

**Titre : Implication du récepteur des glucocorticoïdes en physiopathologie humaine**

**Mots clés :** Récepteur des glucocorticoïdes, mutations inactivatrices du GR, *NR3C1* pseudohyperaldostéronisme, hyperplasie bilatérale des surrénales, *HSD11B2*

**Résumé :** Les glucocorticoïdes (GC), généralement sécrétés par le cortex surrénalien, exercent de très nombreuses fonctions dans l'organisme, *via* leur liaison au récepteur des glucocorticoïdes (GR). Les rares mutations inactivatrices du GR déjà décrites, sont responsables d'un syndrome de résistance aux GC et peuvent conduire à une hypertension artérielle (HTA), une hyperplasie surrénalienne (HBS), un hirsutisme et une obésité. Dans ce travail, nous avons caractérisé fonctionnellement 13 variants hétérozygotes du GR (expression, transactivation, localisation subcellulaire,...). Six variants du GR, découverts par séquençage à haut débit (NGS) ne sont pas pathogènes alors que 7 mutations hétérozygotes originales délétères ont été identifiées dans le cadre du protocole hospitalier de recherche clinique (Muta-GR). Ce PHRC a permis de préciser une prévalence à 5% de mutations inactivatrices du GR dans une cohorte de 100 patients avec HBS associée à une HTA et/ou un hypercortisolisme biologique sans signe clinique de Cushing.

Une haploinsuffisance du GR, démontrée par la diminution d'induction par la dexaméthasone du gène cible FKBP5, a été mise en évidence dans les fibroblastes cutanés de certains patients porteurs de mutations inactivatrices du GR. Ces patients présentent souvent un hypercorticisme avec hypokaliémie, aldostérone et rénine basse, signant un pseudohyperaldostéronisme. Nous avons démontré que le gène *HSD11B2* codant pour l'enzyme 11 $\beta$ -HSD2, assurant l'inactivation des GC, est une cible directe du GR comme démontré par transfection transitoire de gène-rapporteur, RT-qPCR, LC-MS/MS et ChIP. L'établissement des modèles de knock-in de mutations GR par stratégie CRISPR/Cas9 dans des lignées cellulaires préadipocytaires ou corticosurrénales humaines s'est soldé par un échec.

Ce travail devrait faciliter la sélection des patients chez qui la recherche de mutations inactivatrices du GR doit être faite et invite à un suivi régulier de ces patients.

**Title : Involvement of the Glucocorticoid Receptor in human diseases**

**Keywords :** Glucocorticoid receptor, *NR3C1*, GR loss-of-function mutation, pseudohypermineralocorticoidism, bilateral adrenal hyperplasia, *HSD11B2*

**Abstract :** Glucocorticoids (GC) regulate many essential biological functions by activating the glucocorticoid receptor (GR). GR loss-of-function mutations are responsible for GC resistance syndrome, often associated with high blood pressure, hirsutism, bilateral adrenal hyperplasia (BAH) and obesity. Herein, functional characterization of 13 GR variants is presented (expression and binding studies, transactivation assays, subcellular localization) 6 variants were discovered with next-generation sequencing and had no functional impact on GR signaling while 7 GR loss-of-function mutations were mainly discovered during the National Clinical Hospital Research Program, Muta-GR. This PHRC discloses a 5% prevalence of GR loss-of-function mutations in a cohort of 100 patients with BAH, biological hypercortisolism and/or hypertension without Cushing signs.

A GR haploinsufficiency was demonstrated by a reduced dexamethasone-induced FKBP5 expression in skin fibroblasts of some patients harbouring GR loss-of-function mutations. These patients often presented with hypercorticism, hypokalemia, low renin and aldosterone levels, consistent with a pseudohypermineralocorticoidism. We showed that *HSD11B2* encoding for the 11 $\beta$ -HSD2 enzyme inactivating GC, is a direct GR target gene by transient transfection of reporter gene, RT-qPCR, LC-MS/MS and ChIP. We failed to introduce GR loss-of-function mutations in human preadipocytes and adrenocortical cells by Crispr/Cas 9 technology.

This work should facilitate selection of patients in whom GR mutation may be searched, enabling an appropriate follow-up.

