

# Signalisation androgénique dans les cellules de Sertoli

## Résumé

Les cellules de Sertoli (CS) jouent des rôles essentiels pour la régulation de la spermatogenèse, via la signalisation modulée par le récepteur aux androgènes (RA). Les objectifs de ce travail ont été d'identifier les mécanismes moléculaires de la régulation androgénique et des rôles des partenaires moléculaires dans la régulation androgénique des cellules de Sertoli pendant le développement testiculaire, du fœtus à l'âge adulte, pendant différents stades du développement. Nous avons caractérisé et étudié une nouvelle lignée immortalisée, mature, de CS, ST38c, présentant une expression substantielle de RA endogène, une activation transcriptionnelle du RA induite par les androgènes, ainsi qu'une régulation et une stabilisation de la protéine RA par des mécanismes post traductionnels. Ce modèle a été utilisé afin de tester l'hypothèse que la suppression de l'hormone antimüllérienne (AMH) est modulée directement par les androgènes, via la RA, dans les cellules matures de Sertoli.

En parallèle, nous avons testé l'hypothèse que la résistance physiologique aux androgènes du nouveau-né est liée à l'expression différentielle de quelques corégulateurs du RA. Ainsi, nous avons analysé l'expression et la contribution de deux corégulateurs du RA (SRC-2 et HBO1) pendant l'ontogenèse testiculaire humaine et pour des pathologies liées au dysfonctionnement de l'action des androgènes ou du RA (syndromes d'insensibilité aux androgènes, hypogonadisme hypogonadotrophique congénital).

Nous avons démontré, après des essais de transfection *in vitro*, que SRC-2 est un coactivateur, alors que HBO1 est un corepresseur du RA dans un modèle de cellules de Sertoli. Nous avons cartographié l'expression testiculaire humaine de SRC-2 et HBO1, pendant différents stades du développement pré et postnatal et nous avons démontré que SRC-2 présente une expression stable, contrastant avec le profil d'expression différentielle, progressive avec l'âge de RA dans la cellule de Sertoli, suggérant que l'expression du SRC-2 est indépendante de la signalisation androgénique. Par contre, HBO1 et le RA présentent un profil de maturation et d'expression temporelle corrélé, suggérant que l'expression du HBO1 serait liée à une signalisation du RA fonctionnelle dans les cellules de Sertoli. Nous avons aussi démontré que l'expression du HBO1 est induite par les androgènes en présence du RA. Contrairement au SRC-2, HBO1 est non seulement exprimé dans les cellules de Sertoli, mais aussi dans les spermatogonies, pouvant représenter un marqueur potentiellement intéressant des cellules germinales.

Enfin, nous avons aussi étudié l'immuno-expression testiculaire de RA et AMH chez des patients post pubères avec un syndrome de déficit en 5 $\alpha$ -réductase type 2, et insensibilité minimale aux androgènes (MAIS), afin d'étudier la contribution des androgènes (testostérone versus dihydrotestostérone) pour la spermatogenèse, la répression de l'AMH ainsi que pour mieux comprendre les perspectives de fertilité chez ces patients.

## Abstract

Sertoli cells (SC) have essential roles in the androgen regulation of spermatogenesis, *via* the androgen receptor (AR)-mediated signaling. This work aimed at identifying the molecular mechanisms related to the androgenic regulation of the AR and its molecular partners in Sertoli cells during different testicular developmental stages.

We first characterized and studied a novel murine mature immortalized Sertoli cell line, called ST38c, which harbors substantial expression of endogenous AR, conserves its androgen-dependent transcriptional activation and exhibits agonist-dependent transcriptional and posttranslational regulation, as well as posttranslational stability.

We used this cellular model in order to test the hypothesis that anti Müllerian Hormone (AMH) suppression in mature Sertoli cells would be directly androgen and AR mediated.

Next, we hypothesized that the physiological androgen resistance in the neonate would also be related to the differential expression of several AR coregulators. Therefore, we analysed the differential expression and contribution of two AR co-regulators (SRC-2 and HBO1) during human testicular ontogeny, as well as in pathologies associated with androgen action or AR impairment (such as androgen insensitivity syndromes, congenital hypogonadotropic hypogonadism).

Using *in vitro* transfection assays, we showed that SRC-2 is an AR coactivator while HBO1 is an AR corepressor in Sertoli cell models. We provided the cartography of SRC-2 and HBO1 expression during human testicular postnatal different stages and showed that SRC-2 presented a stable expression contrasting with the progressive evolution profile of the AR signaling, suggesting that Sertoli SRC-2 expression was independent of the androgen signaling. Interestingly, HBO1 and AR presented a temporal and positively correlated maturation profile, suggesting that HBO1 expression would be related to a functional AR signaling in the Sertoli cell. Moreover HBO1 expression is induced by androgens in the presence of the AR. Unlike SRC-2, HBO1 is not only expressed in Sertoli cells, but also in spermatogonia, being an interesting germ cell marker.

Finally, we also studied AR and AMH immunoexpression in postpubertal cases of 5- $\alpha$  reductase type 2 deficiency and minimal androgen receptor resistance, in respect with the spermatogenesis status of seminiferous tubules, and androgen induced AMH suppression in order to assess the differential contribution of testosterone versus dihydrotestosterone and gather more information about the fertility perspectives in this particular pathologies.