

# Récepteur et mécanisme d'action des androgènes

Paul ROBEL\*

Unité 33 INSERM "Communications Hormonales", 80 rue du Général Leclerc, F-94276 Le Kremlin-Bicêtre Cedex

\* présenté à la 1ère journée scientifique de la S.A.L.F., Tours, 18 juin 1993.

Dans un certain nombre d'organes, en particulier les organes sexuels secondaires comme la prostate ou les vésicules séminales, la testostérone (T) n'est pas la molécule active.

L'"activation métabolique" de la testostérone consiste en la formation de dihydrotestostérone (DHT), assurée par une enzyme-clé, la réductase ( $5\alpha$ -R). En fait, il existe deux gènes de  $5\alpha$ -R, celui qui joue le rôle essentiel dans la biologie prostatique code pour la  $5\alpha$ -R2, à pH optimum acide, sensible au finastéride, un inhibiteur puissant de la  $5\alpha$ -R [1].

La prostate contient normalement très peu de T par rapport à la DHT. Ceci est dû à la prépondérance des enzymes de synthèse sur les enzymes de catabolisme de la DHT (Figure 1), et à l'affinité plus grande du récepteur des androgènes (RA) pour la DHT que pour la T [2]. Les androgènes surrénaliens peuvent être eux- aussi transformés en DHT par la prostate, et contribuent pour 10 à 40 p. cent à la concentration de DHT prostatique.

## 1. Le récepteur des androgènes

Il appartient à la superfamille des récepteurs d'hormones à action nucléaire, régulant la

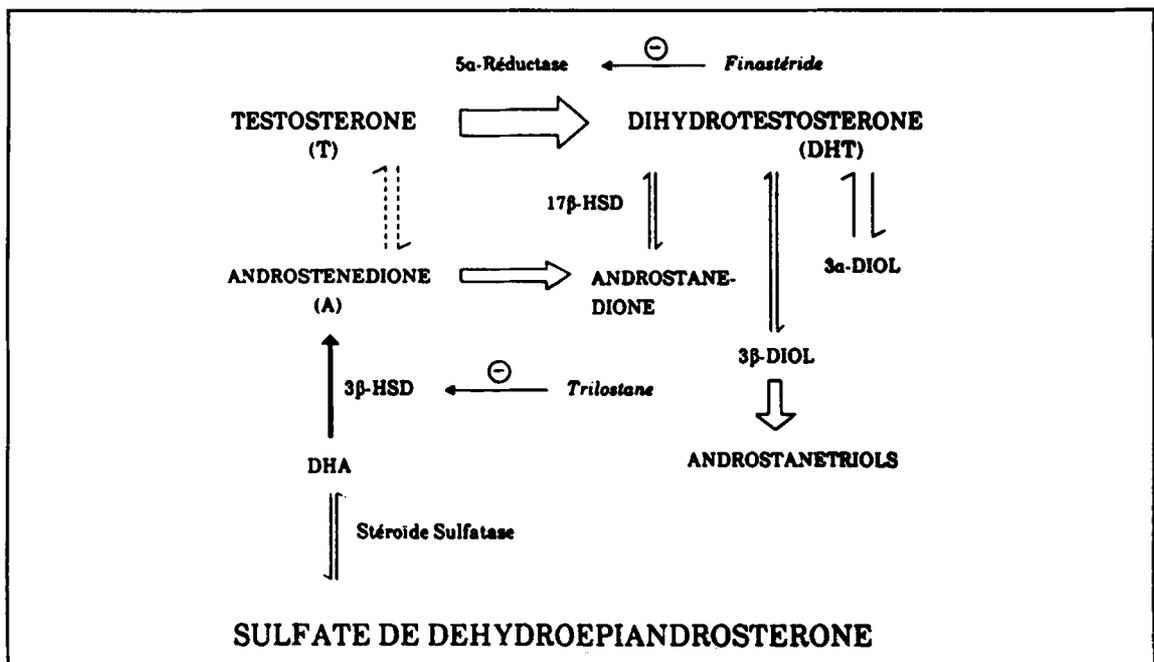


Figure 1. Le métabolisme des androgènes dans la prostate humaine.

transcription de gènes-cibles [3]. Les récepteurs d'hormones stéroïdes constituent une des familles de cette superfamille qui comporte en outre les récepteurs des hormones thyroïdiennes, de l'acide rétinoïque, de la vitamine D, et de nombreux autres membres dont les ligands commencent seulement à être identifiés (récepteurs "orphelins") (Figure 2).

Le domaine de liaison de l'hormone (région E) a une taille d'environ 25 kDa. L'intégrité de ce vaste domaine est nécessaire à la liaison de l'hormone, qui n'est pas affectée par la délétion des régions A, B, et/ou C. Il contient de nombreux amino-acides hydrophobes qui entrent probablement dans la constitution d'une poche hydrophobe où se fixe le stéroïde (Figure 3).

Le domaine de liaison à l'ADN (région C) contient un groupement de 68 amino-acides, riche en cystéine et en amino-acides basiques. Il est subdivisé en deux moitiés C1 et C2, chacune contenant un motif analogue à ceux de plusieurs protéines transactivatrices

(régulatrices de la transcription), dits en "doigt de gant", coordonnés par un atome de zinc, et nécessaires à l'ajustement à l'élément de régulation hormonale (ERH). La région C est responsable de la spécificité de réponse. Un récepteur tronqué, limité à sa région C, se lie spécifiquement à l'ADN, et active de façon constitutive (indépendante de l'hormone) le gène correspondant, bien qu'à un niveau d'expression faible. En effet le domaine E comporte une fonction d'inhibition de la transcription, qui disparaît lorsqu'il est activé par l'hormone (ou délété).

Les domaines de transactivation sont nécessaires à l'activation normale de la transcription du gène-cible par le complexe hormone-récepteur. La transactivation nécessite la présence du domaine C. Mais elle n'est complète qu'en présence de deux séquences portées respectivement par la région A/B et la région E.

Les domaines de localisation nucléaire comportent la région E, dont le changement de conformation en présence d'hormone

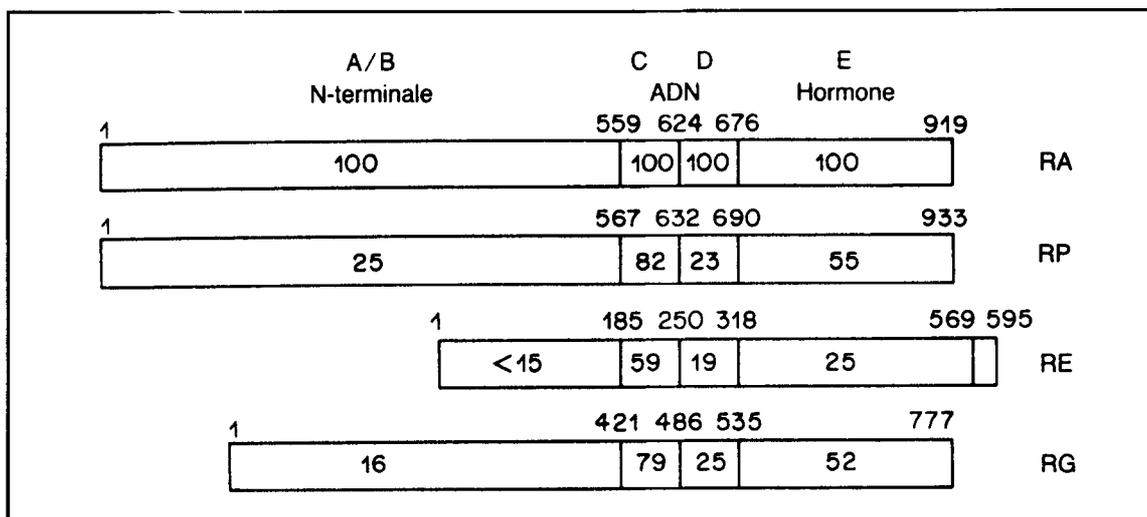


Figure 2. La famille des récepteurs d'hormones stéroïdes.

Les structures linéarisées des récepteurs humains des glucocorticostéroïdes (RG), de la progestérone (RP), de l'œstradiol (RE) sont comparées à celles du récepteur des androgènes (RA). Les rangs des amino-acides délimitant chaque domaine sont indiqués ainsi que les pourcentages d'homologie.

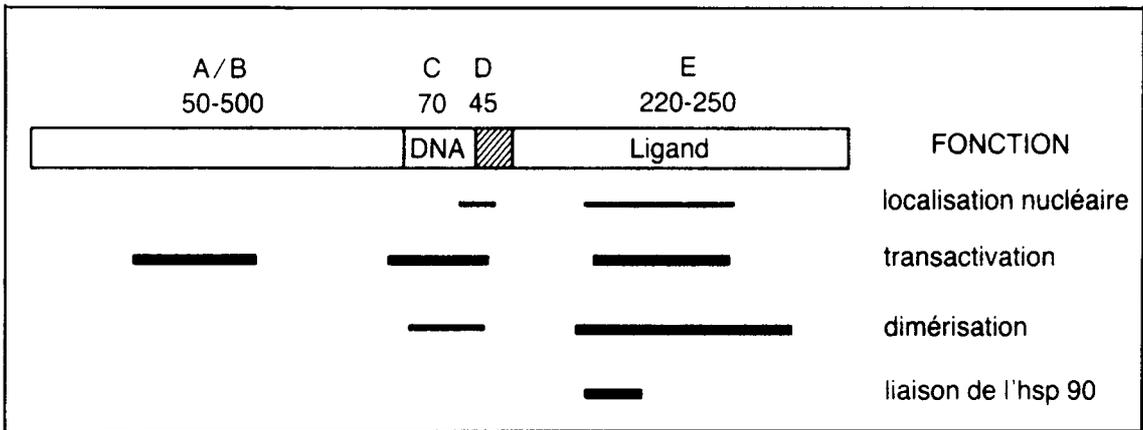


Figure 3. Structure générale et organisation fonctionnelle des récepteurs à action nucléaire.

entraîne une forte affinité pour les gènes-cibles. Cependant, le récepteur des androgènes est nucléaire même en absence d'hormone, comme le montrent les expériences d'immuno-cytochimie. Cette particularité est due à un second domaine de localisation nucléaire, constitutif, situé à la jonction des régions C et D.

Le récepteur active la transcription des gènes-cibles sous forme de dimères. Les régions de liaison de l'hormone et de liaison à l'ADN interviennent dans cette dimérisation.

La formation d'hétérooligomères englobant la protéine de choc thermique hsp90 et l'immunophiline p59 semble faire intervenir également la région E, et la région à charge positive du deuxième doigt de gant en C terminal.

## 2. Gènes hormono-régulés

Le domaine de liaison à l'ADN du récepteur possède une très grande affinité pour les éléments de régulation hormonale (ERH), qui ont été identifiés sur un petit nombre de gènes régulés par la testostérone. Ces éléments ont en principe une structure palindromique, presque toujours imparfaite, adaptée à l'association du récepteur sous forme dimérique. Le "consensus" ERH est : 5'-GGA/TACAnnTGTCT-3', identique

dans sa moitié C-terminale aux consensus des ERH des glucocorticostéroïdes, des minéralocorticoïdes, et de la progestérone [4]. Les ERH sont souvent multiples et situés dans la région "promotrice" du gène, en amont du site d'initiation de la transcription. Ils ont les caractéristiques d'"enhancers", actifs indépendamment de leur distance et de leur orientation par rapport au site d'initiation. Les complexes hormone-récepteur se comportent donc comme des "transactivateurs". Ils interviennent en conjonction avec d'autres facteurs de transcription pour initier la lecture du gène par l'ARN polymérase B.

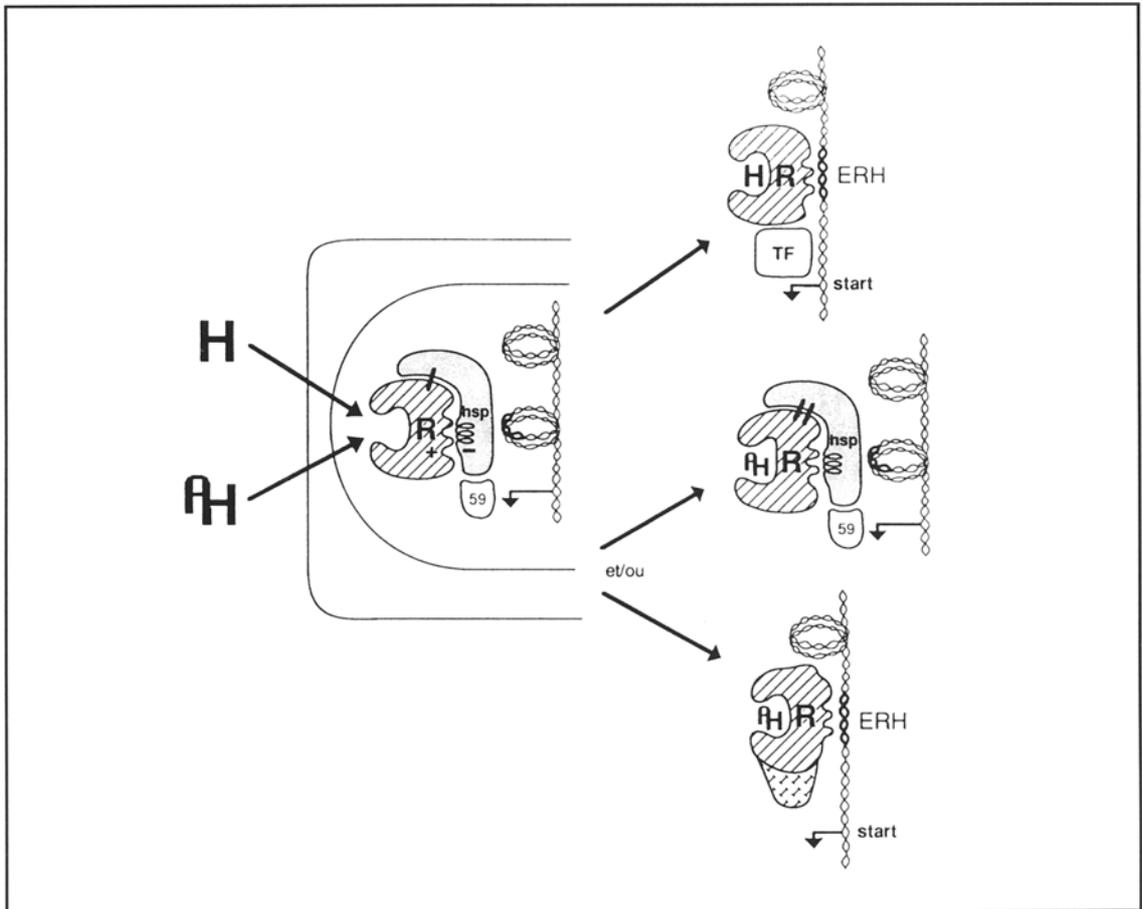
## 3. Antiandrogènes

Un point sur lequel l'accord est général, et qui constitue la première étape de leur tri en tant qu'antagonistes potentiels, c'est leur affinité pour le récepteur hormonal et leur aptitude à entrer en compétition avec l'hormone pour la liaison au récepteur [3].

Quelles sont les propriétés particulières des complexes anti-hormones récepteurs, qui puissent rendre compte de leur activité antagoniste ? Schématiquement, les complexes anti-hormone-récepteurs sont difficilement activables. Le processus d'activation-transformation, par chauffage, des complexes antagoniste-récepteurs est

beaucoup plus lent que celui des complexes hormone-récepteurs, ce qui peut se voir notamment par la persistance d'hétéro-oligomères contenant, outre le récepteur, les protéines qui lui sont associées (Figure 4). Cependant, il s'agit d'une différence plus quantitative que qualitative. Les complexes

antagoniste-récepteurs sont capables de s'activer et de se lier à l'ERH. L'activité antihormonale serait alors liée à une étape postérieure à la liaison à l'ADN, par exemple une conformation particulière du récepteur qui, par empêchement stérique, inhibe l'attachement de facteurs de transcription.



**Figure 4. Structure générale et organisation fonctionnelle des récepteurs à action nucléaire.**

- A L'hormone (H) ou l'antagoniste (AH) se lie au récepteur complexé à l'hsp90 et à la p59.
- B l'hétérooligomère libère le complexe -R, qui se lie à l'ERH, modifiant ainsi la structure du nucléosome (n), et permettant la liaison de facteurs de transcription (TF) à la région promotrice du gène, et la stimulation de la transcription de l'ARNm (start).
- C La liaison de l'antagoniste au récepteur (AH-R) n'entraîne pas la dissociation de l'hétérooligomère et/ou un changement de conformation du récepteur, alors capable de se lier à l'ERH, mais non de stimuler la transcription.

#### **4. Un exemple de régulation androgénique: la phosphatase acide et l'antigène spécifique prostatiques**

La phosphatase acide (PAP) et l'antigène spécifique prostatique (PSA), qui est une sérine-protéase appartenant à la famille des kallikréines, sont largement utilisés pour le dépistage et le suivi des tumeurs prostatiques humaines. L'expression du PSA est corrélée avec les fluctuations de la fonction testiculaire au cours du développement, et sa relation avec les androgènes a été fortement suggérée au cours des traitements hormonaux des cancers prostatiques.

Cependant, les mécanismes moléculaires de la régulation androgénique de la PAP et du PSA n'ont pu être étudiés qu'à l'aide de lignées cellulaires établies [5]. La plus utilisée a été la lignée LNCaP, provenant d'une métastase ganglionnaire de cancer prostatique humain. Cette lignée demeure différenciée et hormono- sensible; elle exprime le PSA à un haut niveau et la PAP à un niveau diminué par rapport à la prostate humaine normale ou hyperplasique. Des concentrations croissantes d'un puissant androgène de synthèse, le R-1881, ont stimulé la croissance des cellules, induit la sécrétion de PSA ( X 5 en 7 jours par le R1881 0,1 nM), mais par contre diminué la sécrétion de PAP (divisée par 4 dans les mêmes conditions). Les changements des concentrations intracellulaires de PAP et de PSA, et de leurs ARN messagers respectifs, allaient dans le même sens [6].

Le flutamide, un antiandrogène pur, réprimait l'effet du R1881, ce qui suggérait que les effets des androgènes soient médiés par les complexes hormone-récepteurs. Effectivement, le gène du PSA est porteur, en position -170 à -156 sur le brin non codant, par rapport au site d'initiation de la transcription, d'une séquence 5'- AGAACAgeaAGTGCT-3', qui ressemble étroitement au complément inverse de la séquence consensus ERA [7].

Pour démontrer la fonctionnalité de l'élément porté par le gène du PSA, des fragments du promoteur ont été couplés à un gène rapporteur, celui de la chloramphénicol acétyl-transférase (CAT) et co-transfectés dans des cellules hôtes (COS) en même temps que le récepteur des androgènes. Ce système de co-transfection permet d'identifier un ERH porté par le gène hybride. Effectivement, la région -320 à -155 était essentielle à l'induction de l'activité CAT par le R-1881. Une ou plusieurs copies de la séquence régulatrice ainsi mise en évidence, couplées en amont d'une construction comportant le promoteur de la thymidine- kinase et le gène rapporteur CAT, ont conféré à cette construction une régulation par les androgènes, d'autant plus intense que le nombre de copies de l'ERA était grande (Figure 5).

#### **5. Le PSA, la PAP, et la croissance prostatique**

Les somatomédines ou IGFs sont d'importants peptides mitogènes, et sont des facteurs autocrines-paracrines impliqués dans la prolifération des adénocarcinomes prostatiques. Une famille de protéines de liaison de l'IGF-I (IGFBPs) ont été identifiées, et sont susceptibles d'inhiber les effets mitogènes de l'IGF-I. Les cancers prostatiques sécrètent l'IGF-1, possèdent des récepteurs pour ce facteur de croissance, et sécrètent aussi l'IGF-BP3 [8]. Le PSA purifié clive l'IGFBP-3 et libère l'IGF-1 (Figure 6). Il pourrait ainsi, comme d'autres protéases, amplifier l'effet de facteurs de croissance sur les cellules-cibles.

La phosphorylation de protéines cellulaires sur les résidus tyrosines joue un rôle-clé dans le contrôle de la prolifération cellulaire par plusieurs facteurs de croissance [9]. Les concentrations de phosphotyrosines (pTyr) intracellulaires dépendent non seulement des activités tyrosine-kinases des récepteurs de facteurs de croissance, dont celui de l'IGF-1, mais aussi des activités phosphotyrosines

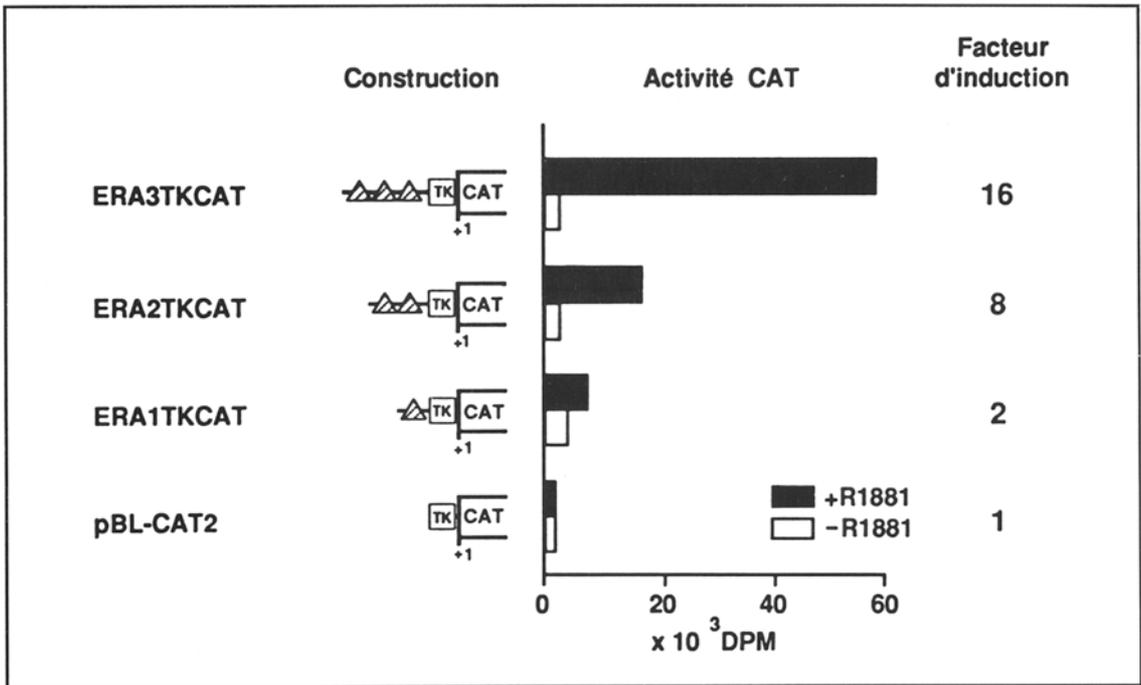


Figure 5. Co-transfections de gènes rapporteurs et de gène du récepteur des androgènes dans des cellules COS en absence ou en présence de R-1881.

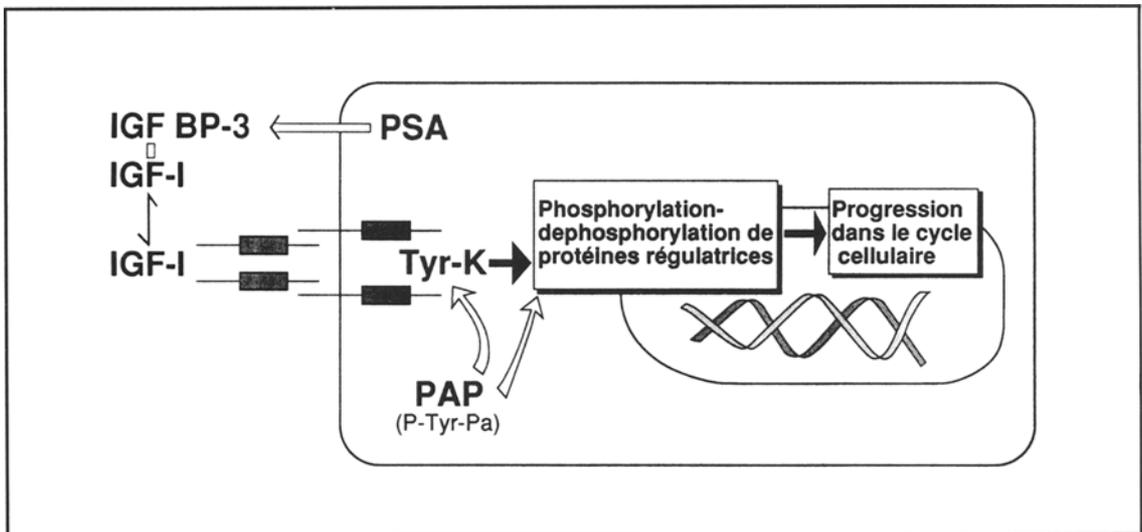


Figure 6. PSA, PAP, et croissance prostatique

Tyr-K : Tyrosine Kinase. Le récepteur de l'IGF-I est une Tyr-K, son activité dépend de son autophosphorylation sur une tyrosine.

P-Tyr-PA : activité phosphotyrosine phosphatase de la PAP.

phosphatases qui hydrolysent les phosphotyrosines. Or la PAP est la tyrosyl-phosphatase majeure dans les cellules glandulaires prostatiques différenciées [10]. Les concentrations de PTyr sont inversement corrélées avec l'activité PAP dans plusieurs lignées de carcinomes prostatiques.

L'augmentation du rapport des activités PSA/PAP qui caractérise les cancers prostatiques, et les effets opposés des androgènes sur la synthèse de PSA et de PAP, pourraient ainsi contribuer à la stimulation de la prolifération cellulaire tumorale.

## RÉFÉRENCES

1. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russel DW. (1991) Deletion of steroid 5 $\alpha$ -reductase 2 gene in male pseudo hermaphroditism. *Nature* 354 : 159-161.
2. Robel P, Baulieu E13 (1984) Mécanisme d'action moléculaire. In "Médecine de la reproduction masculine" (G. Schaison, P. Bouchard, J. Mahoudeau, F. Labrie, eds.). Flammarion, Paris, pp. 91-111.
3. Robel P. (1991) Les récepteurs des hormones stéroïdes impliquées dans la reproduction: mode d'action. In "La reproduction chez les mammifères et l'homme". Ellipses, Paris, pp. 135-152.
4. Roche PJ, Hoare SA, Parker MG (1992) A consensus DNA-binding site for the androgen receptor. *Mol. Endocrinol* 6 : 2229-2235.
5. Robel P (1992) Antigène spécifique prostatique: PSA, un antigène célèbre et méconnu. *Prostate Tumeurs*, n°1 0, 10- 12.
6. Henttu P, Liao S, Vihko P. (1992) Androgens up-regulate the human prostate-specific antigen messenger ribonucleic acid (mRNA), but down-regulate the prostatic acid phosphatase mRNA in the LNCaP cell line. *Endocrinology* 130 : 766-762.
7. Riegman PHJ, Vlietstra RJ, Van der Korput JAGM, Brinkmann AO, Trapman J. (1991) The promoter of the prostate-specific antigen gene contains a functional androgen responsive element. *Mol. Endocrinol.* 5 : 1921- 1930.
8. Kaicer EK, Blat C, Harel L. (1991) IGF-I and IGF-binding proteins: stimulatory and inhibitory factors secreted by human prostatic adenocarcinoma cells. *Growth Factors* 4 : 231-237.
9. Yarden Y, Ullrich A. (1988) Growth factor receptor tyrosine kinases. *Ann. Rev. Biochem.* 57 : 443-478.
10. Li HC, Chernoff J, Chen LB, Kirschonbaun A (1984) A phospho-tyrosyl protein phosphatase activity associated with acid-phosphatase from human prostate gland. *Eur. J. Biochem.* 138 : 45 51.