



HAL
open science

Dmrt1, un gène majeur de la détermination testiculaire et de la fertilité dans les deux sexes chez le lapin

Emilie Dujardin, Maëlle Pannetier, Éric Pailhoux

► **To cite this version:**

Emilie Dujardin, Maëlle Pannetier, Éric Pailhoux. Dmrt1, un gène majeur de la détermination testiculaire et de la fertilité dans les deux sexes chez le lapin. *Médecine/Sciences*, 2024, 40 (3), pp. 238-241. 10.1051/medsci/2024004 . hal-04518053

HAL Id: hal-04518053

<https://hal.science/hal-04518053>

Submitted on 23 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Dmrt1, un gène majeur de la détermination testiculaire et de la fertilité dans les deux sexes chez le lapin

Émilie Dujardin^{1,2}, Maëlle Pannetier^{1,2}, Éric Pailhoux^{1,2}

¹Université Paris-Saclay, Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, INRAE, Biologie de la reproduction, environnement, épigénétique, et développement (BREED), Jouy-en-Josas, France.

²École nationale vétérinaire d'Alfort, BREED, Maisons-Alfort, France.

eric.pailhoux@inrae.fr

DMRT1, le déterminant testiculaire le plus conservé au cours de l'évolution des espèces

Le gène *Dmrt1* (*doublesex and mab-3-related transcription factor 1*) code un facteur de transcription, DMRT1, dont la fonction dans la différenciation testiculaire a été conservée au cours de l'évolution des espèces [1]. Après les descriptions initiales chez la mouche drosophile (gène *doublesex*) et le ver *Caenorhabditis elegans* (gène *mab-3*), on a montré que DMRT1 est le déterminant testiculaire chez le poulet, et donc vraisemblablement chez la plupart des oiseaux. *Dmrt1* est localisé sur le chromosome sexuel Z du poulet, et il est requis en double exemplaire (ZZ) pour déclencher la différenciation des gonades en testicules [2]¹. Des duplications de *Dmrt1* ont par ailleurs été décrites dans deux espèces de poisson (*Oryzias latipes* et *Oryzias curvinotus*), où sa copie sur le chromosome Y devient le déterminant testiculaire (*dmrt1bY* ou *dmy*) [3], et, chez un amphibien (*Xenopus laevis*), un mutant dominant négatif, localisé sur le chromosome W (*DM-W*), devient le déterminant ovarien de cette espèce [4]. *Dmrt1* est également le gène cible des mécanismes épigénétiques déclenchés par la température d'incubation des œufs, qui est à l'origine de la détermination du sexe chez la tortue *Trachemys scripta elegans* [5].

Chez les mammifères, où le déterminant testiculaire est le gène *Sry* (*sex-deter-*

mining region of the Y chromosome), le rôle de *Dmrt1* restait difficile à évaluer du fait de résultats contradictoires selon l'espèce considérée. En effet, l'ablation de *Dmrt1* chez la souris entraîne une infertilité et un dysfonctionnement de la spermatogénèse chez le mâle [1], alors que dans l'espèce humaine, plusieurs mutations de *DMRT1* ont été associées à des inversions de sexe chez des femmes de caryotype 46, XY [6]. Dans notre espèce, *DMRT1* aurait donc conservé un rôle dans la détermination testiculaire.

Dmrt1, le gène responsable de la différenciation testiculaire chez les chèvres XX mâles

Les résultats de nos travaux sur la mutation « sans cornes » chez la chèvre ont montré que la perte de fonction du gène pro-ovarien *Foxl2* (*Forkhead family box L2*) conduit à une différenciation des crêtes génitales en testicules chez les animaux XX, malgré l'absence du gène *Sry* [7, 8]. Dans les gonades XX encore indifférenciées de ces chèvres, l'inactivation de *Foxl2* induit : 1) une surexpression du gène *Dmrt1*, suivie par l'activation du gène pro-testiculaire *Sox9* (*SRY-box transcription factor 9*), conduisant à la différenciation en testicules, et 2) une « inversion » de la stéroïdogénèse fœtale, caractérisée par le remplacement de la production d'œstrogènes par celle d'androgènes de type mâle [9]. Afin d'élucider les rôles respectifs de ces deux conséquences de l'inactivation de *Foxl2* dans la différenciation gonadique anormale des chèvres

mâles XX, nous avons réalisé chez le lapin (un lagomorphe que nous avons choisi comme modèle de mammifère non rongeur) : d'une part, l'invalidation du gène *Cyp19a1* codant l'enzyme P450 aromatasase à l'origine de la production d'œstrogènes, et d'autre part, l'invalidation du gène *Dmrt1*. L'absence d'œstrogènes ovariens fœtaux chez les lapins mutants privés de l'aromatase diminue considérablement la formation des nids ovigères, puis le nombre de follicules primordiaux (réserve d'ovocytes), et conduit à une infertilité des femelles. Néanmoins, ces stéroïdes ne semblent pas impliqués dans le processus d'inversion sexuelle de type mâle XX [10]. Inversement, l'invalidation du gène *Dmrt1* a révélé son rôle primordial dans la différenciation testiculaire chez le lapin [11].

Dmrt1 est exprimé dans les gonades des deux sexes et dans différents types cellulaires

Nous avons d'abord caractérisé les étapes précoces de la différenciation gonadique normale chez le lapin, notamment l'expression des principaux gènes impliqués, dont *Dmrt1* (Figure 1) [11]. Étonnamment, l'expression de *Dmrt1* débute dès les premiers stades de la formation des crêtes génitales, à 12 jours *post-coïtum* (*jpc*), dans les deux sexes. Chez les mâles, elle suit de quelques heures (24 heures au maximum) celle du gène *Sry*. Cette expression précoce de *Dmrt1* concerne uniquement les cellules somatiques des gonades dans les deux

¹ Les chromosomes sexuels des oiseaux sont appelés Z et W. Le caryotype est ZW chez la femelle et ZZ chez le mâle.

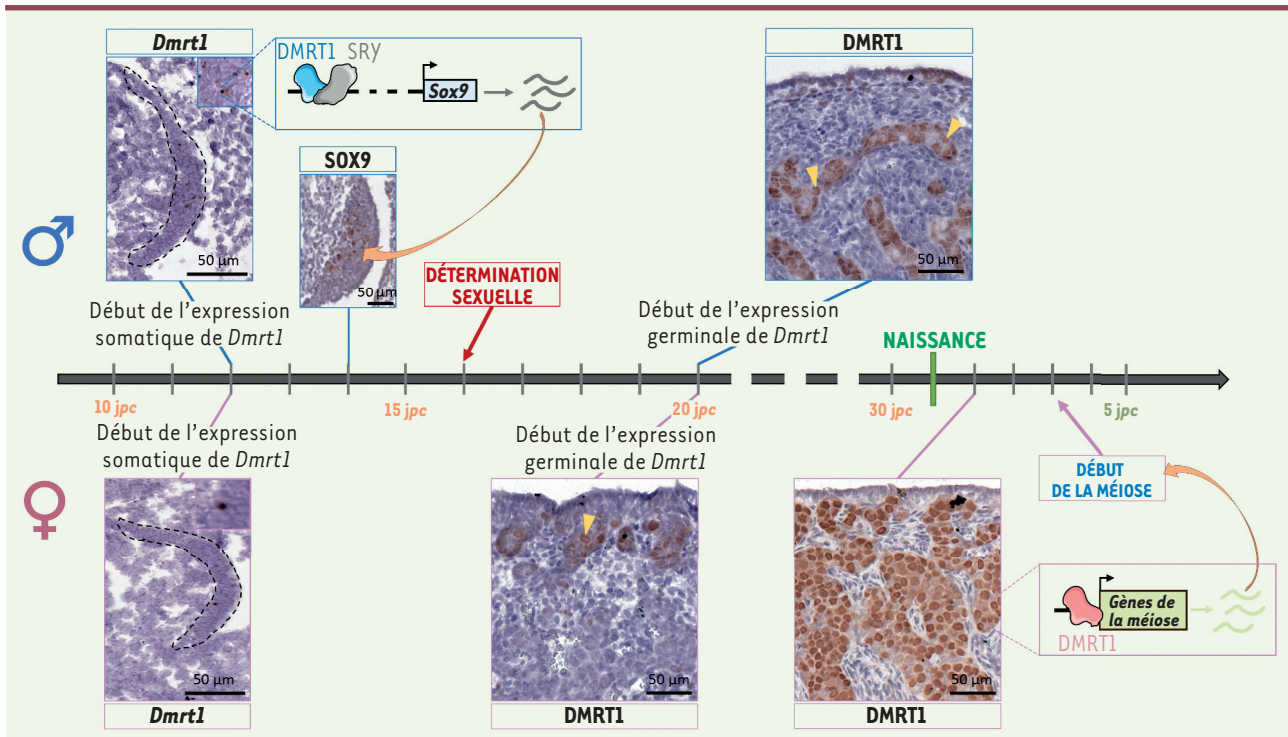


Figure 1. Immunodétection de DMRT1 et schéma de ses différents rôles au cours de la différenciation gonadique chez le lapin. L'expression de *Dmrt1* débute dans les cellules somatiques des futures gonades (crêtes génitales, entourées par un trait pointillé noir) des lapins des deux sexes dès 12 jours de développement embryonnaire (jours post coïtum, jpc). Chez le mâle, cette expression, associée à celle de *Sry*, déclenche celle de *Sox9*, un gène crucial pour la différenciation testiculaire. À partir de 20 jpc, *Dmrt1* commence aussi à être exprimé dans les cellules germinales (têtes de flèche). Alors que chez le mâle, l'expression dans les cellules de Sertoli du testicule persiste toute la vie, chez la femelle, les cellules somatiques de l'ovaire vont progressivement « éteindre » *Dmrt1*, qui ne restera exprimé que dans les cellules germinales jusqu'au début de la formation des follicules. Cette expression de *Dmrt1* dans les cellules germinales des lapines est nécessaire au bon déroulement du processus méiotique après la naissance et à la fertilité.

sexes. Elle va progressivement concerner de plus en plus de cellules, jusqu'à ce que toutes les cellules somatiques expriment ce gène à 15 jpc (Figure 1). *Sox9*, quant à lui, n'est exprimé qu'à partir de 14 jpc, chez le lapin mâle, dans les cellules somatiques médullaires du futur testicule qui co-expriment *Dmrt1* et *Sry*. Ensuite, vers 20 jpc, l'expression de *Dmrt1* débutera dans les cellules germinales des deux sexes (Figure 2A) et s'éteindra dans les cellules somatiques des futurs ovaires. *Dmrt1* restera exprimé dans les cellules de Sertoli² et les spermatogonies des testicules pendant toute la vie des lapins mâles, tan-

² Cellules situées dans l'épithélium des tubes séminifères du testicule. Elles ont une sécrétion endocrine (hormone anti-müllérienne, inhibine) et un rôle nourricier, de soutien et de maturation des cellules de la spermatogenèse.

dis que chez les femelles, son expression dans les cellules germinales des ovaires s'éteindra complètement lors de la prophase I de la méiose, qui a lieu entre 3 et 15 jours après la naissance chez la lapine (Figure 1).

***Dmrt1*, un gène de détermination du testicule chez le lapin**

Conformément à notre hypothèse, l'inactivation du gène *Dmrt1* chez le lapin entraîne une inversion du sexe des individus XY, chez lesquels se développent des ovaires ainsi que des voies génitales de type femelle. En l'absence de DMRT1, aucune cellule de Sertoli ne se différencie dans la crête génitale des fœtus XY, et les marqueurs spécifiques de ces cellules, tels que l'hormone anti-Müllérienne ou la protéine de signalisation

desert hedgehog, ne sont jamais détectés dans leurs gonades (Figure 2B). Les gènes codant ces deux protéines sont des cibles directes du facteur de transcription SOX9, dont l'expression dans ces gonades XY dépourvues de DMRT1 est à peine supérieure à celle, très faible, dans les ovaires normaux (cette légère différence pouvant s'expliquer par l'action du facteur SRY). Ces résultats indiquent que chez le lapin, l'expression physiologique de *Sox9* requise pour la différenciation des cellules de Sertoli nécessite la présence de DMRT1, qui se lie vraisemblablement à des sites de fixation présents dans la région régulatrice du gène *Sox9* chez tous les mammifères, sauf les rongeurs [12]. Cette différence avec les rongeurs concorde avec le fait que DMRT1 est également capable d'induire l'expression de

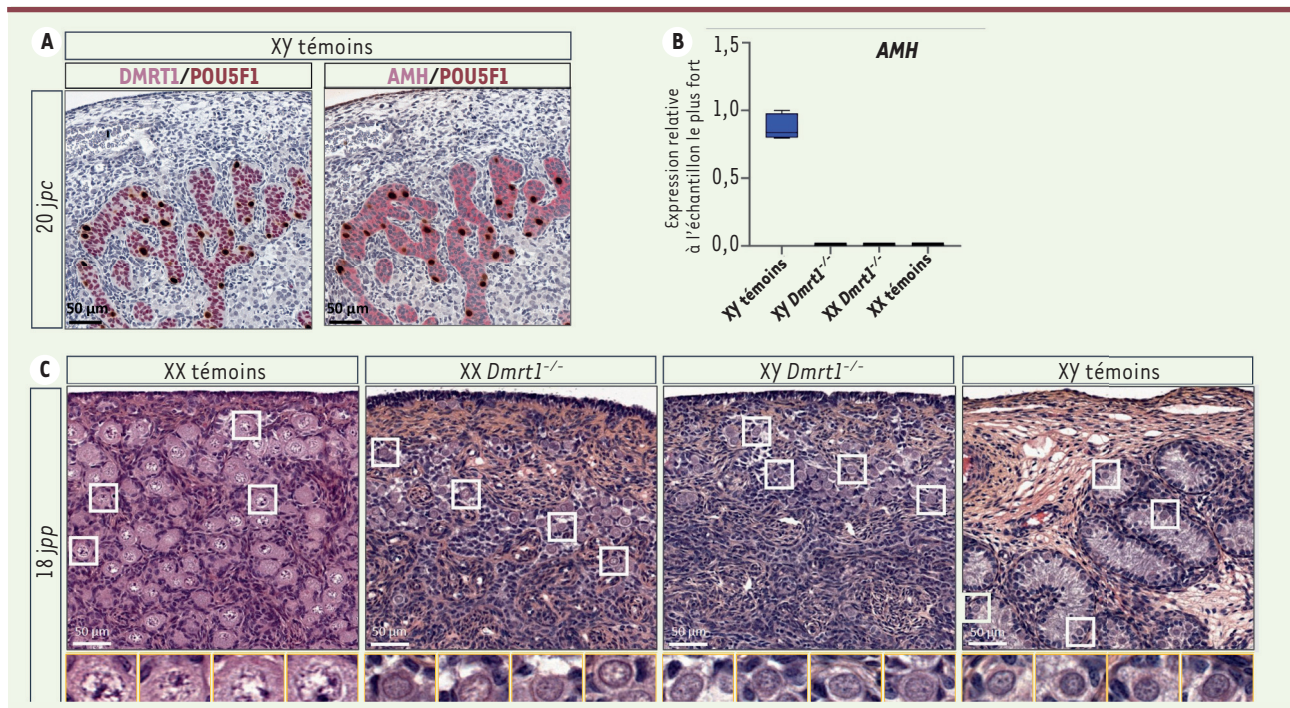


Figure 2. Perturbation de la différenciation testiculaire et de la méiose des cellules germinales femelles en l'absence de DMRT1. A. Co-immunomarquage de POU5F1 (*POU domain, class 5, transcription factor 1*; en brun) et de DMRT1 ou de l'hormone anti-müllérienne (AMH) (en rose) dans des testicules de lapin à 20 jours de développement embryonnaire (jours post coïtum, jpc). B. Expression du gène codant l'AMH par RT-qPCR dans des gonades de lapin de différents génotypes à 20 jpc. L'expression de *Dmrt1* dans les cellules de Sertoli active l'expression de *Sox9*, qui induit à son tour l'expression de ses gènes cibles, dont celui codant l'AMH. Dans les gonades dépourvues de DMRT1, l'expression du gène de l'AMH n'est pas déclenchée. C. Histologie des gonades de lapins de différents génotypes 18 jours après la naissance (jours post-partum, jpp). Les cellules germinales des gonades dépourvues de DMRT1 n'entrent pas en méiose, et restent regroupées en nids ovigères.

Sox9 et la différenciation testiculaire chez les chèvres XX sans cornes, qui sont dépourvues du gène *Sry* [9].

***Dmrt1*, un gène clé de la fertilité femelle chez la lapine**

En plus de l'inversion du sexe chez les individus XY, l'inactivation du gène *Dmrt1* chez le lapin a également révélé le rôle clé de DMRT1 dans la différenciation ovarienne, et plus spécifiquement, dans l'entrée en méiose des cellules germinales femelles après la naissance [11]. En effet, les cellules germinales ovariennes des individus *Dmrt1*^{-/-} XX ou XY n'entrent pas en méiose; elles restent groupées au sein des nids ovigères, et la formation des follicules ovariens qui suit la rupture des nids ne se produit pas (Figure 2C). Chez ces individus *Dmrt1*^{-/-}, des cellules germinales sont encore visibles 18 jours après la naissance (Figure 2C), mais elles disparaissent

ensuite et sont totalement absentes au moment de la puberté, à partir de 5 mois, ce qui rend ces animaux totalement infertiles. Les cibles du facteur DMRT1 et son rôle exact dans le processus de méiose chez la femelle restent à préciser. Ce rôle semble conservé au moins chez les oiseaux car un phénotype similaire de blocage pré-méiotique a été décrit chez les poules ZW dépourvues de DMRT1 [2].

Conclusion

L'inactivation du gène *Dmrt1* chez le lapin, en tant que modèle de mammifère non rongeur, a permis de mettre en lumière différentes fonctions de ce gène auparavant mal connues, car non conservées dans les espèces murines (et vraisemblablement chez les autres rongeurs). En plus de son rôle de déterminant testiculaire en tant qu'activateur majeur du gène *Sox9*, DMRT1 est également, chez le lapin, un facteur

clé de la différenciation ovarienne et de la fertilité dans les deux sexes (Figure 1). Par ailleurs, le dosage génique de *Dmrt1*, critique pour la détermination du sexe gonadique chez les oiseaux, joue également un rôle important chez le lapin puisque les mâles hétérozygotes pour la mutation de *Dmrt1*, qui sont en situation d'haploinsuffisance pour ce gène, ont une infertilité secondaire par arrêt de la spermatogénèse vers l'âge de deux ans. Ces différentes anomalies phénotypiques constatées chez le lapin laissent supposer que des mutations de DMRT1 pourraient être à l'origine de certaines maladies humaines de la reproduction, telles que l'insuffisance ovarienne et l'azoospermie, en plus d'être impliquées dans l'inversion du sexe chez certaines femmes de caryotype 46, XY. ♦ ***Dmrt1* is a major gene for testicular determination and for male and female fertility in rabbits**

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Zarkower D, Murphy MW. DMRT1 : an ancient sexual regulator required for human gonadogenesis. *Sex Dev* 2022 ; 16 : 112-25.
2. Ioannidis J, Taylor G, Zhao D, et al. Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021 ; 118 : e2020909118.
3. Martinez-Bengochea AL, Kneitz S, Herpin A, et al. Sexual development dysgenesis in interspecific hybrids of *Medaka* fish. *Sci Rep* 2022 ; 12 : 5 408.
4. Yoshimoto S, Okada E, Umemoto H, et al. A W-linked DM-domain gene, DM-W, participates in primary ovary development in *Xenopus laevis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 2 469-74.
5. Ge C, Ye J, Weber C, et al. The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species. *Science* 2018 ; 360 : 645-8.
6. Murphy MW, Lee JK, Rojo S, et al. An ancient protein-DNA interaction underlying metazoan sex determination. *Nat Struct Mol Biol* 2015 ; 22 : 442-51.
7. 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.
8. Boulanger L, Pannetier M, Gall L, et al. FOXL2 is a female sex-determining gene in the goat. *Curr Biol* 2014 ; 24 : 404-8.
9. Elzaïat M, Jouneau L, Thépot D, et al. High-throughput sequencing analyses of XX genital ridges lacking FOXL2 reveal DMRT1 up-regulation before SOX9 expression during the sex-reversal process in goats. *Biol Reprod* 2014 ; 91 : 153.
10. Jolivet G, Daniel-Carlier N, Harscoët E, et al. Fetal estrogens are not involved in sex determination but are critical for early ovarian differentiation in rabbits. *Endocrinology* 2022 ; 163 : bqab210.
11. Dujardin E, André M, Dewaele A, et al. *Dmrt1* is a testis-determining gene in rabbits and is also essential for female fertility. *Elife* 2023 ; 12 : RP89284.
12. Gonen N, Futtner CR, Wood S, et al. Sex reversal following deletion of a single distal enhancer of *Sox9*. *Science* 2018 ; 360 : 1 469-73.

