

Analisi molecolare del gene della proteina di regolazione acuta della steroidogenesi (*StAR*) negli incidentalomi surrenalici

Stefania CAIOLA (a), Antonio STIGLIANO (a), Ettore MAROCCIA (a)
e Vincenzo TOSCANO (b)

(a) Laboratorio di Biochimica Clinica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) II Endocrinologia, Dipartimento di Fisiopatologia Medica,
Università degli Studi "La Sapienza", Roma

Riassunto. - La proteina di regolazione acuta della steroidogenesi (*StAR*) è indispensabile nel meccanismo della steroidogenesi. Il suo ruolo è quello di permettere l'ingresso del colesterolo dal citoplasma all'interno dei mitocondri. Mutazioni del gene *StAR* sono implicate nell'iperplasia surrenalica lipoidea congenita. Gli incidentalomi surrenalici sono neoformazioni del surrene frequentemente scoperte durante l'esecuzione di esami radiologici, effettuati per problematiche diagnostiche diverse. Poiché sovente negli incidentalomi si osservano difetti della steroidogenesi, è possibile ipotizzare il coinvolgimento di alterazioni del gene *StAR* nella loro eziologia. In questo lavoro è stata studiata la presenza di mutazioni del gene *StAR* in queste neoplasie. L'analisi mutazionale del gene *StAR*, condotta su 32 tumori surrenalici, ha evidenziato una mutazione *missense* nell'esone V del gene di uno dei tumori esaminati. Questa è la prima evidenza di una alterazione del gene *StAR* negli incidentalomi surrenalici.

Parole chiave: incidentalomi surrenalici, proteina di regolazione acuta della steroidogenesi (*StAR*).

Summary (*Molecular analysis of StAR gene in adrenal incidentalomas*). - The steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*) plays an essential role in steroidogenesis, facilitating cholesterol entry into the inner compartment of mitochondria. Mutations (either transitions or transversions) of *StAR* gene have been described as a cause of lethal forms of congenital lipoid adrenal hyperplasia. Adrenal incidentalomas are frequently discovered during radiologic examinations performed in patients with diagnosis for other diagnostic problems. Enzymatic defects along the steroidogenetic cascade are observed with high frequency in these patients. Aim of the present study was to assess the involvement of alteration of the *StAR* gene in incidentally discovered adrenal masses (incidentalomas). The mutational analysis of 32 incidentalomas demonstrated a "missense" mutation in exon five of the gene in one of the tumors analysed. This is the first evidence of an alteration of the *StAR* gene in adrenal incidentalomas.

Key words: adrenal incidentalomas, steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*).

Introduzione

Per incidentaloma surrenalico si intende una massa, riscontrata casualmente durante un'esplorazione chirurgica o attraverso l'esecuzione di metodiche di diagnostica per immagini come la tomografia computerizzata (TC), la risonanza magnetica nucleare (RMN) e l'ultrasonografia, effettuate per motivi differenti da quelli di un sospetto di una patologia surrenalica. Dalle ultime due decadi, gli incidentalomi surrenalici rappresentano un problema clinico frequente. Poiché un numero sempre maggiore di persone viene sottoposto ad esami strumentali non invasivi, la diagnosi di queste forme è destinata ad aumentare [1]. Per questo motivo, Griffing ha denominato, in modo provocatorio, questa situazione A-I-D-S: *adrenal incidentaloma discovered serendipitously* paragonabile ad una nuova forma epidemica endocrina [2]. La prevalenza degli inciden-

talomi riscontrati con la TC dell'addome varia nelle differenti casistiche dall'1% al 5% dei soggetti esaminati, mentre è di circa il 10% nei reperti autoptici [3]. Nella maggior parte dei casi, gli incidentalomi surrenalici sono rappresentati da adenomi benigni clinicamente non ipersecernenti (70-90%) (Tab.1), sebbene una alterazione dell'attività steroidogenetica sia stata riscontrata in studi condotti sia *in vivo* che *in vitro* [4]. Statisticamente non è riportata differenza di sesso, anche se nella nostra casistica le donne sono in numero maggiore. La frequenza degli incidentalomi surrenalici aumenta con l'età, osservandosi infatti un picco di incidenza compreso tra la quinta e la sesta decade di vita. La lesione interessa quasi sempre una ghiandola surrenalica, mentre nell'11-16% dei casi è bilaterale.

Spesso questi "tumori clinicamente silenti", nascondono una forma frusta di iperfunzione surrenalica che impone il disegno di un corretto *iter* diagnostico ed

Tabella 1. - Incidentaloma surrenalico: prevalenza di diverse forme patologiche

Forme patologiche	%
Adenomi surrenalici non ipersecernenti	67,0
Tumori ipersecernenti	
Feocromocitomi	3,8
Aldosteronomi	1,4
Adenomi cortisolo-secernenti	8,4
Tumori maligni	4,0
Altre masse surrenaliche	
Cisti	1,5
Mielolipomi	2,7
Metastasi	
Pazienti non oncologici	1,6
Altro	9,6

un opportuno approccio terapeutico alla problematica [5]. Una massa surrenalica può essere di origine neoplastica maligna (adenoma, carcinoma, feocromocitoma, metastasi di un carcinoma primitivo) o benigna (lipoma, mielolipoma, emangioma, linfangioma, ganglioneuroma); iperplastica, legata ad un deficit enzimatico della steroidogenesi, determinando una iperplasia surrenalica bilaterale; cistica; calcifica, caratteristica di un tumore surrenalico maligno, di un feocromocitoma o anche di lesioni infettivo-infiltrative come la tubercolosi, l'istoplasmosi, l'emocromatosi, la sarcoidosi, ecc.; vasculopatica, sostenuta da una emorragia surrenale, conseguenza di una terapia anticoagulante, da una sepsi, da un trauma, da una ustione, da un intervento chirurgico o da una gravidanza complicata (Tab. 2). La diagnosi di queste formazioni oltre che della TC e della RMN, si avvale anche della scintigrafia con iodocolesterolo per la diagnosi differenziale tra adenoma e carcinoma e della scintigrafia con metaiodobenzilguanidina (MIBG) per la diagnosi di feocromocitoma. Le indagini di laboratorio sono basate sui dosaggi plasmatici ed urinari dei corticosteroidi e delle catecolamine, sulla determinazione degli elettroliti sierici e della attività reninica plasmatica, sui test di soppressione con basse dosi di desametasone e di stimolo con *corticotropin releasing hormone* (CRH). Una discreta percentuale di pazienti presenta vari gradi di anomalie dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, per esempio valori di cortisolo libero urinario (CLU) ai limiti alti del *range* di normalità o lievemente elevati, assenza del ritmo circadiano del cortisolo, ridotta soppressione alla somministrazione di desametasone a basse dosi, bassi valori di ACTH basali, mancata risposta allo stimolo con CRH [6]. Un'altra caratteristica peculiare nei pazienti con incidentaloma surrenalico è l'alta prevalenza (dal 17% al 71%) di una esagerata risposta del 17/ OH progesterone dopo stimolo con ACTH [3].

Spesso i pazienti affetti da deficit di 21 idrossilasi, sono portatori di una massa surrenalica documentabile con una TC dell'addome: masse di dimensioni superiori ai 5 mm di diametro sono state riscontrate in 18 su 22 soggetti omozigoti ed in 9 su 20 soggetti portatori del deficit in condizioni di eterozigosi. Da questa osservazione è stato proposto di effettuare un test all'ACTH in tutti i pazienti portatori di incidentaloma surrenalico, allo scopo di diagnosticare un deficit surrenalico congenito. Ma nella maggior parte dei casi, dopo l'intervento di surrenlectomia l'iperrisposta del 17/ OH progesterone dopo test all'ACTH, presente nei tumori non ipersecernenti e nelle sindromi pre-Cushing si normalizza. Per tale motivo, questo particolare *pattern* ormonale non rappresenta un *marker* di disordine enzimatico congenito che evolve con la formazione di noduli surrenalici (come si verifica nel deficit congenito della 21 idrossilasi), ma costituisce il segnale di una alterazione della steroidogenesi intratumorale.

Particolarmente significative, sulla scorta dell'esperienza accumulata su una casistica sempre più crescente dal 1980 ad oggi, sembrano essere le dimensioni dell'incidentaloma e l'aumento dei valori plasmatici di deidroepiandrosterone solfato (DHEAS). Il diametro della lesione è un importante parametro di malignità; il rischio aumenta con l'aumentare delle dimensioni, anche se meno frequentemente sono stati riscontrati carcinomi di 2,5 cm.

Le masse di grandi dimensioni sono più frequentemente maligne; infatti la prevalenza del carcinoma silente è inferiore ad 1/250 000, mentre quella degli adenomi con dimensioni superiori ai 6 cm è di circa 1/4000. Il volume dei tumori surrenalici, specialmente se inferiore ai 6 cm è frequentemente sottostimato dalla TC: 32% delle lesioni maggiori di 6 cm, 47% di quelle inferiori ai 6 cm. Le dimensioni "soglia" per porre sospetto di malignità variano nelle diverse casistiche, dai 3 ai 6 cm. Un limite ritenuto considerevolmente ragionevole da noi e da altri autori è quello di 4 cm [7].

Tabella 2. - Incidentaloma surrenalico: classificazione**Corteccia surrenalica**

Adenoma, iperplasia nodulare, carcinoma

Midollare del surrene

Feocromocitoma, ganglioneuroma, neuroblastoma

Metastasi al surrene o linfoma primitivo**Altre masse**

Lipoma, mielolipoma, neurofibroma, schwannoma maligno, emangioma, leiomioma, leiomiosarcoma, angiosarcoma, teratoma, cisti, echinococchi, criptococchi, amiloidosi, ematoma, granuloma

Masse pseudo-surrenaliche

Possono originare dal rene, pancreas, milza, stomaco, fegato, linfonodi, vasi sanguigni

Riconoscendo al diametro del tumore un valore altamente predittivo di malignità, è comunque importante analizzare le caratteristiche radiologiche delle lesioni, poiché infatti molte formazioni del surrene possono presentare dimensioni sovrapponibili, come ad esempio il mielolipoma, massa surrenalica costituita da tessuto adiposo, o le emorragie e le necrosi intratumorali [8]. Purtroppo le caratteristiche radiologiche della TC e della RMN non sono ancora capaci di discriminare una lesione benigna da una maligna [9].

Poiché negli incidentalomi è presente una alterazione della steroidogenesi, si è ipotizzato un coinvolgimento della proteina di regolazione acuta della steroidogenesi (StAR) in queste forme. La StAR è una fosfoproteina ACTH-indotta, identificata per la prima volta in cellule surrenaliche di ratto in sospensione. La sua presenza è stata dimostrata ormai in tutte le cellule dotate di attività steroidogenetica, fatta eccezione per quelle della placenta [10, 11]. Il gene di *StAR* è stato clonato da Sugawara e Strauss nel 1995. Esso è localizzato sul cromosoma 8, ed è costituito da sette esoni e da sei introni [12], che codificano per una proteina dotata di una breve emivita plasmatica (circa 5 m'), localizzata nei mitocondri nella sua forma matura di 30 kDa. Essa viene sottoposta ad una serie di modificazioni post-traduzionali a partire da precursori citosolici del peso molecolare di 37 e 32 kDa rispettivamente [10]. Il ruolo di StAR consiste nel permettere, attraverso meccanismi non ancora completamente chiariti, che coinvolgono altre proteine localizzate sulle membrane mitocondriali, quali la porina, l'adenilato, il recettore periferico delle benzodiazepine (PBr) e la GTP-binding protein, il passaggio del colesterolo dal compartimento citoplasmatico sulla membrana mitocondriale interna, dove sono posti gli enzimi deputati alla sintesi degli steroidi [13-15]. Appare chiaro, a questo punto, come la proteina StAR, rappresenti la tappa limitante per l'inizio del meccanismo steroidogenico [16,17]. A conferma di ciò, è stato dimostrato che mutazioni del tipo delle transizioni o delle transversioni del gene di *StAR*, capaci di introdurre un codone di stop nel *frame* di lettura, producono una proteina tronca, quindi inattiva dal punto di vista funzionale [18,19] che, impedendo l'ingresso del colesterolo nel mitocondrio non permette una adeguata steroidogenesi. Tale condizione patologica, nota come "iperplasia surrenalica lipoidea congenita", è letale e si manifesta precocemente in epoca neonatale. Essa deve essere diagnosticata alla nascita e richiede la somministrazione di terapia ormonale steroidea sostitutiva [10, 15, 20].

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 32 incidentalomi surrenalici, comprendenti varianti istologiche e morfologiche diverse. In particolare sono stati studiati in cieco, 17 adenomi corticali, 14 carcinomi e 1

feocromocitoma, asportati da pazienti di età compresa tra 17 e 69 anni (età media 43 ± 2 anni). Sui pezzi anatomici a nostra disposizione, abbiamo effettuato l'estrazione del DNA in doppio, utilizzando la metodica che prevedeva l'utilizzazione del fenolo/cloroformio e il kit "QIAGEN DNA *Extraction tissue*". Il DNA estratto è stato quantizzato mediante lettura spettrofotometrica e successiva analisi qualitativa su gel di agarosio al 2%. L'analisi molecolare del gene *StAR* è stata eseguita con il metodo della *polimerase chain reaction* (PCR). A questo proposito abbiamo costruito sette coppie di primers intronici in corrispondenza della giunzione introne-esone, capaci di individuare ciascun esone del gene. In particolare:

- per l'esone I (oligonucleotide senso: 5' -AGG CTG CAG CTG CGG GACTCA GAG G - 3'; oligonucleotide anti-senso: 5' -TCG CCT CCT TCC CGC AGC GCT CAC - 3');

- per l'esone II (oligonucleotide senso: 5' -AAC AAG GGT TAT TCC CTT CTG CAG - 3'; oligonucleotide anti-senso: 5' - GAG CCC AGA AGC CTC AGC ACT TAC - 3');

- per l'esone III (oligonucleotide senso: 5' - GTC TCT CCT CGG CTG TGT ATC CAG - 3'; oligonucleotide antisenso : 5' - CAC AGG CTT CTC CCC GAC ACT TAC - 3');

- per l'esone IV (oligonucleotide senso: 5' - TCT GGG GGC TCC TTT CTC TGA CAG - 3'; oligonucleotide anti-senso: 5' - CAC CCG CAC CTG GAC TTT GCT CAC - 3');

- per l'esone V (oligonucleotide senso: 5' - TTC TGG TTC CCC ATG GCC TGG TAG - 3'; oligonucleotide anti-senso : 5' - GTT TGG AGC CTG CTG CCC GTA TTA C - 3');

- per l'esone VI (oligonucleotide senso: 5' - GAC TTG ACT TGC TCC ATT TGC CAG - 3'; oligonucleotide anti-senso: 5' - AGG TCC CCC TCC CAT GCC CTT CAC - 3');

- per l'esone VII (oligonucleotide senso: 5' - AAA TTC TCC TAC CTC CTA CTG CAG - 3'; oligonucleotide anti-senso: 5' - CCA GTG CAG CTG GGC ACA GTT GG - 3').

La messa a punto e l'ottimizzazione della reazione di amplificazione è stata eseguita su DNA estratto dalle cellule del sangue periferico di soggetti donatori. Tutti gli esoni sono stati amplificati ad una temperatura di *annealing* di 60 °C, fatta eccezione per l'esone VI, per cui è stato individuato un appaiamento ottimale dei primers a 58 °C. Per tutti comunque la reazione è stata ripetuta per 35 cicli. La concentrazione del MgCl₂ utilizzata è stata di 2,5 mM. Ogni coppia di primers è stata impiegata alla concentrazione di 5 pmol/μl.

Successivamente, abbiamo eseguito per ogni campione l'amplificazione di tutti e sette gli esoni del gene *StAR* mediante *single stranded conformation polymorphism*-PCR (SSCP-PCR), utilizzando nella reazione di amplificazione la desossicitosina trifosfato

marcata con il ^{32}P . I prodotti della reazione sono stati analizzati su gel di MDE alla temperatura di 4°C per una durata di quattro ore. Ogni gel è stato sottoposto a disidratazione su opportuna piastra aspirante (*gel dry*), alla temperatura di 80°C per 45 minuti circa. Subito dopo questa procedura il gel veniva esposto in cassetta radiografica alla temperatura di -80°C per un tempo minimo di 48 ore. La radioattività dei campioni è stata rivelata tramite autoradiografia. Infine sono stati sottoposti a sequenziamento tutti i campioni che all'SSCP-PCR hanno mostrato la presenza di bande anomale.

Risultati

La Fig. 1 illustra l'amplificazione dei sette esoni del gene *StAR*. La mobilità elettroforetica dei prodotti di amplificazione degli esoni del gene, corrisponde al loro peso molecolare, in particolare: 203 bp per l'esone I, 114 bp per l'esone II, 126 bp per l'esone III, 159 bp per l'esone IV, 185 bp per l'esone V, 94 bp per l'esone VI e 113 bp per l'esone VII. L'elettroforesi mediante SSCP-PCR, ha rivelato delle bande anomale in 6 dei 32 campioni studiati. In particolare, presentavano bande anomale: un campione nell'esone V, tre campioni nell'esone VI e due nell'esone VII. E' necessario segnalare che l'alto contenuto in basi pirimidiniche guanina e citosina (il 60% circa) presenti nella sequenza

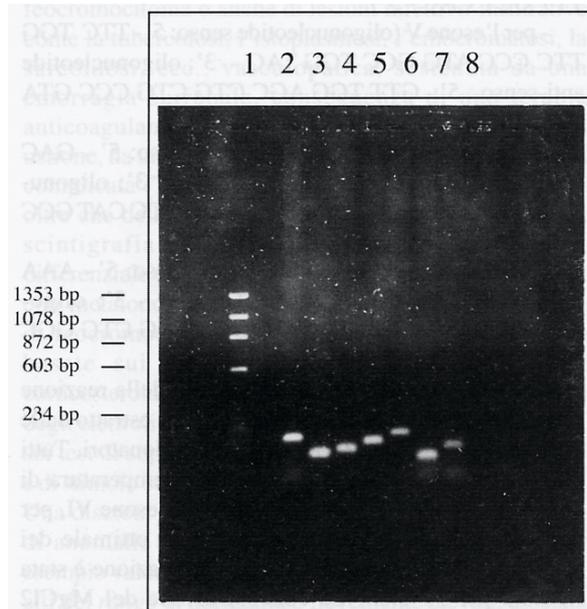
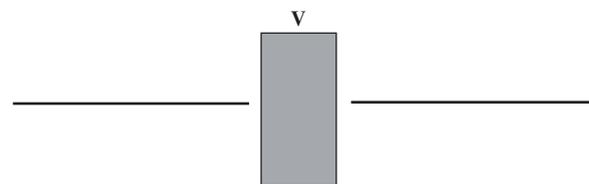


Fig. 1. - Gel di agarosio al 2% che visualizza i prodotti di polimerase chain reaction (PCR) corrispondenti alla amplificazione dei sette esoni del gene *StAR* dopo 3 ore di corsa elettroforetica al voltaggio di 70V. Nella corsia contrassegnata con il numero 1 è visualizzato il marker \blacklozenge X 174. Nelle corsie da 2 a 8 sono visibili rispettivamente gli esoni del gene di *StAR*.

del DNA amplificato, rende più difficile l'analisi del *pattern* di bande atteso in SSCP. Questo inconveniente potrebbe essere responsabile di una sottostima delle mutazioni presenti. L'analisi di sequenza a cui sono stati sottoposti i 6 campioni sospetti ha dimostrato la presenza di una mutazione *missense* in omozigosi (GAC in GCC) (Fig. 2), solo nel campione con banda anomala nell'esone V. Tale mutazione è responsabile della sostituzione dell'acido aspartico con l'aminoacido alanina in posizione 203 (Asp 203 Ala). Il campione "mutato" corrispondeva istologicamente ad un adenoma corticale del surrene del diametro di 4 cm, asportato chirurgicamente in una paziente di sesso femminile di 55 anni di età.

Esone V del gene di *StAR*



GenBank gi: 4507250

203
Gly Met **Asp** Thr Asp Phe
...GGC ATG **GAC** ACA GAC TTC

Mutazione

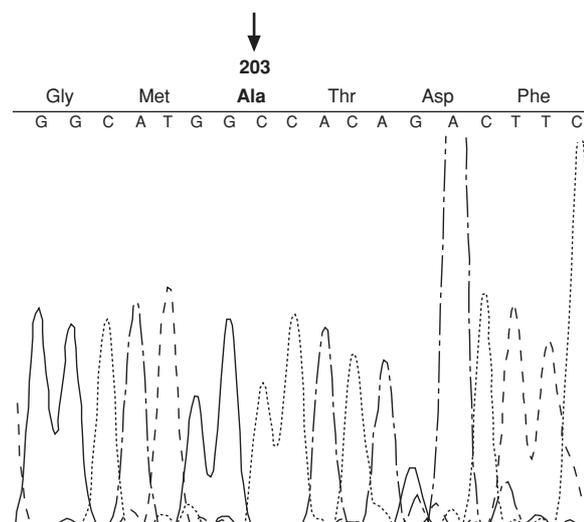


Fig. 2. - Rappresentazione schematica dell'esone 5 del gene di *StAR*. Paragone della sequenza depositata in Gen Bank (gi: 4507250) e di quella recante la mutazione. In particolare l'elettroferogramma mostra la transversione di A con C nell'esone V del campione n. 9. Questa mutazione comporta la sostituzione dell'acido aspartico con l'alanina nel codone 203 (Asp203Ala), come indicato dalla freccia.

Discussione

I meccanismi patogenetici che conducono alla formazione dell'incidentaloma sono tuttora molto poco conosciuti. Statisticamente, non tutti gli incidentalomi hanno una natura neoplastica, anzi considerando la genesi *ab origine*, questa è legata a fenomeni di tipo infiammatorio-iperplastico. Questo dato è suffragato dall'osservazione che numerose masse surrenaliche conservano le loro dimensioni e caratteristiche assolutamente non sospette nel corso del tempo. Solo alcune di esse, successivamente, assumono un atteggiamento morfologico-funzionale di tipo invasivo. Le ipotesi che si propongono di spiegare la trasformazione neoplastica sono numerose. Le più accreditate chiamano in causa oncogeni ed antioncogeni, la cui attivazione e/ o disattivazione "patologica" sarebbe responsabile del fenomeno neoplastico. Finora l'attenzione dei ricercatori è stata incentrata principalmente sulla trasduzione del segnale ormonale e sul ruolo di alcuni fattori di crescita, per esempio l'*insulin growth factor II* (IGF-II) [21]. E' stato dimostrato un loro coinvolgimento solo nelle fasi avanzate della neoplasia, mentre rimane da chiarire il meccanismo originario che porta alla formazione dell'incidentaloma surrenalico. Il nostro interesse è stato così rivolto ai meccanismi post-recettoriali, successivi alla trasduzione del segnale. Abbiamo identificato nella proteina di regolazione acuta della steroidogenesi un ottimo modello per lo studio dei meccanismi patogenetici precedenti al cancro, cioè al primo momento eziopatogenetico che innesca una sequela di azioni che conducono alla iperplasia cellulare.

I risultati ottenuti in questo studio, che si riferiscono ad un numero relativamente esiguo di campioni, dimostrano per la prima volta che in alcuni incidentalomi surrenalici il gene *StAR* può essere mutato. Quanto questa mutazione possa essere importante nell'induzione di un'alterazione funzionale della steroidogenesi e nella formazione di una massa surrenalica deve essere confermato da studi ulteriori. Studi in corso riguardano l'allestimento di una banca di DNA eterogenea, proveniente da diverse regioni italiane, al fine di individuare o escludere un polimorfismo di popolazione.

Ricevuto il 5 maggio 1999.

Accettato il 29 marzo 2000.

BIBLIOGRAFIA

- CHIDIAC, R.M. & ARON, D.C. 1997. Incidentalomas. A disease of modern technology. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* **26**: 233- 253.
- GRIFFING, G. 1994. A-I-D-S: The new endocrine epidemic (Editorial comment). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **79**: 1530-1531.
- KLOOS, R.T., GROSS, M.D., FRANCIS, I.R., KOROBKIN, M. & SHAPIRO, B. 1995. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocr. Rev.* **16**: 460-484.
- COPELAND, P.M. 1983. The incidentally discovered adrenal mass. *Ann. Inter. Med.* **98**: 940-945.
- LAVOIE, H. & LACROIX, A. 1995. Partially autonomous cortisol secretion by incidentally discovered adrenal adenomas. *Trends Endocrinol. Metab.* **6**: 191-195.
- MANTERO, F., MASINI, A.M., OPOCHER, G., GIOVAGNETTI, M. & ARNALDI. 1997. On behalf of the National Italian Study Group on Adrenal Tumors. Adrenal incidentaloma: an overview of hormonal data from the National Italian Study Group. *Horm. Res.* **47**: 284-289.
- ANGELI, A., OSELLA, G. & TERZOLO, M. 1997. On behalf of the National Italian Study Group on Adrenal Tumors. Adrenal Incidentaloma: an overview of clinical and epidemiological data from the National Italian Study Group. *Horm. Res.* **47**: 279-283.
- GROSS, M.D. & SHAPIRO, B. 1993. Clinically silent adrenal masses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **77**: 885- 888.
- PEPPERCORN, P.D., GROSSMAN, A.B. & REZNEK, R.H. 1998. Imaging of incidentally discovered adrenal masses. *Clin. Endocrinol.* **48**: 379-385.
- STOCCO, D.M. & CLARK, B.J. 1996. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr. Rev.* **17**(3): 221-244.
- STOCCO, D.M. & CLARK, B.J. 1997. The role of the steroidogenic acute regulatory protein in steroidogenesis. *Steroids* **62**: 29-39.
- SUGAWARA, T., LIN, D., HOLT, J.A., KUMUKO, O.M., JAVITT, N.B., W.L., MILLER, W.L. & STRAUSS, J.F.III. 1995. Structure of the human steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*) gene: *StAR* stimulates mitochondrial cholesterol 27-hydroxylase activity. *Biochem.* **34**: 12506-12512.
- THOMSON, M. 1998. Molecular and cellular mechanisms used in the acute phase of stimulated steroidogenesis. *Horm. Metab. Res.* **30**: 16-28.
- KALLEN, C.B., BILLHEIMER, J.T., SUMMERS, S.A., STAYROOK, S.E., LEWIS, M. & STRAUSS, J.F.III. 1998. Steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*) is a sterol transfer protein. *J. Biol. Chem.* **273**: 26285-26288.
- ARAKANE, F., KALLEN, C.B., WATARI, H., FOSTER, J.A., SEPURI, N.B.V., PAIN, D., STAYROOK, S.E., LEWIS, M., GERTON, G.L. & STRAUSS, J.F.III. 1998. The mechanism of action of steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*). *J. Biol. Chem.* **273**: 16339-16345.
- STOCCO, D.M. 1997. A *StAR*: implications in controlling steroidogenesis: *Biol. Reprod.* **56**: 328-336.
- LIN, D., SUGAWARA, T., STRAUSS, J.F. III, CLARK, B.J., STOCCO, D.M., SAENGER, P., ROGOL, A. & MILLER, W.L. 1995. Role of steroidogenic acute regulatory protein in adrenal and gonadal steroidogenesis: *Science* **265**: 1828-
- BOSE, H.S., SUGAWARA, T., STRAUSS, J.F.III & MILLER, W.L. 1996. The pathophysiology and genetics of congenital lipid adrenal hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* **335**: 1870-1878.
- FUJIEDA K., TAJIMA T., NAKAE J., SAGESHIMA S., TACHIBANA K., SUWAS., SUGAWARA T., STRAUSS J.F.III. 1997. Spontaneous puberty in 46, XX subjects with congenital lipid adrenal hyperplasia: *J. Clin. Invest.* **99**(6): 1265-1271.
- BOSE, H.S., BALDWIN, M.A. & MILLER, W.L. 1998. Incorrect folding of steroidogenic acute regulatory protein (*StAR*) in congenital lipid adrenal hyperplasia. *Biochem.* **37**: 9768-9775.
- REINCKE, M. 1998. Mutations in adrenocortical tumors. *Horm. Metab. Res.* **30**: 447-449.