

> Nos connaissances de la différenciation du sexe chez les mammifères ont considérablement évolué depuis les deux dernières décennies et la découverte du déterminant testiculaire. Les processus morphogénétiques impliqués dans la différenciation des gonades mâles et femelles et les principaux gènes majeurs sous-jacents sont présentés dans cet article. Un accent particulier est mis sur les différences existantes entre le modèle murin de référence et les autres mammifères, notamment l'homme et la chèvre. <

Le sexe chez nos « anciens »

Depuis l'antiquité, les hommes s'interrogent sur les mécanismes impliqués dans le développement d'un enfant mâle ou femelle. La question généralement posée est la suivante : qui détient la supériorité ? La terre qui reçoit la semence ou la semence qui fertilise la terre ? Anaxagore¹ et d'autres naturalistes disent que le sperme vient du mâle et que la femelle ne fournit que le lieu. Si le sperme provient du testicule droit, il produira des garçons, s'il provient du testicule gauche, des filles. Pour d'autres, comme Empédocle², la différenciation se fait dans la matrice. D'après lui, les germes qui pénètrent dans un utérus chaud deviennent mâles, et femelles dans un utérus froid. Ces différences de température sont attribuées au flux menstruel, suivant qu'il est plus froid ou plus chaud, plus ancien ou plus récent. Aristote, un siècle plus tard, ajoutera de la métaphysique aux théories de l'histoire naturelle dont il est le fondateur. C'est selon lui le mâle qui a la part essentielle dans la génération ; il est porteur du principe divin et transmet l'Humanité. La femelle dénuée de

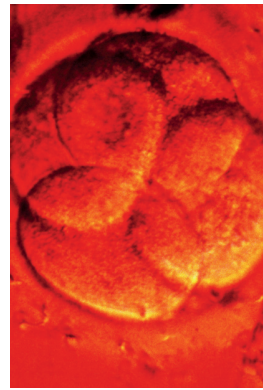
¹ Anaxagore : philosophe grec de l'école ionienne (500-428 av. J.-C.). À Athènes, il ouvrit la première école de philosophie où Périclès, Euripide et même, dit-on, Socrate suivirent ses leçons. Il est l'auteur d'importantes découvertes scientifiques, sur les éclipses et sur l'anatomie en particulier.

² Empédocle : philosophe grec (vers 490 av. J.-C.). Il fut à la fois législateur, poète, médecin, prophète, purificateur et thaumaturge. Il est célèbre pour sa théorie des quatre éléments (l'eau, l'air, la terre, le feu), adoptée jusqu'à l'époque de la chimie moderne. L'Amour est le principe de leur réunion, la Haine celui de leur séparation.

La différenciation du sexe

Acquis et perspectives

Maëlle Pannetier, Éric Pailhoux



Inra, UMR1198-Biologie du développement et de la reproduction, Bâtiment J. Poly, 78350 Jouy-en-Josas, France. eric.pailhoux@jouy.inra.fr

semence n'apporte à la génération qu'une matière brute. Par ailleurs, le principe de matière introduit la corruption et la mort dans l'univers et il est cause, aussi, de monstruosité. La monstruosité s'applique au cas où l'engendré n'est pas de même espèce que le « générateur »³ [1]. Une simple dissemblance peut constituer une monstruosité : c'est ainsi que la femelle engendrée au lieu d'un mâle est un monstre. « *Le tout premier écart du type génétique est la naissance d'une femelle au lieu d'un mâle* » (Aristote) [2]. La femelle est un mâle mutilé, le résultat d'une défaillance du principe mâle. Aristote a beau affirmer que ce monstre qu'est la femelle est nécessaire pour sauvegarder la différence de sexes, la femme n'en est pas moins présentée comme un échec de l'humanité [1].

De nombreux siècles se sont écoulés avant que les données génétiques mettent en évidence l'existence de chromosomes sexuels X et Y chez les mammifères, ainsi que le caractère déterminant du chromosome Y dans la différenciation testiculaire [3, 4]. Le déterminisme du sexe a lieu dès la fécondation lors de la mise en commun du patrimoine génétique des gamètes mâle et femelle déterminant le sexe génétique de l'embryon. Cette détermination sexuelle va permettre l'engagement vers une voie de différenciation testiculaire (XY) ou ovarienne (XX). En fonction du sexe gonadique, le sexe phénotypique se met alors en place. Ce sont essentiellement les hormones testiculaires qui sont à l'origine du choix de la différenciation du sexe externe : la testostérone et l'AMH (*anti-müllerian hormone*). Il est à noter qu'en l'absence de gonade, une différenciation génitale externe de type femelle est observée, que l'individu soit XX ou XY. Ce simple constat a ainsi conduit Alfred Jost à considérer le sexe femelle comme un sexe par défaut [5]. Comme les gonades sont issues d'une ébauche

³ Aristote considère l'homme comme un générateur dans le sens « qui est à l'origine de la génération » et la femme comme une matrice (sorte de four où se développent les bébés).

gonadique « bipotentielle », Alfred Jost en a déduit que la présence du testicule était nécessaire au développement du morphotype masculin. La détermination du sexe phénotypique est donc équivalente à celle du testicule.

Face à ce machisme millénaire, ce n'est que très récemment que plusieurs équipes de recherche ont mis en évidence des processus actifs de différenciation de la gonade femelle qui se protège par ailleurs des facteurs mâles en inhibant leur expression tout au long du développement jusqu'à l'âge adulte [6, 7]. L'ovaire a donc, depuis peu, cessé d'être un testicule par défaut, recouvrant enfin ses lettres de noblesse, et il suscite depuis un intérêt grandissant dans le domaine de recherche consacré à la compréhension des acteurs de la détermination et de la différenciation du sexe. Plusieurs modèles d'études ont servi cette réhabilitation : la souris, l'homme, mais aussi certaines espèces d'animaux domestiques comme la chèvre. Ces analyses ont par ailleurs pointé des différences manifestes entre le modèle de référence qu'est la souris et les espèces humaine ou caprine notamment lors des processus morphogénétiques de différenciation ovarienne et en matière de sensibilité au dosage génique.

Processus morphogénétiques de la différenciation gonadique

Chez les mammifères, les premiers stades de la vie fœtale sont caractérisés par la différenciation d'ébauches gonadiques à partir des mésonéphros (reins embryonnaires transitoires). Les cellules germinales primordiales d'origine extra-embryonnaire vont ensuite rapidement coloniser le territoire gonadique, appelé crête génitale. Plusieurs gènes ont été identifiés comme jouant un rôle crucial dans la formation des crêtes génitales, dont en particulier *WT1* (*Wilms' tumor gene 1*) [8] et *SF1* (*steroidogenic factor 1*) [9]. Ces gènes interviennent dans la prolifération, la différenciation et la survie des cellules somatiques de la gonade [10]. Leur invalidation chez la souris conduit à une agénésie gonadique.

Au début de leur formation, les gonades sont dites « bipotentielles » car elles ont la capacité de suivre une voie de différenciation mâle ou femelle, en fonction des facteurs exprimés. On considère schématiquement que les gonades indifférenciées sont composées de deux lignées cellulaires somatiques différentes en plus de la lignée germinale. Chaque lignée somatique présente une double potentialité, et ce sont les gènes impliqués dans la détermination du sexe qui vont orienter ces lignées cellulaires vers une voie de différenciation donnée (Figure 1). On distingue ainsi : (1) la lignée des cellules de soutien, qui est à l'origine des cellules de Sertoli chez le mâle et des cellules folliculaires (granulosa) chez la femelle. Ces cellules sont dites de soutien car elles vont permettre la croissance et la maturation des cellules germinales ; (2) la lignée des cellules stéroïdogènes, qui évoluera en cellules de Leydig chez le mâle et en cellules des thèques chez la femelle [11].

Différenciation testiculaire

De nombreux travaux essentiellement réalisés chez la souris ont permis de mettre en évidence les événements morphogénétiques impliqués dans la formation d'un ovaire ou d'un testicule. Chez cette espèce, la

gonade mâle est la première à présenter un processus de différenciation et à exhiber morphologiquement son orientation sexuelle. Deux événements majeurs sont en effet observés : la formation des cordons testiculaires (futurs tubes séminifères) et l'apparition d'une vascularisation typique du testicule (développement de l'artère testiculaire à la surface de la gonade).

La première étape de la différenciation testiculaire consiste en la spécification des précurseurs des cellules de Sertoli (pré-Sertoli), qui se fait sous l'effet de l'expression du gène *SRY* (*sex-determining region on the Y chromosome*) porté par le chromosome Y. En partenariat avec SF1, SRY active l'expression de *SOX9* (*SRY-related HMG-box gene 9*) induisant la différenciation des cellules de Sertoli [12]. Celles-ci agissent ensuite comme un maître d'œuvre orchestrant la différenciation des autres types cellulaires du testicule : cellules de Leydig, cellules myoïdes péritubulaires, cellules germinales et cellules endothéliales, grâce aux facteurs paracrines qu'elles sécrètent (Figure 2A). En particulier, les cellules de Sertoli sont responsables de la migration de cellules endothéliales depuis le mésonéphros vers la gonade XY. Ces cellules endothéliales vont s'associer juste en dessous de l'épithélium cœlomique pour former le vaisseau cœlomique (future artère testiculaire) et le réseau d'artérioles [13, 14] (Figure 2B).

La formation de cordons sexuels commence *via* les cellules de Sertoli qui entourent des faisceaux de cellules germinales, contrôlant leur prolifération et inhibant leur entrée en méiose. Les interactions cellulaires avec les cellules endothéliales migrant depuis le mésonéphros induisent ensuite la fragmentation des cordons testiculaires. La formation des cordons sera ensuite consolidée par la différenciation des cellules myoïdes péritubulaires qui entourent les cordons testiculaires (Figure 2B). L'équivalent femelle des cellules péritubulaires reste à l'heure actuelle inconnu. Entre les cordons, la région interstitielle contient notamment les cellules de Leydig qui produisent des androgènes essentiels à la masculinisation du tractus génital.

Différenciation ovarienne

Chez la souris, alors que la gonade mâle montre un début de morphogenèse rapide en réponse à l'expression du gène *Sry*, la gonade femelle garde un aspect morphologique peu différencié malgré l'initiation de l'expression de gènes spécifiques de l'ovaire comme *Foxl2* (*forkhead transcription factor FOXL2*), *Rspo1* (*R-spondin gene 1*) et *Wnt4* (*Wingless-type MMTV integration site family, member 4*). Dans l'ovaire murin, le premier événement caractéristique de la voie femelle est l'entrée en méiose des cellules germinales qui vont

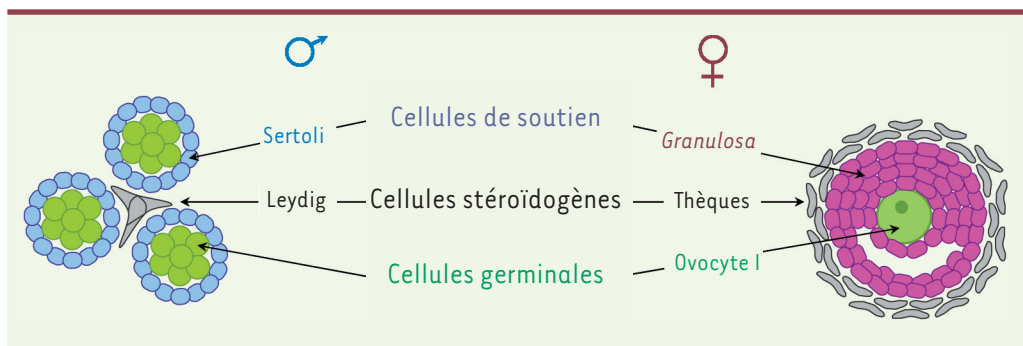


Figure 1. Origine commune des cellules composant le testicule et l'ovaire. Trois principaux types cellulaires peuvent être distingués dans les gonades en cours de différenciation : les cellules de soutien, les cellules stéroïdogènes et les cellules germinales. Les cel-

lules de soutien mâles et femelles ont donc une origine commune et donnent naissance respectivement aux cellules de Sertoli et aux cellules de la granulosa. Les cellules stéroïdogènes donneront naissance dans le testicule aux cellules de Leydig et aux cellules de la thèque dans l'ovaire.

rapidement être bloquées au stade de prophase de première division méiotique (ovocytes I).

Au contraire, chez d'autres espèces de mammifères, dont l'espèce humaine, l'ovaire présente dès sa différenciation des événements morphogénétiques importants. En effet, le délai entre la première expression des marqueurs femelles et l'entrée en méiose des cellules germinales est assez long (entre 15 et 20 jours chez la femme ou la chèvre) et on assiste au cours de cette période à des processus de prolifération et de migration cellulaires intensifs. L'ovaire s'organise en deux compartiments : le cortex et la médulla. Les cellules germinales prolifèrent et migrent à la périphérie de l'ovaire, alors que les cellules somatiques sont principalement regroupées dans le cœur de la gonade [15]. Chez la chèvre il existe par ailleurs une production d'hormones stéroïdes au sein de l'ovaire précoce (Figure 3). En effet, de nombreuses cellules présentes dans la médulla produisent des œstrogènes dont l'action, relayée par les récepteurs ER α et ER β (estrogen receptor α et β), peut s'exercer à la fois sur les cellules germinales et les cellules somatiques [16]. Chez l'homme, une activité stéroïdogène a été observée dans l'ovaire précoce sans que toutefois une synthèse d'œstrogènes ait été clairement établie [17].

Le processus d'initiation de la méiose se fait de façon asynchrone dans la gonade femelle et s'étend sur une période de plusieurs semaines chez la femme ou la chèvre. Les ovocytes I sont regroupés en cohortes, entourés par des cellules somatiques, formant les nids ou cordons ovigères. Lors de la fragmentation de ces cordons, un ovocyte va se trouver entouré par une couronne de cellules somatiques, les cellules de la granulosa, formant ainsi un follicule primordial. Ces follicules représentent les unités fonctionnelles de l'ovaire et constituent le stock dont disposera la femelle pour toute sa vie reproductive. La folliculogénèse a lieu au cours du dernier tiers de la gestation chez la femme ou la chèvre et parfois même après la naissance comme chez la souris (Figure 3).

Entre l'homme et la souris, des différences existent...

Bien qu'un grand nombre d'acteurs de la différenciation gonadique aient été découverts chez l'homme grâce aux études génétiques de patients présentant des désordres de la différenciation sexuelle (DSD : *disorders*

of sex development), la grande majorité des connaissances mécanistiques ont été acquises dans le modèle murin par l'étude de différents mutants pour les gènes impliqués. L'inactivation génique, qu'elle soit globale (*knock-out*), conditionnelle (ciblée dans un organe ou un type cellulaire précis) ou inducible (ciblée dans le temps), s'avère être un outil très puissant et incontournable pour déterminer la fonction d'un gène donné, les voies moléculaires par lesquelles il agit et ses interactions avec les autres acteurs impliqués. Cependant, l'inactivation génique n'étant principalement réalisée que chez la souris (grâce à la disponibilité de lignées de cellules ES, *embryonic stem cells*), les connaissances acquises s'appliquent au modèle murin mais des divergences peuvent exister avec d'autres modèles mammaliens, espèce humaine comprise. Ainsi, d'une manière très générale, il apparaît que le modèle murin est, comparativement à l'espèce humaine, considérablement plus robuste d'un point de vue « dosage génique ». Par ailleurs, compte-tenu de son temps de génération très court, de la taille importante des portées et par conséquent de son évolution (en termes d'accumulation de mutations) nettement plus rapide (x 100 par rapport à l'homme en ne considérant que le temps de génération), l'espèce murine semble avoir « simplifié » les cascades génétiques requises pour la gonadogénèse.

Dans ce paragraphe, nous illustrerons par quelques exemples les différences de robustesse de dosage génique existant entre l'homme et la souris. Dans le paragraphe suivant, le modèle caprin sera présenté pour illustrer la notion de « simplification » des cascades génétiques murines.

Divergences dans le dosage génique entre l'homme et la souris

Les différences de dosage génique entre l'homme et la souris sont parfaitement illustrées par les différences

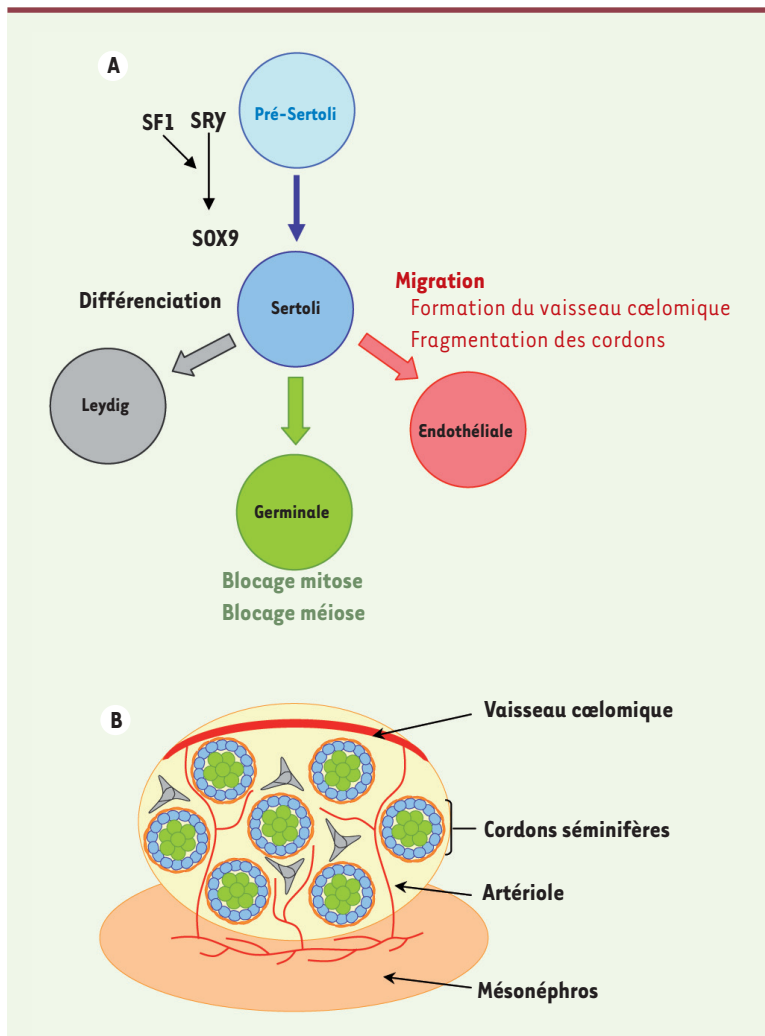


Figure 2. Différenciation du testicule. **A.** La cellule de Sertoli, chef d'orchestre de la différenciation testiculaire. La différenciation de la gonade mâle est déclenchée par l'expression du gène *SRY* dans les précurseurs des cellules de Sertoli. En partenariat avec *SF1*, *SRY* active alors l'expression de *SOX9* qui est responsable de l'activation d'une cascade génique permettant la différenciation des cellules de Sertoli. Grâce aux facteurs diffusibles qu'elles sécrètent et aux interactions cellulaires qu'elles établissent, les cellules de Sertoli vont orienter la différenciation des autres types cellulaires du testicule. **B.** Les différents compartiments du testicule. Les cellules du testicule en cours de différenciation s'organisent en deux compartiments fonctionnels : les cordons séminifères et l'espace interstitiel à l'extérieur des cordons. Les tubes séminifères sont entourés par les cellules myoïdes péritubulaires (en orange). Au sein des tubes séminifères, les cellules de Sertoli (en bleu) entourent les cellules germinales (en vert). Le compartiment interstitiel contient les cellules de Leydig (en gris) et des cellules endothéliales formant un réseau d'artérioles depuis le mésonéphros sous-jacent vers la surface de la gonade où il forme l'artère testiculaire (en rouge).

de phénotypes observées entre ces deux espèces principalement pour les mutations perte de fonction de différents gènes comme par exemple *WT1*, *SOX9* et *DMRT1* (*doublesex and Mab3 related transcription factor 1*). Dans tous les cas, des mutations hétérozygotes de ces gènes sont responsables d'agénésies testiculaires chez l'homme, alors que leur haplo-insuffisance chez la souris n'a pas d'effet.

Les gènes *WT1* et *SOX9* ont été découverts chez l'homme et leur haplo-insuffisance est responsable dans cette espèce d'inversion sexuelle de type femme XY associée à des tumeurs rénales (tumeurs de Wilms) pour *WT1* et à des malformations osseuses (dysplasie campomélique) pour *SOX9* [18-21]. L'inactivation de ces gènes chez la souris n'a d'effet qu'à l'état homozygote : en l'absence de *Wt1* les animaux présentent une absence de rein, de surrénales et de gonades dans les deux sexes, et en l'absence de *Sox9* une létalité embryonnaire en milieu de gestation [8, 22]. Dans les deux cas, des stratégies d'inactivation conditionnelle (*Sox9*) ou de certaines isoformes (*Wt1*) ont du être développées afin d'appréhender le rôle de ces gènes dans la gonadogenèse [23, 24].

Un autre exemple est celui du gène *DMRT1* impliqué dans un phénotype d'inversion sexuelle de type femme XY chez des patients

présentant des délétions du bras court du chromosome 9 [25, 26]. L'inactivation de ce gène chez la souris n'entraîne aucun effet chez les animaux hétérozygotes pour la mutation et la différenciation testiculaire précoce n'apparaît pas perturbée à l'état homozygote. Néanmoins, chez les mâles *Dmrt1*^{-/-}, un phénotype testiculaire apparaît à partir du dixième jour après la naissance et se traduit par un blocage de la spermatogenèse [27]. Par ailleurs, les haplo-insuffisances du chromosome 9, associées à une inversion sexuelle de type femme XY chez l'homme, affectent potentiellement deux autres gènes, *DMRT2* et 3, en plus de *DMRT1* [28]. La complexité des mutations chez l'homme (grandes délétions) et l'absence d'inversion du sexe chez la souris ont probablement contribué à sous-estimer la fonction de ce facteur *DMRT1* chez les mammifères ; facteur par ailleurs sélectionné trois fois de manière indépendante comme déterminant testiculaire chez le poisson médaka (système XX/XY), le xénope et le poulet (systèmes ZZ/ZW) [29].

Un dernier exemple illustrant parfaitement la robustesse du système murin porte cette fois sur des mutations gain de fonction du gène *Dax1* (*DSS-AHC critical region on the X chromosome, gene 1*), nommé

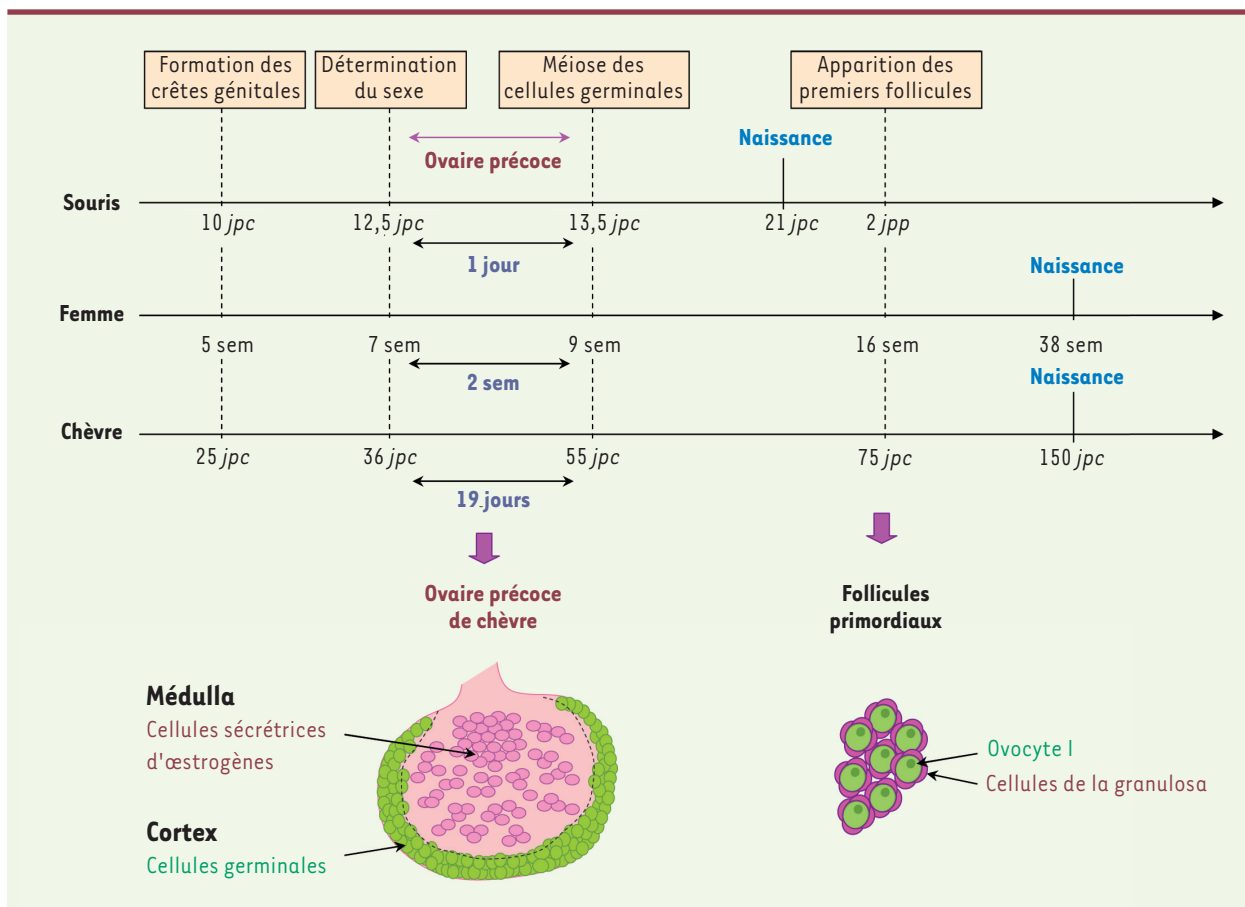


Figure 3. Principales étapes de la différenciation de l'ovaire. La chronologie des grandes étapes de la différenciation ovarienne chez la souris, la femme et la chèvre est indiquée en semaines ou en jours *post-coïtum* (jpc). L'étape de différenciation précoce de l'ovaire, avant l'initiation de la méiose des cellules germinales, diverge fortement entre ces trois espèces. Chez la souris, cette période se résume à une journée au cours de laquelle aucun processus morphogénétique particulier ne peut être observé ; on parle chez cette espèce de blastème indifférencié. Chez la femme ou chez la chèvre, des vagues de proliférations et de migrations, notamment des cellules germinales, induisent la mise en place d'une organisation de type cortex/médulla, les cellules germinales étant en périphérie de l'ovaire et les cellules somatiques majoritairement regroupées au centre. Chez la chèvre est également observée une activité stéroïdogène au cœur de l'ovaire où les cellules somatiques produisent des œstrogènes dès ce stade. Après le début de la méiose, une couronne de cellules somatiques vient entourer les ovocytes I pour former les follicules primordiaux. Ces follicules constituent l'unité fonctionnelle de l'ovaire. jpc : jour *post-coïtum* ; jpp : jour *post-partum* ; sem : semaines.

maintenant *NR0B1* (*nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1*). *DAX1* a été découvert chez l'homme car sa duplication sur le chromosome X entraîne une inversion du sexe chez des patients XY [30]. Il en découle que chez l'homme, deux doses du gène *DAX1* empêchent l'action d'une dose du gène *SRY*. Cet état génétique a été reproduit chez la souris où une inversion du sexe de type femelle XY a pu être obtenue par addition - par transgénèse - d'environ cinq doses des transcrits de *Dax1* dans un contexte où le chromosome Y vient de l'espèce *poschiavinus* (Y^{POS}) qui possède un allèle faible du gène *Sry* [31]. À l'heure actuelle, *DAX1* étant considéré comme un inhibiteur des autres membres de la famille des récepteurs nucléaires, notamment *NR5A1/SF1* (*nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1*), il est probable que deux doses de *DAX1* empêchent l'activation correcte de *SOX9* par *SF1*. Par

ailleurs, étant donné que l'inactivation de *Dax1* chez la souris entraîne également une inversion sexuelle de type femelle XY [32], on perçoit la complexité de ce facteur qui doit être présent, mais à une dose très précise, pour une différenciation testiculaire harmonieuse.

Un modèle mammalien alternatif : la chèvre

Depuis plusieurs années maintenant, notre équipe étudie la différenciation gonadique chez les mammifères de rente (caprins, porcins) car, dans ces espèces, des mutations naturelles sont responsables d'inversion sexuelle de type mâle XX. Chez la chèvre, la mutation *PIS* (*polled intersex syndrome*) engendre une absence

de pousse des cornes à l'état hétérozygote et une inversion sexuelle des sujets XX chez les homozygotes (*PIS*^{-/-}). Cette mutation est une délétion d'un fragment d'environ 12 kilobases qui conduit à des changements d'expression d'au moins trois gènes différents, le gène *FOXL2* et deux gènes codant pour de longs ARN non codants [33, 34]. À l'heure actuelle, de nombreux arguments expérimentaux montrent que seul le gène *FOXL2* est responsable des phénotypes observés et que les deux longs ARN non codants sont impliqués dans la régulation complexe de *FOXL2*. La mutation *PIS* entraîne un gain de fonction du gène *FOXL2* dans la peau céphalique. Ce gain de fonction, détectable dès l'hétérozygotie, est responsable de l'absence de pousse des cornes. Par ailleurs, la mutation *PIS* entraîne l'absence d'expression du gène *FOXL2* dans les gonades XX des individus homozygotes ; il en résulte une levée d'inhibition du gène *SOX9* et une différenciation testiculaire en l'absence du facteur déterminant *SRY*.

Chez l'homme, des mutations hétérozygotes du gène *FOXL2* sont responsables d'un phénotype palpébral (BPES : *blepharophymosis ptosis epicanthus-inversus syndrome*)⁴ qui peut être associé à une insuffisance ovarienne précoce [35]. Comme c'est le cas pour l'invalidation des gènes « mâles », l'invalidation de *Foxl2* chez la souris est sans effet à l'état hétérozygote. En revanche, l'invalidation homozygote de *Foxl2* engendre une absence de formation des paupières et des follicules ovariens [36].

La divergence des phénotypes observés chez la chèvre et la souris lors de la perte de l'expression ovarienne de *FOXL2* (inversion sexuelle versus insuffisance ovarienne) résulte selon toute vraisemblance de différences dans les processus et la durée de la différenciation de l'ovaire précoce, déjà évoquées ci-dessus. En effet, alors que l'ovaire de souris présente, au cours de cette période de 24 heures, un aspect blastémateux sans changements morphologiques notables, on observe dans l'ovaire de chèvre une organisation spatiale en deux zones, corticale et médullaire, ainsi qu'une production d'œstrogènes (Figure 3). L'ovaire précoce de souris ne produit pas d'œstrogènes et il ne s'organise en deux zones qu'après le stade de méiose des cellules germinales. Ce n'est qu'après la naissance et la formation des follicules ovariens que des œstrogènes sont sécrétées chez cette espèce. De façon intéressante, l'invalidation de *Foxl2* à l'âge adulte dans un ovaire produisant des œstrogènes induit une inversion sexuelle des cellules somatiques, qui acquièrent des caractéristiques de type cellules de Sertoli avec notamment l'expression du marqueur mâle *Sox9* [6]. Ainsi, c'est cette divergence dans la chronologie du développement et en particulier dans l'existence d'un environnement œstrogénique au sein de la gonade femelle par ailleurs régulé par *FOXL2* lui-même, qui explique la différence de phénotypes observée entre la chèvre et la souris lors d'invalidations du gène *FOXL2* [7].

Cette différence observée dans la voie femelle pourrait également produire des échos dans la voie mâle sur la manière de déclencher l'expression de *SOX9* dans les différentes espèces. En effet, il est surpre-

nant de constater que *FOXL2* et *DMRT1* ont été plusieurs fois démontrés comme étant des antagonistes directs (chez le xénope et chez le rat). De plus, leur invalidation respective chez la souris n'induit pas d'inversion sexuelle, alors que leur perte (*FOXL2*) ou leur haplo-insuffisance (*DMRT1*) engendre une inversion sexuelle chez des mammifères non murins. Ainsi, certains rôles importants de *FOXL2* dans l'ovaire et de *DMRT1* dans le testicule n'auraient pas été conservés chez la souris qui semble avoir « allégé » son programme de différenciation gonadique.

Conclusion

Nos connaissances de la différenciation sexuelle des mammifères ont énormément progressé au cours des deux dernières décennies. Dans un premier temps, suite à la découverte du gène *SRY* et à la mise en évidence de sa piètre conservation, cette voie de développement était considérée comme faiblement conservée au cours de l'évolution. À l'heure actuelle, il semble au contraire que la grande majorité des acteurs-clés impliqués soient conservés chez l'ensemble des vertébrés, voire même chez des invertébrés. En effet, en plus de *DMRT1* qui possède un orthologue dans la différenciation testiculaire chez la drosophile (*dsx*) et chez le vers *Caenorhabditis* (*Mab3*), un gène *SOX* (*Sox100B*) est impliqué dans la différenciation testiculaire chez la drosophile et un orthologue du gène *FOXL2* vient d'être décrit dans les gonades d'huitres.

Dans les années à venir, avec le développement très rapide des techniques d'études à haut débit, de nombreux autres acteurs devraient être découverts, notamment les gènes cibles des facteurs majeurs que sont *SOX9* et *FOXL2*. Les interactions géniques sous-tendant la différenciation gonadique devraient également être mieux décortiquées. La découverte de nouvelles mutations chez des patients atteints de DSD, par les techniques de séquençage de l'ensemble des exons (exomes) [37] ou la recherche de zones du génome caractérisées par une variation du nombre de copies (CNV : *copy number variation*), devrait grandement participer aux futurs progrès dans ce domaine. ♦

SUMMARY

Sex differentiation: state of the art and future prospects

Our knowledge on sex differentiation in mammals has considerably progressed during the last decennials, beginning with the discovery of the testis-determining factor. Here, the morphogenetic processes involved in the early gonadic switch will be presented, together with

⁴ Le blépharophimosis correspond à un rétrécissement de l'ouverture horizontale des paupières. Le ptosis se traduit par des paupières tombantes entraînant un rétrécissement de l'ouverture verticale des paupières. L'épicanthus inversus est un petit pli de peau partant du bord interne de la paupière inférieure et allant rejoindre la paupière supérieure en recouvrant partiellement le canthus interne.

the major genes involved in testis and ovary formation. Existing differences between the widely used mouse model and other mammals, such as human and goat, will be highlighted. ♦

CONFLIT D'INTÉRÊTS

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

NOTE AJOUTÉE AUX ÉPREUVES

Une publication très récente [38] rapportant l'inactivation spécifique de *Dmrt1* dans les cellules de Sertoli renforce la constatation d'une non-conservation de rôles importants de *Foxl2* dans l'ovaire et de *Dmrt1* dans le testicule chez la souris. Ce travail de l'équipe de David Zarkower publié en Juillet 2011 peut être considéré comme le pendant mâle de l'inactivation à l'âge adulte de *Foxl2* dans l'ovaire [6, 7]. Pour décorer le rôle spécifique de *Dmrt1* dans la cellule de Sertoli par rapport à son rôle dans la cellule germinale, les auteurs provoquent l'ablation du gène *Dmrt1* spécifiquement dans la cellule de Sertoli. Les cellules de Sertoli *Dmrt1*^{-/-} vont alors exprimer *Foxl2* et se reprogrammer en cellules somatiques de type femelle. Il faut cependant remarquer que l'expression de *Foxl2* apparaît très tardivement après la naissance (entre 14 et 28 jours), bien que l'ablation de *Dmrt1* ait lieu dès la différenciation des cellules de Sertoli. Ceci suggère que chez la souris mâle, le rôle-clé de *Dmrt1* dans la différenciation testiculaire précoce a été perdu, bien que ce rôle persiste pour maintenir l'identité testiculaire à l'âge adulte. Il en va de même pour le gène *Foxl2* dans la différenciation ovarienne chez la souris femelle [6, 7].

RÉFÉRENCES

1. Badinter E. *L'un est l'autre : des relations entre hommes et femmes*. Collection Points. Paris : Odile Jacob, 1986.
2. Aristote. *De la génération des animaux*. Livre IV. Paris : Les Belles Lettres, 1963.
3. Jacobs PA, Strong JA. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959 ; 183 : 302-3.
4. Russell LB. Genetics of mammalian sex chromosomes. *Science* 1961 ; 133 : 1795-803.
5. Jost A. Recherches sur le contrôle hormonal de l'organogenèse sexuelle du lapin et remarques sur certaines malformations de l'appareil génital humain. *Gyn Obstet* 1950 ; 49 : 44-60.
6. Uhlenhaut N, Jakob S, Anlag K, et al. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell* 2009 ; 139 : 1130-42.
7. Pannetier M, Pailhoux E. FOXL2, le gardien de l'identité ovarienne. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 470-3.
8. Kreidberg JA, Sariola H, Loring JM, et al. WT-1 is required for early kidney development. *Cell* 1993 ; 74 : 679-91.
9. 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.
10. Brennan J, Capel B. One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. *Nat Rev Genet* 2004 ; 5 : 509-21.
11. Capel B. The battle of the sexes. *Mech Dev* 2000 ; 92 : 89-103.
12. Sekido R, Lovell-Badge R. Sex determination involves synergistic action of SRY and SF1 on a specific Sox9 enhancer. *Nature* 2008 ; 453 : 930-4.
13. Brennan J, Karl J, Capel B. Divergent vascular mechanisms downstream of Sry establish the arterial system in the XY gonad. *Dev Biol* 2002 ; 244 : 418-28.
14. Combes AN, Wilhelm D, Davidson T, et al. Endothelial cell migration directs testis cord formation. *Dev Biol* 2009 ; 326 : 112-20.
15. Kerr CL, Hill CM, Blumenthal PD, Gearhart JD. Expression of pluripotent stem cell markers in the human fetal ovary. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 589-99.
16. 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.
17. George FW, Wilson JD. Conversion of androgen to estrogen by the human fetal ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1978 ; 47 : 550-5.
18. Gessler M, Poustka A, Cavenee W, et al. Homozygous deletion in Wilms tumours of a zinc-finger gene identified by chromosome jumping. *Nature* 1990 ; 343 : 774-8.
19. Pelletier J, Bruening W, Li F, et al. WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 1991 ; 353 : 431-4.
20. Foster J, Dominguez-Steglich M, Guioli S, et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature* 1994 ; 372 : 525-30.
21. Wagner T, Wirth J, Meyer J, et al. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell* 1994 ; 79 : 1111-20.
22. Chaboissier M, Kobayashi A, Vidal V, et al. Functional analysis of Sox8 and Sox9 during sex determination in the mouse. *Development* 2004 ; 131 : 1891-901.
23. Lavery R, Lardenois A, Ranc-Jianmotamedi F, et al. XY Sox9 embryonic loss-of-function mouse mutants show complete sex reversal and produce partially fertile XY oocytes. *Dev Biol* 2011 ; 354 : 111-22.
24. Hammes A, Guo JK, Lutsch G, et al. Two splice variants of the Wilms' tumor 1 gene have distinct functions during sex determination and nephron formation. *Cell* 2001 ; 106 : 319-29.
25. Raymond CS, Parker ED, Kettlewell JR, et al. A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Hum Mol Genet* 1999 ; 8 : 989-96.
26. Ottolenghi C, Veitia R, Quintana-Murci L, et al. The region on 9p associated with 46,XY sex reversal contains several transcripts expressed in the urogenital system and a novel doublesex-related domain. *Genomics* 2000 ; 64 : 170-8.
27. Raymond CS, Murphy MW, O'Sullivan MG, et al. Dmrt1, a gene related to worm and fly sexual regulators, is required for mammalian testis differentiation. *Genes Dev* 2000 ; 14 : 2587-95.
28. Ottolenghi C, McElreavey K. Deletions of 9p and the quest for a conserved mechanism of sex determination. *Mol Genet Metab* 2000 ; 71 : 397-404.
29. Koopman P. Sex determination: the power of DMRT1. *Trends Genet* 2009 ; 25 : 479-81.
30. Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, et al. An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature* 1994 ; 372 : 635-41.
31. Swain A, Narvaez V, Burgoyne P, et al. Dax1 antagonizes Sry action in mammalian sex determination. *Nature* 1998 ; 391 : 761-7.
32. Yu RN, Ito M, Saunders TL, et al. Role of Ahch in gonadal development and gametogenesis. *Nat Genet* 1998 ; 20 : 353-7.
33. 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.
34. Pannetier M, Elzaïat M, Thépot D, et al. Telling the story of XX sex-reversal in the goat: highlighting the sex-crossroad in domestic mammals. *Sex Dev* 2011 (sous presse).
35. Crisponi L, Deiana M, Loi A, et al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 159-66.
36. Schmidt D, Ovitt C, 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.
37. Jordan B. Du bon usage des exomes. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 1111-3.
38. Matson CK, Murphy MW, Sarver AL, et al. DMRT1 prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis. *Nature* 2011 ; 476 : 101-4.

TIRÉS À PART

E. Pailhoux