A1* [15]. Une dysrégulation de l'un de ces facteurs pourrait entraîner une insuffisance ovarienne et nous avons clairement montré une altération quantitative de transactivation de deux des facteurs (*CYP11a1* et *CYP19a1*) cibles de NR5A1 s'il existe des formes mutées de NR5A1, détectées chez des patientes porteuses d'anomalies du développement et de la fonction des ovaires.

Conclusion

Ces études démontrent que les mutations dans le gène NR5A1 peuvent causer une insuffisance ovarienne chez la femme. Cependant, plusieurs questions importantes demeurent. Quelle est la prévalence des mutations de NR5A1 chez des patientes présentant diverses formes d'insuffisance ovarienne ? Quelles sont les corrélations entre génotype et phénotype ? Y a-t-il une perte progressive de la fonction ovarienne chez les individus

porteurs de mutations de *NR5A1* ? Pour répondre à ces questions, des études de cohortes plus importantes, incluant des études longitudinales, sont requises. À court terme, l'identification des patients présentant les mutations *NR5A1* permet de préciser le rôle de ce facteur dans le développement de pathologies endocriniennes et d'offrir un outil diagnostique. À plus long terme, la connaissance et la compréhension des mécanismes d'activation relayés par la liaison de *NR5A1* à son ligand *in vivo*, et le spectre d'action des agonistes et des antagonistes potentiels de *NR5A1* récemment décrits pourraient permettre de moduler la fonction de ce récepteur dans certaines pathologies secondaires à des mutations du gène *NR5A1*. ♦

SUMMARY

NR5A1 and ovarian failure

Primary ovarian insufficiency (POI) is characterised by the arrest of normal ovarian function before the age of 40 years and affects 1 % of all women. POI shows familial inheritance suggesting a genetic contribution. *NR5A1* is nuclear receptor that regulates the transcription of many genes involved in sexual developmental and reproduction. 18 *NR5A1* mutations have been published associated with either anomalies of adrenal or testis development. We have identified *NR5A1* mutations associated with POI, including familial cases with affected 46,XY individuals. This demonstrates that *NR5A1* plays an important role in ovarian development and function. However several questions remain. What is the incidence of *NR5A1* mutations in POI? Is there a genotype/phenotype relationship? Are mutations associated with a progressive loss of reproductive function? Answering these questions will lead to a better understanding of ovarian function and dysfunction and could lead to new therapies for treating POI. ♦

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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


RÉFÉRENCES

1. Albright F, Smith PH, Fraser R. A syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature: report of 11 cases with a digression on hormonal control of axillary and pubic hair. *Am J Med Sci* 1942 ; 204 : 625-48.
2. Welt CK. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008 ; 68 : 499-509.
3. De Bruin JP, Bovenhuis H, van Noord PA, et al. The role of genetic factors in age at natural menopause. *Hum Reprod* 2001 ; 16 : 2014-8.
4. Kok HS, van Asselt KM, van der Schouw YT, et al. Genetic studies to identify genes underlying menopausal age. *Hum Reprod Update* 2005 ; 11 : 483-93.

5. Van Kasteren YM, Hundscheid RD, Smits AP, et al. Familial idiopathic premature ovarian failure: an overrated and underestimated genetic disease? *Hum Reprod* 1999 ; 14 : 2455-9.
6. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, et al. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. *Hum Reprod* 2003 ; 18 : 199-206.
7. Torgerson DJ, Thomas RE, Reid DM. Mothers and daughters menopausal ages: is there a link? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997 ; 74 : 63-6.
8. Cramer DW, Xu H, Harlow BL. Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril* 1995 ; 64 : 740-5.
9. Sherman SL. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 2000 ; 97 : 189-94.
10. Lacombe A, Lee H, Zahed L, et al. Disruption of POF1B binding to nonmuscle actin filaments is associated with premature ovarian failure. *Am J Hum Genet* 2006 ; 79 : 113-9.
11. Davison RM, Fox M, Conway GS. Mapping of the POF1 locus and identification of putative genes for premature ovarian failure. *Mol Hum Reprod* 2000 ; 6 : 314-8.
12. Laissus P, Vinci G, Veitia RA, et al. Recent advances in the study of genes involved in non-syndromic premature ovarian failure. *Mol Cell Endocrinol* 2008 ; 282 : 101-11.
13. Simpson JL. Genetic and phenotypic heterogeneity in ovarian failure: overview of selected candidate genes. *Ann NY Acad Sci* 2008 ; 1135 : 146-54.
14. Qin Y, Choi Y, Zhao H, et al. NOBOX homeobox mutation causes premature ovarian failure. *Am J Hum Genet* 2007 ; 81 : 576-81.
15. Lin L, Achermann JC. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development. *Sex Dev* 2008 ; 2 : 200-9.
16. Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. *Cell* 1994 ; 77 : 481-90.
17. Mendelson CR, Kamat A. Mechanisms in the regulation of aromatase in developing ovary and placenta. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007 ; 106 : 62-70.
18. Jayasuria P, Ikeda Y, Jamin SP, et al. Cell-specific knockout of steroidogenic factor 1 reveals its essential roles in gonadal function. *Mol Endocrinol* 2004 ; 18 : 1610-9.
19. Achermann JC, Ito M, Ito M, et al. A mutation in the gene encoding steroidogenic factor-1 causes XY sex reversal and adrenal failure in humans. *Nat Genet* 1999 ; 22 : 125-6.
20. Biason-Laubert A, Schoenle EJ. Apparently normal ovarian differentiation in a prepubertal girl with transcriptionally inactive steroidogenic factor 1 (NR5A1/SF-1) and adrenocortical insufficiency. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67 : 1563-8.
21. Achermann JC, Ozisik G, Ito M, et al. Gonadal determination and adrenal development are regulated by the orphan nuclear receptor steroidogenic factor-1, in a dose-dependent manner. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87 : 1829-33.
22. Lourenço D, Brauner R, Lin L et al. Mutations in NR5A1 associated with ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009 ; 360 : 1200-10.

TIRÉS À PART

K. McElreavey




Tarifs d'abonnement M/S - 2009

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

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

Bulletin d'abonnement page 878 dans ce numéro de m/s



Poster



1 SALON / **CONGRÈS**
LA BIOLOGIE AU SERVICE
DU PROGRÈS MÉDICAL

JIB
JOURNÉES
INTERNATIONALES
DE BIOLOGIE

3^e-4-5-6 NOV. 2009 • CNIT Paris la Défense

Congrès international

www.jib-scbio.fr



LE MAROC À L'HONNEUR

Reed Expositions

