

L'hormone anti-müllérienne.

par Nathalie JOSSO, J. Y. PICARD, Dien TRAN

Unité de Recherches de Génétique Médicale INSERM
Hôpital des Enfants malades
149, rue de Sèvres, 75730 Paris cedex 15.

Summary. *Anti-müllerian hormone.*

Anti-müllerian hormone (AMH) is synthesized by Sertoli cells essentially during fetal life, but residual anti-müllerian activity could also be demonstrated in rete testis fluid. AMH is a glycoprotein of 124 000 MW with a 72 000 sub unit.

L'hormone anti-müllérienne (AMH) est la substance responsable de la régression des canaux de Müller chez le fœtus mâle. Comme l'ont montré Wolff (1946) et Jost (1947), cette substance est élaborée par le testicule fœtal dont l'ablation entraîne le maintien des canaux de Müller et leur différenciation en trompes, utérus et partie supérieure du vagin. Cependant, alors que Wolff et son école (Wolff, Lutz-Ostertag et Haffen, 1952) considéraient que le facteur responsable de la régression müllérienne n'est autre que la testostérone, Jost (1947) soutint l'opinion inverse. Le résultat de nos recherches vient appuyer la théorie de la dualité de la sécrétion testiculaire fœtale, proposée par cet auteur.

Le canal de Müller n'est sensible à l'action de l'AMH que pendant une période très limitée de son développement — avant 8 semaines chez le fœtus humain, par exemple. Les études *in vivo* sont donc techniquement très difficiles. La démonstration par Picon (1969) de la possibilité de mettre en évidence l'activité anti-müllérienne *in vitro* en exposant, en culture organotypique, les tractus génitaux de fœtus de rat de 14 jours 1/2, à l'action de l'hormone, a été le point de départ d'un regain d'intérêt pour l'AMH et a permis d'aborder son étude dans de bonnes conditions. En pratique, la technique que nous utilisons à l'heure actuelle est dérivée directement de la méthode de Picon (1969) : le degré de régression des canaux de Müller est apprécié après 3 jours de culture sur des coupes sériées et codées. Trois stades sont reconnus : inhibition complète, incomplète et absente (Josso, Forest et Picard, 1975). Nous nous intéresserons plus particulièrement à la chronologie de la sécrétion de l'AMH et à sa nature biochimique. Une revue plus générale a été publiée récemment (Josso, Picard et Tran, 1977).

L'AMH est synthétisée par les cellules de Sertoli du testicule fœtal (Josso, 1973, 1974 ; Blanchard et Josso, 1974 ; Price, 1979). L'activité anti-müllérienne du testicule

foetal devient décelable, chez le foetus de Porc, au moment où se différencient les tubes séminifères, c'est-à-dire avant l'apparition des cellules de Leydig dans le tissu interstitiel (Tran, Meusy-Dessolle et Josso 1977). Cette activité décline et disparaît au cours de la période post-natale, par exemple chez le rat, l'activité diminue dès le 5^e jour qui suit la naissance et disparaît à 3 semaines (Picon, 1970). Comme l'ont montré récemment Josso *et al.* (1979) la diminution de l'activité anti-müllérienne testiculaire est la conséquence directe de la diminution de la biosynthèse de l'AMH par la cellule de Sertoli et ne provient pas de la mise en place de la barrière hémotesticulaire qui empêche les protéines synthétisées par les cellules de Sertoli de diffuser au-dehors des tubes séminifères. Cependant, la cellule de Sertoli adulte continue de synthétiser une quantité minimale d'AMH, qui peut être mise en évidence dans le liquide du rete testis concentré.

L'AMH est une glycoprotéine (Picard, Tran et Josso, 1978). Elle a été purifiée partiellement à partir du milieu d'incubation de testicule de foetus de veau, par gel filtration et chromatographie par échange d'ions. L'addition de fucose radio-actif au milieu d'incubation permet de marquer électivement l'AMH dans ce milieu semi-purifié, et donc d'en déterminer les paramètres biochimiques qui sont les suivants :

Poids moléculaire par gel filtration	215 000 daltons
Poids moléculaire par sédimentation	124 000 daltons
Poids moléculaire par SDS-PAGE	123 000 daltons
Poids moléculaire par SDS-PAGE (sous-unité)	72 000 daltons
Coefficient de sédimentation	6,5 S
Point isoélectrique	6,0

Nous avons obtenu des anticorps en immunisant des lapines avec le milieu semi-purifié provenant du milieu d'incubation de testicules de foetus de veau. Ces anticorps bloquent l'activité anti-müllérienne de ce milieu semi-purifié et précipitent l'hormone marquée. Des anticorps dirigés contre du milieu d'incubation provenant de testicules de Taureau ne possèdent aucune de ces deux propriétés. Ces résultats confirment l'identité de la protéine marquée et de l'AMH biologiquement active. Malheureusement, les anticorps obtenus sont loin d'être mono-spécifiques et réagissent avec les nombreux contaminants présents dans le milieu semi-purifié. D'autres méthodes devront être employées pour parfaire la purification de l'hormone.

*Présenté au Colloque D. G. R. S. T. de Port Bail,
27 février-1^{er} mars 1979.
Accepté en août 1979.*

Références

- BLANCHARD M. G., JOSSO N., 1974. Source of the anti-müllerian hormone synthesized by the fetal testis. Müllerian inhibiting activity of fetal bovine Sertoli cells in tissue culture. *Pediat. Res.*, **8**, 968-971.
- JOSSO N., 1973. *In vitro* synthesis of müllerian-inhibiting hormone by seminiferous tubules isolated from the calf fetal testis. *Endocrinology*, **93**, 829-834.
- JOSSO N., 1974. Müllerian-inhibiting activity of human fetal testicular cells deprived of germ cells by *in vitro* irradiation. *Pediat. Res.*, **8**, 755-758.
- JOSSO N., FOREST M. G., PICARD J. Y., 1975. Müllerian-inhibiting activity of calf fetal testes : relationship to testosterone and protein synthesis. *Biol. Reprod.*, **13**, 163-167.

- JOSSO N., PICARD J. Y., DACHEUX J. L., COUROT M., 1979. Detection of anti-müllerian activity in boar rete testis fluid. *J. Reprod. Fert.*, **57**, 397-400.
- JOSSO N., PICARD J. Y., TRAN D., 1977. The anti-müllerian hormone. *Rec. Progr. Hormone Res.*, **33**, 117-160.
- JOST A., 1947. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. III. Rôle des gonades fœtales dans la différenciation sexuelle somatique. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **36**, 271-315.
- PICARD J. Y., TRAN D., JOSSO N., 1978. Biosynthesis of labelled anti-müllerian hormone by fetal testes : evidence for the glycoprotein nature of the hormone and for its disulfide-bonded structure. *Mol. cell. Endocrinol.*, **12**, 17-30.
- PICON R., 1969. Action du testicule fœtal sur le développement *in vitro* des canaux de Müller chez le rat. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **58**, 1-19.
- PICON R., 1970. Modifications, chez le rat, au cours du développement du testicule, de son action inhibitrice sur les canaux de Müller *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Paris, sér. D*, **271**, 2370-2372.
- PRICE J. M., 1979. The secretion of Müllerian inhibiting substance by cultured isolated Sertoli cells of the neonatal calf. *Amer. J. Anat.*, **156**, 147-158.
- TRAN D., MEUSY-DESSOLLE N., JOSSO N., 1977. Anti-müllerian hormone is a functional marker of fœtal Sertoli cells. *Nature*, **269**, 411-412.
- WOLFF E., 1946-1947. Recherches sur l'intersexualité expérimentale produite par la méthode des greffes de gonades à l'embryon de poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **36**, 69-90.
- WOLFF E., LUTZ-OSTERTAG Y., HAFFEN K., 1952. Sur la régression et la nécrose *in vitro* des canaux de Müller d'embryon de poulet sous l'effet de substances hormonales. *C. R. Soc. Biol. Paris*, **146**, 1793-1795.
-