

SYNDROMES D'INSENSIBILITE AUX ANDROGENES : ASPECTS MOLECULAIRES

Charles Sultan^{1,2} Jean-Marc Lobaccaro² Serge Lumbroso² Charles Belon² et Françoise Audran²

1. Endocrinologie et Gynécologie Pédiatriques, Service de Pédiatrie I, Hôpital A. de Villeneuve, 34059 Montpellier Cédex.

2. Unité de Biochimie Endocrinienne du Développement et de la Reproduction, Hôpital Lapeyronie, et INSERM U58, 34059 Montpellier Cédex

ANDROGEN INSENSITIVITY : MOLECULAR ASPECTS. The molecular analysis of clinical syndromes involving androgen insensitivity has been facilitated by the availability of increasingly powerful molecular biological techniques. Complementary DNA of the androgen receptor gene (which was recently cloned and sequenced) has been used as a probe to investigate DNA restriction fragment length polymorphisms in patients with partial or complete androgen insensitivity. Such studies have demonstrated that deletions are rare. Using enzymatic amplification and sequencing of exons of the androgen receptor gene, several groups have described point mutations in patients with androgen insensitivity. PCR, accompanied by denaturing gradient gel electrophoresis or single strand conformation polymorphism assays, has revealed further mutations. These powerful tools, together with studies of mRNA from expression of the mutant gene, have also illustrated structure-function associations of the androgen receptor gene in some patients with androgen insensitivity. **Key-words :** Androgen insensitivity, androgen receptor, RFLP, SSCP, point mutations, molecular genetics. **Andrologie 1992, 2 : 108-113.**

Les syndromes d'insensibilité ou de résistance aux androgènes représentent selon les groupes 30 à 70 % des cas de pseudo-hermaphrodisme masculin (10) et la clinique permet habituellement de distinguer les insensibilités complètes aux androgènes (ICA), dont le phénotype est parfaitement féminin, des insensibilités partielles aux androgènes (IPA) au phénotype ambigu, caractérisées habituellement par des organes génitaux externes (OGE) incomplètement masculinisés.

Il y a quelques années, les travaux du groupe de Migeon ont permis de fournir une base biochimique à ces anomalies de l'action cellulaire des androgènes (1). L'ICA est associée dans 95 % des cas à un déficit majeur en sites-récepteurs au niveau des tissus androgéno-dépendants (OGE, par exemple). L'IPA relève d'une diminution de la concentration en sites-récepteurs.

Depuis 4 ans, le clonage de l'ADNc du gène du récepteur des androgènes (RA) et la disponi-

bilité de sondes nucléotidiques ont mis à notre disposition des outils de plus en plus performants pour l'analyse des syndromes d'insensibilité aux androgènes (7, 8, 25, 26, 43).

FORMES CLINIQUES DES SYNDROMES D'INSENSIBILITE AUX ANDROGENES

Dans sa forme complète (ICA, ex syndrome de féminisation testiculaire), l'insensibilité aux androgènes est habituellement diagnostiquée en période pubertaire devant une aménorrhée primaire, une absence de pilosité pubienne et axillaire chez une jeune fille qui présente, par ailleurs, un développement mammaire normal. En pré-puberté, voire à la naissance, l'attention peut être attirée par la découverte d'une ou deux gonades dans la région inguinale (et parfois même dans les grandes lèvres !). La régression müllerienne est complète, il ne persiste qu'un vagin borgne.

Les formes incomplètes d'insensibilité aux androgènes se caractérisent à l'inverse par une expression clinique très polymorphe qui va du morphotype féminin presque parfait au phénotype masculin complet chez des individus stériles. Les insensibilités partielles aux androgènes (IPA) recouvrent en fait un grand nombre de syndromes différents :

- *syndrome de Lubs*: scrotum bifide, mais pilosité pubienne masculine
- *syndrome de Gilbert-Dreyfus*: petite verge hypospade et gynécomastie
- *syndrome de Reifeinstein*: hypospadias, scrotum bifide, gynécomastie (forme familiale)
- *syndrome de Rosewater*: gynécomastie, stérilité
- *syndrome d'Aiman*: stérilité (oligo-azoospermie)
- *syndrome de Smith-Lemli-Opitz*: ambiguïté sexuelle, retard mental et syndrome polymalformatif.

La mesure du nombre de récepteurs des androgènes sur fibroblastes d'OGE a montré l'existence d'une hétérogénéité biochimique importante: si les déficits majeurs en récepteurs réalisent les formes complètes d'insensibilités aux androgènes, à l'inverse il est pratiquement impossible de corrélérer, chez les patients porteurs d'IPA, l'importance du déficit en RA et le degré d'insuffisance de masculinisation des OGE (40, 41). De surcroît, dans les deux formes cliniques d'insen-

sibilité aux androgènes, la mise en évidence d'anomalies qualitatives du RA (thermolabilité excessive du complexe hormone-RA, dissociation rapide de ce complexe, affinité réduite du RA pour l'androgène) confirment l'hétérogénéité biochimique des ces affections (42).

Dans ces conditions, il était légitime d'espérer que la biologie moléculaire apportât des éléments d'information sinon d'interprétation de ces syndromes d'insensibilité aux androgènes.

LE GENE DU RECEPTEUR DES ANDROGENES.

Le récepteur nucléaire des androgènes, comme celui des autres hormones stéroïdes, des hormones thyroïdiennes, de l'acide rétinolique et de la vitamine D, appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires (12). La similitude de structure peptidique du domaine de liaison à l'hormone explique les possibles interactions des autres récepteurs nucléaires avec des androgènes naturels, des androgènes de synthèse ou des anti-androgènes. On peut noter, également, les homologues de séquence du domaine de liaison de l'ADN, y compris pour des espèces phylogéniquement éloignées (homme/rat).

Le locus du gène du RA, localisé dans la région centromérique du chromosome X (34), est situé dans la région q11-12 (4). Grâce au clonage du gène du RA (7, 8, 25, 26, 43), la structure complète du récepteur a été définie (18). L'organisation génique montre 8 exons pour un gène de plus de 90 kilobases (kb) (Fig. 1): le premier exon code pour le domaine NH₂-terminal riche

LEXIQUE DES ABREVIATIONS UTILISEES

- ADN : acide désoxyribonucléique.
- ADNc : acide désoxyribonucléique complémentaire.
- DGGE : électrophorèse sur gel d'acrylamide avec gradient de dénaturation.
- ERH : éléments de réponse hormonale.
- HAM : hormone anti-müllérienne.
- ICA : insensibilité complète aux androgènes.
- IPA : insensibilité partielle aux androgènes.
- OGE : organes génitaux externes.
- PCR : réaction en chaîne de la polymérase.
- RA : récepteur des androgènes.
- RFLP : polymorphisme de longueur des fragments de restriction.
- SSCP : polymorphisme de conformation des ADN simples brins.

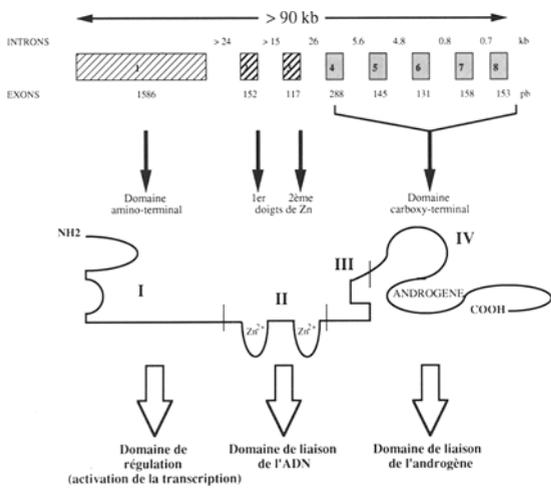


Fig. 1 : Organisation génique du récepteur des androgènes humain. La taille des introns est indiquée en kilobases (kb) et la taille des exons en paires de bases (pb). D'après (42).

en Gly et Gln. C'est l'exon le plus long (1586 paires de bases, pb). Les second (152 pb) et troisième (117 pb) exons codent respectivement pour les premier et second doigts de zinc du domaine de liaison de l'ADN. Les cinq exons suivants, d'une taille variant de 131 à 288 pb, codent pour la partie flexible et le domaine de liaison de l'androgène.

Cette organisation génique est commune à la majorité des récepteurs nucléaires.

L'expression de l'ARNm du RA, déterminée par northern blots montre une bande de 9.6 kb, pour des fibroblastes de territoires cutanés sexuellement différenciés, des cellules prostatiques ou d'autres cellules androgéno-dépendantes.

On reconnaît ainsi au niveau protéique (Fig. 1) :

- I : le domaine N-terminal composé de 556 acides aminés, présentant le moins d'homologie avec les autres récepteurs nucléaires. Il semble présenter des régions indispensables pour l'acti-

vation des gènes androgéno-dépendants.

- II : 67 acides aminés; le domaine le mieux conservé entre les différents récepteurs. Il contient 9 résidus conservés Cys chélateurs de deux ions Zn^{2+} . Il en résulte une structure en doigts de zinc, impliquée dans la reconnaissance des éléments de réponse hormonale (ERH). Ce domaine est également capable de se lier à de l'ARN.

- III : 43 acides aminés; une région variable intermédiaire flexible

- IV : 252 acides aminés; la région C terminale qui porte le site de liaison à haute affinité de l'androgène. Cette région a une homologie de 45 à 55 % avec les récepteurs des minéralocorticoïdes, des glucocorticoïdes et de la

progestérone.

Le groupe de French définit par mutagenèse dirigée l'activité respective des différentes régions du RA (39).

LES MÉTHODES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

L'analyse des fragments de restriction (RFLP, fig. 2) obtenus à partir de l'ADN génomique, par les techniques d'hybridation moléculaire, constitue l'étape indispensable pour la recherche de la localisation d'un gène ou la recherche d'une délétion génique à l'origine de l'affection. Lorsqu'il n'y a pas de macrodélétion, l'étude des RFLPs peut toutefois permettre d'analyser la ségrégation chromosomique parentale et de dépister ainsi les hétérozygotes. Dans certaines familles, le polymorphisme de longueur des fragments de restriction peut être utilisé pour un diagnostic anténatal.

Une approche plus moderne et plus facile pour détecter des délétions ou des mutations consiste en l'utilisation de la réaction en chaîne

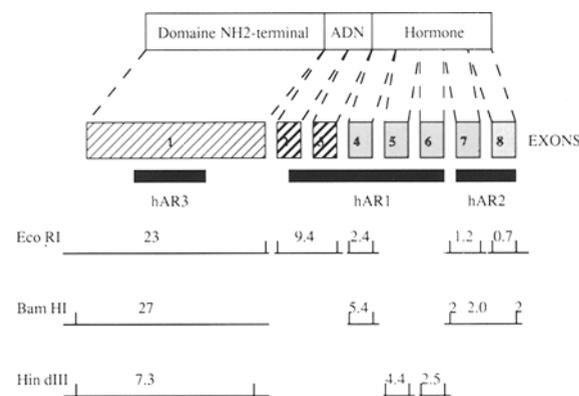


Fig. 2 : Sondes nucléotidiques et enzymes de restriction habituellement utilisées pour l'analyse des polymorphismes de longueur des fragments de restriction. La taille des fragments obtenus est en kilobases. D'après (42).

de la polymérase (PCR) pour une amplification enzymatique de certaines régions des gènes étudiés. Dans les insensibilités aux androgènes, des délétions du gène du récepteur des androgènes ont été ainsi mises en évidence. La PCR peut également être associée à d'autres techniques: électrophorèse sur gel d'acrylamide avec gradient de dénaturation ou étude des polymorphismes de conformation des simples brins d'ADN.

L'électrophorèse sur gel d'acrylamide avec gradient de dénaturation (DGGE) est basée sur une migration des fragments amplifiés: grâce au gradient croissant de dénaturation, la molécule d'ADN va s'ouvrir au niveau de la double hélice et va donc être ralentie. S'il existe une différence de composition entre deux molécules de tailles identiques, les ADN vont migrer à des vitesses différentes. On pourra mettre en évidence une hétérogénéité de migration reflétant une hétérogénéité de séquence des fragments étudiés. Par PCR et DGGE, l'équipe de Wilson a ainsi identifié une mutation du gène du récepteur des androgènes dans un syndrome d'insensibilité aux androgènes.

Une autre méthode consiste à coupler la PCR avec l'analyse de la conformation des simples brins d'ADN (SSCP). Cette méthode permet de visualiser des variations de séquences grâce à des modifications électrophorétiques. Les séquences à analyser sont amplifiées et marquées radioactivement par PCR, puis sont dénaturées et soumises à une électrophorèse sur gel d'acrylamide en conditions non dénaturantes. Dans ces conditions le fragment d'ADN prend une conformation repliée et stabilisée par interaction entre ses différents constituants. La SSCP permet ainsi de détecter des changements de conformation en relation avec des altérations de séquences.

Lorsque des modifications de migration sont visualisées par DGGE ou SSCP, c'est le séquençage du produit d'amplification qui permet de faire la preuve de l'existence d'une mutation ponctuelle. Dans tous les cas, c'est le séquençage, systématique ou non, qui a identifié les mutations du récepteur des androgènes.

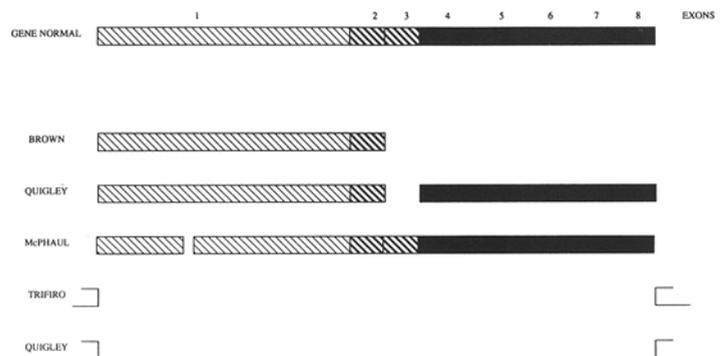


Fig. 3 : Délétions du gène du RA décrites dans les insensibilités aux androgènes.

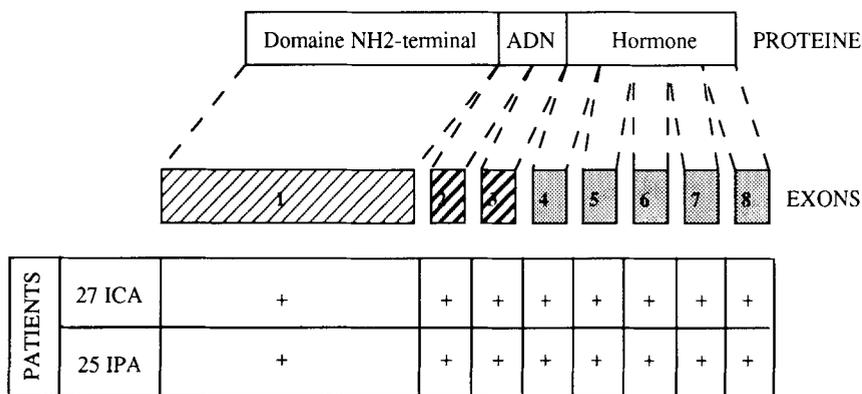


Tableau 1 : Fragments de restriction obtenus chez les 27 patients atteints d'ICA et les 25 patients atteints d'IPA. + indique la présence de l'exon. D'après (20)

L'expression de l'ARNm d'un gène dans un tissu cible peut être également étudiée: le northern blot permet de montrer l'absence d'expression d'un gène ou une anomalie dans l'expression de celui-ci: "hypo-expression", anomalie de l'épissage. Ainsi chez certains patients atteints d'insensibilité aux androgènes, il a été montré une sous-expression de l'ARNm au niveau des cellules androgéno-dépendantes (30).

La transfection d'un gène muté dans une cellule eucaryote, permet de prouver que l'anomalie génique est directement responsable de l'affection. En effet pour rendre compte du lien entre l'anomalie découverte (mutation ponctuelle) et le phénotype, il est nécessaire de reproduire *in vitro* ce qui se passe *in vivo*: identification de la protéine produite, étude de liaison du récepteur, étude de l'activation de la transcription.

RÉSULTATS

En fonction de l'expression phénotypique de l'insensibilité aux androgènes et de l'anomalie biochimique du RA, on peut considérer les syndromes d'insensibilités selon 3 rubriques (15,31):

- les insensibilités complètes avec absence de liaison du récepteur.
- les insensibilités complètes avec présence de liaison du récepteur.
- les insensibilités complètes ou partielles avec un RA qualitativement anormal.

1 - Insensibilité complète avec absence de liaison

Après le clonage de l'ADNc et la caractérisation de la structure génique du RA [Revue dans (42)], une attention particulière a été portée aux patients avec une ICA et absence de liaison. Bien que ce groupe présentât les anomalies biochimiques et phénotypiques les plus grandes, seuls quelques cas présentaient une altération de la structure du gène du RA sur une grande échelle: délétion, apparition de codon Stop, épissage aberrant et substitution d'acide aminé.

A ce jour, 5 délétions du gène du RA ont été décrites dans la littérature (Fig. 3). Dans un premier travail, Brown et al. (6) ont étudié 6 patients porteurs d'une ICA avec sites-récepteurs indétectables par binding et analysé l'ADN par Southern blot. Chez un patient, une délétion du domaine COOH-terminal a été identifiée. Trifiro et al. (44) ont décrit une large délétion du gène du RA chez un patient atteint d'ICA avec un retard mental important. Quigley et al. (36) ont rapporté une délétion totale de l'exon 3 faisant apparaître une protéine ayant une capacité de liaison mais non fonctionnelle. Mc Lean et al. (27) ont également décrit une importante délétion du gène du RA chez un patient atteint d'ICA. Enfin, le groupe de French a récemment (35) identifié une délétion complète du gène du RA chez une famille présentant une ICA. Cette délétion englobait également une partie du locus DXS159. L'étude de patients avec une délétion complète de gène du RA est importante car elle permet d'établir une corrélation entre le phénotype et le rôle du RA dans la mesure où il existe une absence totale de RA. Ainsi Quigley et al. (35) ont pu établir une action du RA dans la différenciation féminine: l'hypoplasie des grandes lèvres du patient atteint d'ICA suggère que les androgènes jouent un rôle dans le développement normal des organes génitaux externes féminins et la présence de résidus mullériens semble indiquer une synergie entre le RA et l'hormone anti-mullérienne (HAM) dans la régression des canaux de Muller. Enfin, la présence d'un fin duvet sur les grandes lèvres n'est pas due à une stimulation androgénique. De même, le retard de la ménarche des deux sujets hétérozygotes implique un rôle hypothalamique probable des androgènes dans la mise en place de la puberté féminine. Contrairement à Imperato-McGinley et al. (17), Quigley et al. n'ont pas mis en évidence de rôle des androgènes dans le développement psychomoteur.

Ces délétions du gène sont en réalité exceptionnelles: Di Lauro et al. (11) ont étudié 14 ADN (6

haplotypes) de malades porteurs d'IPA ou d'ICA avec les mêmes sondes et n'ont pas trouvé de délétion complète ni partielle du gène. Notre groupe (20) a confirmé le caractère rarissime des délétions du gène du RA. Dans une étude portant sur 52 patients porteurs d'ICA (27 cas, 18 haplotypes) et d'IPA (25 cas, 12 haplotypes) familiale ou isolée, nous n'avons pas mis en évidence par Southern blot d'altérations majeures du gène du RA (Tableau I).

L'anomalie la plus fréquente retrouvée dans les insensibilités aux androgènes avec absence de liaison est l'apparition d'un codon Stop dans la protéine (Fig. 4). Sur une étude portant sur 9 ICA avec capacité de liaison très basse, Marcelli et al. (29) ont rapporté une substitution G-A dans l'exon 6 qui entraîne un changement Trp⁷⁹⁴-Stop et une protéine de 95 kDa au lieu de 110 kDa. Sai et al. (38) ont décrit un même type de mutation dans l'exon 4 entraînant un changement Trp⁷¹⁷-Stop. Trifiro et al. (45) ont également rapporté une mutation Lys⁸⁸²-Stop dans une famille dont un enfant présentait une ICA. Chez un patient porteur d'une ICA, Marcelli et al. (28) ont découvert une substitution nucléotidique G¹⁷²⁴-A responsable d'un changement Lys⁸⁸⁸-Stop. Cette substitution entraîne une protéine tronquée au niveau du domaine de liaison de l'ADN.

Il est intéressant de noter que chez la souris Tfm, un mécanisme identique a été mis en évidence (9, 14, 16): le RA est plus petit que le RA normal et présente une liaison aux androgènes qualitativement et quantitativement anormale (48). La mutation est la délétion d'une base en position 1162 qui entraîne un codon Stop en position 451 après 40 acides aminés aberrants, et une protéine tronquée de ses domaines de liaison de l'ADN et des androgènes. Les résultats paradoxaux entre la présence du codon Stop dans le domaine aminoterminal et la capacité de liaison anormale relèvent de l'existence de nouveaux sites de réinitiation de la transcription en aval et de la mutation. Ces données rendent compte, chez la souris Tfm, de la présence de plusieurs types de RA: RA tronqués avec absence de liaison et donc de capacité de transcription et RA anormaux avec une diminution de la capacité de liaison.

L'introduction d'un codon Stop n'est pas le seul mécanisme responsable de la modification de la structure primaire du RA dans les ICA avec absence de liaison. Le groupe de Brinkmann (37) a décrit une anomalie de l'épissage de l'ARNm chez un patient avec ICA et absence de liaison: une substitution G-T du dernier nucléotide de l'intron 4 abolit les séquences nécessaires pour un épissage normal (Fig. 3). Il en résulte l'activation d'un site d'épissage cryptique et ainsi une délétion de 123 nucléotides dans l'ARNm et une protéine tronquée de 5 kDa, incapable de lier les

androgènes et d'activer la transcription de gènes androgéno-régulés dans des constructions.

Enfin la substitution d'acides aminés peut entraîner une ICA avec absence de liaison (Fig. 4). Trifiro *et al.* (46) ont détecté une mutation G²⁹⁶⁹-A chez un patient. Cette substitution est responsable d'une altération Ser⁸¹³-Asn et d'une plus grande thermolabilité du RA. Brown *et al.* (5) ont détecté, chez 2 enfants porteurs d'une ICA avec absence de récepteurs, une mutation Arg⁷⁷⁴-Cys chez l'un et une mutation Arg⁸³¹-Glu chez l'autre. Belsham *et al.* (2) ont détecté, dans une famille avec une ICA et absence de sites-récepteurs, une mutation Leu676-Pro dans l'exon 4. Enfin, le groupe de Brinkmann a mis en évidence, chez deux familles avec une ICA, une mutation Asp⁶⁸⁶-Asn et une mutation du même ASP⁶⁸⁶ en His dans l'exon 4 (3).

La plupart des substitutions d'acides aminés décrites ont été recréées par mutagenèse dirigée et les études fonctionnelles ont montré que les RA ne liaient pas les androgènes synthétiques et que la taille, identifiée par immunoblotting, avait celle de la protéine native. Mais l'interprétation des mécanismes par lesquels la substitution entraîne l'absence de liaison peut être complexe.

Marcelli *et al.* (30) ont décrit chez un patient avec ICA et absence de liaison un changement Arg⁷⁷²-Cys. Par mutagenèse dirigée et transfection du RA muté, ils ont montré que la mutation n'entraînait pas de diminution de l'activité de transcription du RA. Ainsi, le RA mutant décrit qui était partiellement actif dans les cotransfections laissait présager *in vivo* une IPA. De surcroît, ils ont montré que c'était la faible expression du gène qui rendait impossible le dosage en site du RA et rendait compte du phé-

Il est intéressant de noter que chez le rat *Tfm* (47), c'est une mutation Arg⁷³⁴-Gln dans l'exon 5 qui est responsable du phénotype. L'expression du mutant dans des cellules COS a d'ailleurs montré une diminution de 80 % de la capacité de lier les androgènes.

2 - Insensibilités complètes avec présence de liaison

Dans ce groupe, les patients ont une ICA et une capacité normale de liaison du RA sans anomalie qualitative du RA: thermolabilité ou augmentation de la constante de dissociation. Chez un patient porteur d'une ICA Marcelli *et al.* ont les premiers décrit une substitution G²⁰⁰⁶-c (Fig. 4) dans le 3^{ème} exon, entraînant un changement Arg⁶¹⁵-pro (32). D'autres mutations de ce type ont également été rapportées. Le point commun de ces récepteurs est la présence de la mutation dans le domaine de liaison de l'ADN. Quand les différentes mutations ont été recréées *in vitro* et analysées par des techniques de transfection, ces RA mutés avaient une liaison et une affinité normales mais étaient incapables d'activer des gènes cibles. Les études en gel retard ont montré l'incapacité de ces RA à former un complexe avec l'ADN.

3 - Insensibilités aux androgènes avec un RA qualitativement anormal

Lubahn *et al.* (24) ont été les premiers à mettre en évidence la mutation, Val866-Met, chez un patient porteur d'une ICA associée à une concentration normale en sites-récepteurs mais avec diminution de l'affinité du RA pour l'hormone (Fig. 4). Fawell (13) a récemment suggéré que cette zone conservée dans les autres récepteurs des stéroïdes était impliquée dans la dimérisation des récepteurs. McPhaul *et al.* (33) rapportent 2

altérations du gène du RA dans une famille où plusieurs enfants sont porteurs d'un hypospade profond à la naissance avec une virilisation importante à la puberté. Après PCR et séquençage, ils ont découvert une délétion au niveau du site répétitif CAG de l'exon 1 entraînant 12 Glu au lieu des 20-22 habituels et une mutation A¹⁴⁴-G qui entraîne un changement Tyr⁷⁶¹-Cys. Cette étude tend à montrer qu'une interaction entre le domaine amino-terminal

et le domaine carboxy-terminal joue un rôle dans la conformation tridimensionnelle du RA. L'absence de cette interaction, causée par la présence des deux mutations, rendrait compte de l'anomalie qualitative de ce RA et ainsi de l'IPA chez ces patients.

4 - Etude des polymorphismes du gène du RA

Dans la mesure où les délétions du gène sont très rares et où les mutations ne sont pas toujours détectées, il est difficile d'envisager le diagnostic d'hétérozygotie, un conseil génétique et un diagnostic prénatal dans les familles à risque. Il existe 2 polymorphismes susceptibles d'aider à la reconnaissance de l'allèle porteur. Le polymorphisme intronique Hind III décrit par Brown (4) nous a permis d'étudier la ségrégation du chromosome X atteint dans une famille avec un enfant porteur d'une IPA (21). Le second polymorphisme est celui de l'exon I décrit par Lubahn (25, 26) qui se caractérise par la répétition plus ou moins importante de séquences CAG. En utilisant ce polymorphisme, LaSpada *et al.* (19) ont pu étudier la ségrégation chromosomique du gène du RA chez 35 familles atteintes d'amyotrophie spinale. Nous avons étudié la présence de ce polymorphisme dans 23 familles avec ICA ou IPA (23): 50 % des mères étaient hétérozygotes. Nous avons pu également dans deux de ces familles réaliser un diagnostic anténatal d'exclusion d'IPA (22).

CONCLUSION

Avant l'apport de la biologie moléculaire, l'exploration des différents syndromes d'insensibilité aux androgènes ne reposait que sur les dosages plasmatiques des différentes hormones et sur celui des récepteurs des androgènes au niveau des tissus cibles.

L'analyse moléculaire des syndromes d'insensibilité aux androgènes est aujourd'hui facilitée par l'utilisation des méthodes de plus en plus performantes : RFLP, PCR, SSCP, expression des messagers, séquençage. Dans ces conditions, il est légitime d'espérer, dans un avenir très proche, une meilleure corrélation entre le tableau clinique observé et l'anomalie génétique. De plus, quand la mutation du gène du RA n'a pas été détectée, l'utilisation des polymorphismes Hind III et de l'exon 1 permet de réaliser un conseil génétique fondé sur la mise en évidence d'une hétérozygotie chez les différents membres de la famille et d'effectuer un diagnostic prénatal dans les familles à risque.

REFERENCES

- 1 - Amrhein JA, Meyer WJI, Jones HWJ, Migeon CJ. Androgen insensitivity in men : evidence for genetic heterogeneity. Proc. Natl. Acad. Sci., 1976, 73 : 891-894.
- 2 - Belsham DD, Greenberg CR, Wrogemann K. Identification of an unique mutation creating a new MspI site in a Hutterite kindred with X-linked androgen insensitivity syndrome. Proceedings of the 8th International Congress of Human Genetics, 1991, 49:93.

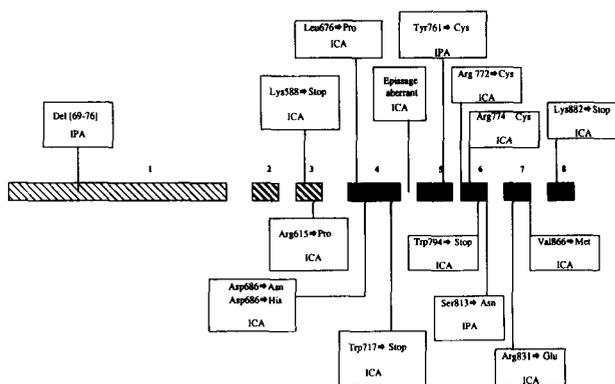


Fig. 4 : Mutations du gène du RA décrites dans les insensibilités complètes (ICA) ou partielles (IPA) aux androgènes.

notype d'ICA chez le patient étudié. De plus, chez la souris avec le phénotype *Tfm*, Gaspar *et al.* (14) ont montré un effondrement de l'expression de l'ARNm du RA. Ainsi les altérations quantitatives de l'ARNm peuvent témoigner d'une diminution des taux du RA.

- 3 - Brinkmann AO, Kuiper GGJM, Ris-Stalper C, et al. Androgen receptor abnormalities. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 1991, 40:349-352.
- 4 - Brown CJ, Goss SJ, Lubahn DB, et al. Androgen receptor locus on the human X chromosome : regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44 : 264-269.
- 5 - Brown TR, Lubahn DB, Wilson EM, et al. Functional characterisation of naturally occurring mutant androgen receptors from subjects with complete androgen insensitivity. *Mol. Endocr.*, 1990, 4 : 1759- 1772.
- 6 - Brown TR, Lubahn DB, Wilson EM, et al. Deletion of the steroid-binding domain of the human androgen receptor in one family with complete androgen insensitivity syndrome : evidence for further genetic heterogeneity in this syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988, 85 : 8151-8155.
- 7 - Chang C, Kokontis J et Liao S. Molecular cloning of human and rat cDNA encoding androgen receptors. *Science*, 1988, 240 : 324-326.
- 8 - Chang C, Kokontis J et Liao S. Structural analysis of complementary DNA and amino acid sequences of human and rat androgen receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988, 85 : 7211-7215.
- 9 - Charest NJ, Zhou Z, Lubahn DB, et al. A frame shift mutation destabilizes androgen receptor messenger RNA in the Tfm mouse. *Mol Endocr.*, 1991, 5 : 573-581.
- 10 - Chaussain JL, Roger M, Couprie C, Sultan C, Job JC. Les pseudo-hermaphrodismes masculins. *Pédiatrie*, 1990, 45s : 57-67.
- 11 - DiLauro SL, Behzabian A, Tho SPT, Mac Donough PG. Probing genomic deoxyribonucleic acid for gene rearrangement in 14 patients with androgen insensitivity syndrome. *Fertil. Steril*, 1991, 55 : 481-485.
- 12 - Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1988, 240 : 889-895.
- 13 - Fawell SE, Lees JA, White R et Parker MG. Characterization and colocalization of steroid binding and dimerization activities in the mouse oestrogen receptor. *Cell*, 1990, 60:953-962.
- 14 - Gaspar ML, Meo T, Bourgarel P, Guenet JL, Tosi M. A single base deletion in the Tfm androgen receptor gene creates a short lived messenger RNA that directs internal translation initiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88 : 8606-8610.
- 15 - Griffin JE. Androgen resistance - the clinical and molecular spectrum. *N. Engl. J. Med*, 1992, 326 : 611-618.
- 16 - He WW, Kumar MV, Tindall DJ. A frameshift mutation in the androgen receptor gene causes complete androgen insensitivity in the testicular feminized mouse. *Nucleic. Acid. Res*, 1991, 19 : 2373-2378.
- 17 - Imperato-McGinley J, Pichardo M, Gautier T, Voyer D, Bryden MP. Cognitive abilities in androgen -insensitivity subjects: comparison with control males and females from the same kindred. *Clin. Endocrinol*, 1991, 34 : 341-347.
- 18 - Kuiper GGJM, Faber TW, van Rooij HCJ, et al. Structural organization of the human androgen receptor gene. *Mol. Endocr*, 1989, 2 : R1-R4.
- 19 - La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB, Harding AE, K F. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*, 1991, 352 : 77-79.
- 20 - Lobaccaro JM, Belon C, Chaussain JL, et al. Molecular analysis of the androgen receptor gene in 52 patients with complete or partial androgen insensitivity syndrome: a collaborative study. *Horm. Res*, 1992, 37 : 54-59
- 21 - Lobaccaro JM, Belon C, Ruiz-Pacheco R, et al. Genetic association of Hind III polymorphism with the androgen receptor gene in partial androgen insensitivity syndrome. *Ann. Genet*, 1991, 34 : 9-13.
- 22 - Lobaccaro JM, Lumbroso S, Carré-Pigeon F, et al. Prenatal prediction of androgen insensitivity syndrome using exon I polymorphism of the androgen receptor gene. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol*, 1992, 43 : 659-663.
- 23 - Lobaccaro JM, Lumbroso S, Sultan C. Analyse des polymorphismes du gène du récepteur des androgènes: application au dépistage de l'hétérozygotie et au diagnostic anténatal des syndromes d'insensibilité aux androgènes. *C. R. Soc. Biol*, 1992, 185 : 422-433.
- 24 - Lubahn DB, Brown TR, Simental JA, et al. Sequence of the intron:exon junctions of the coding region of the human androgen receptor gene and identification of a point mutation in a family with complete androgen insensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86 : 95349538.
- 25 - Lubahn DB, Joseph DR, Sar M, et al. The human androgen receptor: Complementary deoxyribonucleic acid cloning, sequence analysis and gene expression in prostate. *Mol. Endocr*, 1988, 1: 1265-1275.
- 26 - Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, et al. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*, 1988, 240 : 327-330.
- 27 - Mac Lean HE, Warne GL, French FS, et al. Identification of a deletion in the androgen receptor gene in two siblings with the androgen insensitivity syndrome. *Proc. of the Annual Meet. of the Endocrine Soc. of Australia.*, 1990, 33 : 1.
- 28 - Marcelli M, Tilley WD, Wilson CM, et al. Definition of the human androgen receptor gene permits the identification of mutations that cause androgen resistance : premature termination of the receptor protein at amino-acid residue 588 causes complete androgen resistance. *Molecular. Endocrinology*, 1990,4 : 1105-1116.
- 29 - Marcelli M, Tilley WD, Wilson CM, et al. A single nucleotid substitution introduces a premature termination codon into the androgen receptor gene of a patient with receptor negative androgen resistance. *J. Clin. Invest*, 1990, 85 : 1522-1528.
- 30 - Marcelli M, Tilley WD, Zoppi S, et al. Androgen resistance associated with a mutation of the androgen receptor at amino-acid 772 (Arg-Cys) results from a combination of decreased messenger ribonucleic acid levels and impairment of receptor function. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 1991, 73 : 318-325.
- 31 - Marcelli M, Tilley WD, Zoppi S, et al. Molecular basis of androgen resistance. *J. Endocrinol. Invest*, 1992, 15 : 149-159.
- 32 - Marcelli M, Zoppi S, Grino PB, et al. A mutation in the DNA-binding domain of the androgen receptor gene causes complete testicular feminization in a patient with receptor-positive androgen resistance. *J. Clin. Invest*, 1991, 87 : 1123- 1126.
- 33 - McPhaul MJ, Marcelli M, Tilley WD, et al. Molecular basis of androgen resistance in a family with a qualitative abnormality of the androgen receptor and responsive to high-dose androgen therapy. *J. Clin. Invest*, 1991, 87 : 1413-1421.
- 34 - Meyer WJ, Migeon BR, Migeon CJ. Locus on human chromosome for dihydrotestosterone receptor and androgen insensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1975, 72 : 1469-1472.
- 35 - Quigley CA, Friedman KJ, Johnson A, et al. Complete deletion of the androgen receptor gene : definition of the null phenotype of the androgen insensitivity syndrome and determination of carrier status. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 1992, 74 : 927-933.
- 36 - Quigley CA, Simental JA, Evans BA, et al. Androgen insensitivity due to deletion of the second zinc finger of the androgen receptor. *Proc of the 72nd Meet of the Endocrine Soc*, 1990, 793 :
- 37 - Ris-Stalpers C, Kuiper GGJM, Faber PW, et al. Aberrant splicing of androgen receptor mRNA results in non functional receptor protein in a patient with androgen insensitivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87 : 7866-7870.
- 38 - Sai T, Seino S, Chang C, et al. An exonic point mutation of the androgen receptor gene in a family with complete androgen insensitivity. *Am. J. Hum. Genet*, 1990, 46 : 1095-1100.
- 39 - Simental JA, Sar M, Lane MV, French FS, Wilson EM. Transcriptional activation and nuclear targeting signals of the human androgen receptor. *J. Biol. Chem*, 1991, 266 : 510518.

- 40 - Sultan C. Androgen receptors and partial androgen insensitivity in male pseudohermaphroditism. *Annal. Genet*, 1986, 29 : 5-10.
- 41 - Sultan C. Le récepteur cutané des androgènes: de la physiologie à la pathologie. In : Chaussain JL and Roger M eds. *Les ambiguïtés sexuelles*. Paris, SEPE, 1988, 41-60.
- 42 - Sultan C, Lobaccaro J. Génétique moléculaire des syndromes d'insensibilité aux androgènes. *Médecine sciences*, 1991, 7 : 697-704.
- 43 - Trapman J, Klaassen P, Kuiper GJ. Cloning, structure and expression of a cDNA encoding the human androgen receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 153 : 241248.
- 44 - Trifiro M, Gottlieb B, Pinsky L. The 56/58 kDa androgen-binding protein in man genital skin fibroblasts with a deleted androgen receptor gene. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1991, 75 : 3747.
- 45 - Trifiro M, Lynn Prior R, Sabbaghian N, et al. Amber mutation creates a diagnostic *MaeI* site in the androgen receptor gene of a family with complete androgen insensitivity. *Am. J. Hum. Genet.*, 1991, 40 : 493-499.
- 46 - Trifiro M, Mhatre A, Pinsky L, Kaufman M. Androgen-selective androgen resistance due to a single point mutation in exon 6 of the X-linked androgen receptor gene. *Programm and Abstract of the Endocrine Society, 72nd Meeting*, 1990, 93.
- 47 - Yarbrough WG, Quarmby VE, Simenthal JA, et al. A single base mutation in the androgen receptor gene causes androgen insensitivity in the testicular feminized rat. *J. Biol. Chem.*, 1990, 265 : 8893-8900.
- 48 - Young CYF, Johnson MP, Prescott JL, Tindall DJ. The androgen receptor of the testicular-feminized (Tfm) mutant mouse is smaller than the wild-type receptor. *Endocrinology*, 1989, 124 : 771-775.

RESUME : L'analyse moléculaire des syndromes d'insensibilité aux androgènes est aujourd'hui facilitée par l'utilisation d'outils de génétique moléculaire de plus en plus performants: polymorphismes de restriction, amplification enzymatique, polymorphisme de conformation des simples brins d'ADN, séquençage et expression des gènes mutés. Les différentes études ont souligné le caractère exceptionnel des délétions du gène du récepteur des androgènes et ont permis la détection de mutations géniques responsables de l'insensibilité aux androgènes. L'étude de l'ARN messager a également montré une anomalie de l'épissage chez un patient porteur d'une insensibilité complète aux androgènes. Enfin, l'analyse des produits d'expression des gènes mutés produits in vitro a permis d'établir dans certains cas un rapport structure-fonction. **Mots-clés** : Insensibilités aux androgènes - récepteur des androgènes - RFLP - SSCP - mutations ponctuelles - génétique moléculaire. **Andrologie 1992, 2 : 108-113**