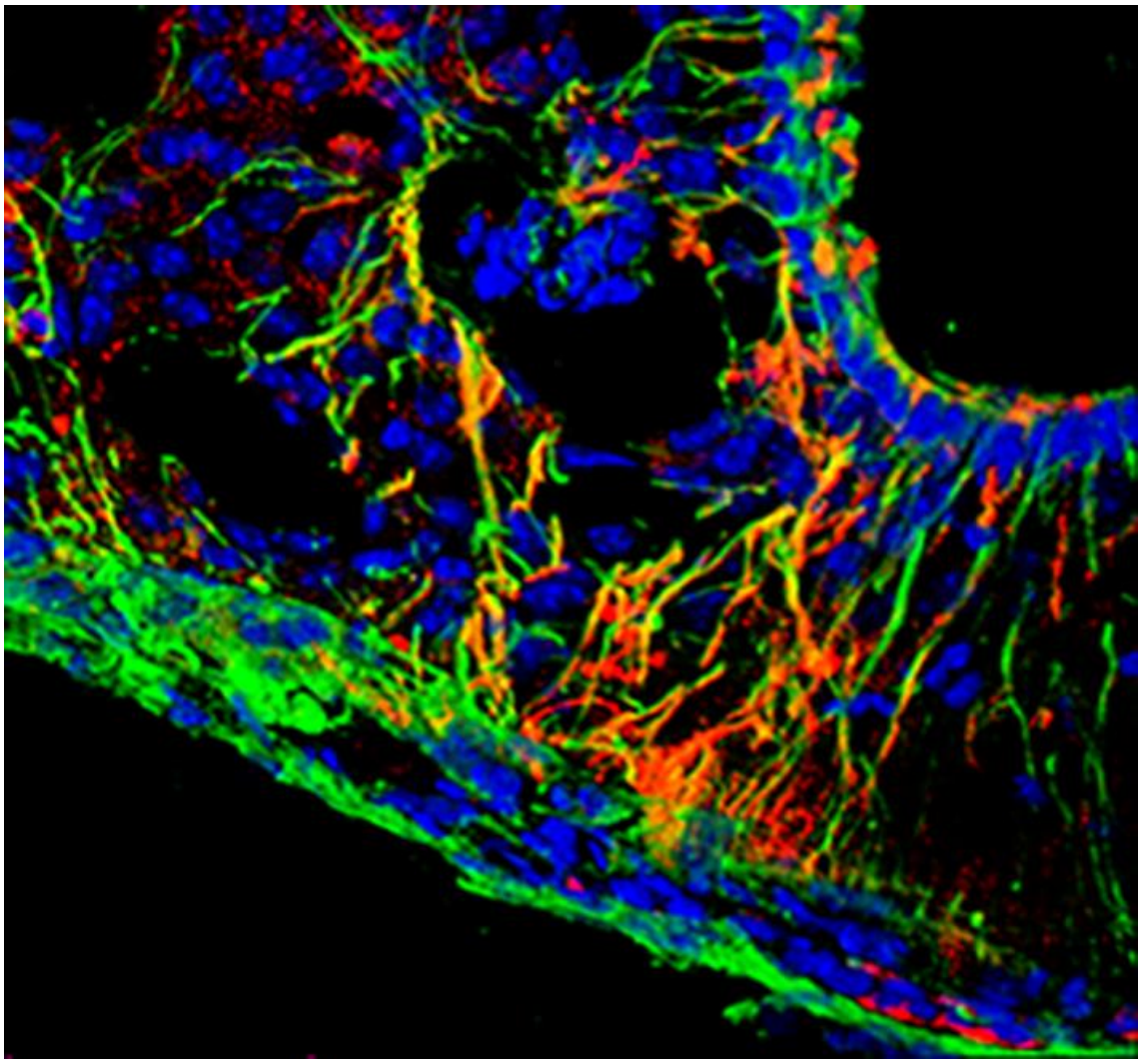
SNE Currents 2019



Coupe frontale de cerveau au niveau du troisième ventricule. Les tanycytes (en vert) synthétisent la protéine FGF21 (en rouge). Frontal section of the brain at the level of the third ventricle. The tanycytes (in green) synthesize the protein FGF21 (in red). ***Geller S, Arribat Y, Netzahualcoyotzi C, Lagarrigue S, Carneiro L, Zhang L, Amati F, Lopez-Mejia IC, Pellerin L. Tanycytes Regulate Lipid Homeostasis by Sensing Free Fatty Acids and Signaling to Key Hypothalamic Neuronal Populations via FGF21 Secretion. Cell Metabolism. 2019 Oct 1;30(4):833-844.e7.***

A summary of breakthroughs
in French Neuroendocrinology in 2019
https://www.societe-neuroendocrinologie.fr

Scientific Committee of 2020 French Society of Neuroendocrinology

Nicolas de Roux (Paris)	President
Laurence Dufourny (Tours)	Secretary
Alexandre Benani (Dijon)	Treasurer
Youssef Anouar (Rouen)	President elect
Hervé Tostivint (Paris)	Secretary elect
Ariane Sharif (Lille)	Treasurer elect

Arnaud Nicot (Nantes)
Hélène Hardin-Pouzet (Paris)
Nathalie Guérineau (Montpellier)
Laurent Givalois (Montpellier)
Xavier Fioramonti (Bordeaux)
Didier Vieau (Lille)
Amandine Gautier-Stein (Lyon)
Fanny Langlet (Lausanne)
Charlotte Cornil (Liège)
Rachida Guennoun (Paris)
Maité Montero-Hadjaje (Rouen)
Muriel Darnaudéry (Bordeaux)

Nour Mimouni (Lille) Young scientist
Céline Cansell (Paris) Young scientist

List of selected papers

Malone S.A., Papadakis G.E., Messina A., Mimouni N.E.H., Trova S., Imbernon M., Allet C., Cimino I., Acierno J., Cassatella D., Xu C., Quinton R., Szinnai G., Pigny P., Alonso-Cotchico L., Masgrau L., Maréchal J.D., Prevot V., Pitteloud N., Giacobini P. (2019) Defective AMH signaling disrupts GnRH neuron development and function and contributes to hypogonadotropic hypogonadism. ***eLife.*** *8:e47198*

Arango-Lievano M, Borie AM, Dromard Y, Murat M, Desarmenien M, Garabedian MJ, Jeanneteau F. (2019) Persistence of learning-induced synapses depends on neurotrophic priming of glucocorticoid receptors. ***Proc Natl Acad Sci U S A.*** *116(26):13097-13106.*

Trouillet A-C., Keller M., Weiss J., Leinders-Zufall T., Birnbaumer L., Zufall F., and Chamero P. (2019). Central role of G protein Gαi2 and Gαi2 + vomeronasal neurons in balancing territorial and infant-directed aggression of male mice. ***Proc. Natl. Acad. Sci.*** *116, 5135–5143.*

Pacini V., Petit F., Querat B., Laverriere J-N., Cohen-Tannoudji J., L'hôte D. (2019) Identification of a pituitary ERα-activated enhancer triggering the expression of Nr5a1, the earliest gonadotrope lineage-specific transcription factor. ***Epigenetics & Chromatin*** *12 : 48. doi:10.1186/s13072-019-0291-8.*

de Medeiros GF, Lafenêtre P, Janthakhin Y, Cerpa J-C, Zhang C-L, Mehta MM, Mortessagne, Helbling JC, Ferreira G, Moisan MP. Corticosteroid-Binding Globulin deficiency specifically impairs contextual and recognition memory consolidation in male mice. ***Neuroendocrinology.*** *2019;109(4):322-332.*

Wang L., Vanacker C., Burger LL., Shah YM., Myers MG., Moenter SM., Genetic dissection of the different roles of hypothalamic kisspeptin neurons in regulating female reproduction ***eLife.*** *2019 Apr 4;8. pii: e43999.*

Keck M, De Almeida H, Compère D, Inguimbert N, Flahault A, Balavoine F, Roques B, Llorens-Cortes C. NI956/QGC006, a Potent Orally Active, Brain-Penetrating Aminopeptidase A Inhibitor for Treating Hypertension. ***Hypertension.*** *2019 Jun;73(6):1300-1307.*

van der Klaauw A, Croizier S, Mendes de Oliveira E, Banton M, Stadler L, Kong Y, Hendricks A, Tandon P, Keogh J, Park S, Papadia S, Henning E, Bounds R, Bochukova E, Mistry V, O'Rahilly S, Simerly RB, INTERVAL, UK10K consortium, Minchin JEN, Barroso I, Jones Y, Bouret SG, Farooqi IS. Semaphorin 3 signaling directs the development of hypothalamic melanocortin circuits involved in mammalian energy homeostasis. ***Cell****, 176(4):729-742, 2019*

Bouyakdan K, Martin H, Liénard L, Budry L, Taib B, Rodaros D, Chrétien C, Biron E, Husson Z, Cota D, Pénicaud L, Fulton S, Fioramonti X and Alquier T. The gliotransmitter ACBP controls feeding and energy homeostasis via the melanocortin system. ***J Clin Invest.*** *2019 Apr 2;129(6):2417-2430.*

Geller S, Arribat Y, Netzahualcoyotzi C, Lagarrigue S, Carneiro L, Zhang L, Amati F, Lopez-Mejia IC, Pellerin L. Tanycytes Regulate Lipid Homeostasis by Sensing Free Fatty Acids and Signaling to Key Hypothalamic Neuronal Populations via FGF21 Secretion. ***Cell Metabolism****. 2019 Oct 1;30(4):833-844.e7.*

Une signalisation défectueuse de l'hormone anti-mullérienne contribue à l'hypogonadisme hypogonadotrope

L'hormone de libération de la gonadotrophine (GnRH) est essentielle pour la maturation gonadique, le début de la puberté et la fonction de reproduction. La perturbation de la migration des neurones à GnRH et / ou de la synthèse et sécrétion de la GnRH conduisent à des hypogonadismes hypogonadotropes congénitaux (CHH), un trouble endocrinien rare caractérisé par une puberté absente ou incomplète entraînant une infertilité. Le CHH est une maladie cliniquement et génétiquement hétérogène, avec environ 50 gènes causaux différents identifiés à ce jour. Cependant, les mutations identifiées jusqu'à présent ne représentent que la moitié des cas cliniques, ce qui suggère que d'autres gènes causaux restent à découvrir. Dans une étude récente publiée dans eLife, nous avons montré que l'abrogation génétique ou pharmacologique, chez des modèles animaux, du récepteur de l'hormone anti-Müllérienne (AMH), AMHR2, modifie la migration des neurones à GnRH, entraînant une réduction du nombre de cellules à GnRH dans le cerveau adulte ainsi qu'une diminution de l'ovulation et de la fertilité chez ces animaux. Ces défauts ressemblent fortement au phénotype CHH chez l'homme. En utilisant le séquençage à haute débit « exome entier » sur une large cohorte de patients CHH, nous avons identifié des mutations perte de fonction dans les gènes de l'AMH et de l'AMHR2 sur environ 3% des patients CHH. Ce travail identifie un nouveau rôle pour AMH dans la régulation du développement et de la fonction des neurones à GnRH et il fournit des preuves génétiques qui suggèrent que la perturbation de la signalisation AMH peut contribuer au phénotype CHH.

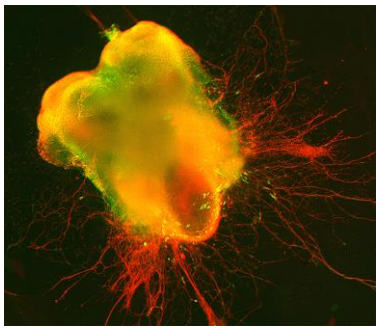


Figure: Image représentative d'un explant nasal généré à partir d'un embryon de souris GnRH1 <GFP> (vert) et cultivé pendant 4 jours avant immunomarquage pour la tubuline βIII (rouge).

Malone S.A. et al. (2019) Defective AMH signaling disrupts GnRH neuron development and function and contributes to hypogonadotropic hypogonadism. ***eLife.*** *8:e47198*

Defective AMH signalling contributes to hypogonadotropic hypogonadism

Gonadotropin releasing hormone (GnRH) is essential for puberty onset and reproduction. Disruption of GnRH neuronal migration and/or defective GnRH synthesis and secretion leads to congenital hypogonadotropic hypogonadisms (CHH), a rare endocrine disorder characterized by absent or incomplete puberty resulting in infertility. CHH is a clinically and genetically heterogeneous disease, with approximately 50 different causal genes identified to date. However, the mutations identified so far only account for half of clinically reported cases, suggesting that other causal genes remain to be discovered. In a recent study published in eLife, we showed that genetic and pharmacological abrogation of the anti-Müllerian hormone (AMH) receptor, AMHR2, in animal models alters GnRH migration, resulting into a reduced size of this neuronal population in adult brains, altered ovulation and fertility. These defects strongly resemble the CHH phenotype. Using whole exome sequencing on a large cohort of CHH probands, we identified loss-of-function mutations in AMH and in AMHR2 in 3% of CHH patients. This work identifies a novel role for AMH in the normal development and function of GnRH neurons and provide genetic evidence that disturbance of AMH signalling can contribute to CHH phenotype.

Le stress réécrit les cartes synaptiques de la mémoire

Quelles sont les bases structurales de la mémoire ? En principe, c'est parce qu'elles sont stabilisées par l'apprentissage que les synapses constituent ce que l'on pourrait désigner comme un réservoir de stockage d'information. C'est là que le stress intervient pour soit consolider soit effacer l'information. La différence s'exerce au sein des neurones qui, répondant à l'apprentissage, exploitent le facteur neurotrophique BDNF pour modifier la réponse du récepteur des hormones de stress dites glucocorticoïdes.

L'hypothèse selon laquelle la réponse du récepteur aux glucocorticoïdes changerait, tantôt pour faciliter la mémoire grâce à la sécrétion du BDNF tantôt pour l'empêcher en absence du BDNF a été testée sur la consolidation des synapses formées à l'apprentissage. C'est par une approche d'imagerie longitudinale que la durée de vie *in vivo* des nouvelles synapses induites à l'apprentissage a pu être étudiée en fonction du stress, de l'enrichissement quotidien et du polymorphisme humain Val66Met du gène du BDNF qui est associé à des troubles neuropsychiatriques causés par le stress.

Le résultat est que la rétention de l'apprentissage dépend de la survie d'un ensemble de synapses conditionné par l'alignement des secrétions de glucocorticoïdes et de BDNF. La détection d'une telle coïncidence engendre des réarrangements de connectivité synaptique entre neurones activés par l'apprentissage qui persistent au delà de la consolidation de la mémoire et sont proportionnels à la performance. L'étude présente le récepteur aux glucocorticoïdes comme un problème et aussi une solution aux troubles de l'adaptation comportementale et neuropsychiatrique causés par le stress.

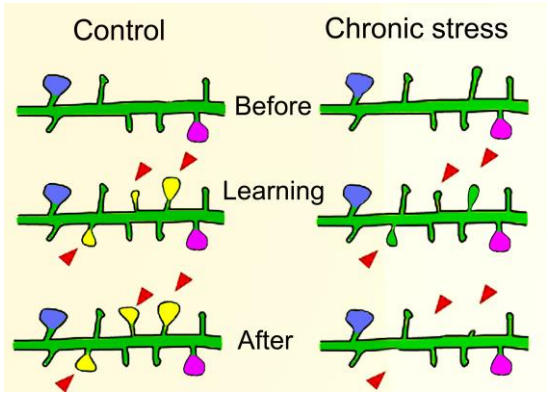


Figure : Stabilisation de nouvelles connections synaptiques pour se souvenir. Cela dépend de détecteurs de coïncidence entre des facteurs environnementaux tels que l'hormone de stress et des facteurs neurotrophiques libérés par l'ensemble des neurones utilisé lors de l'apprentissage.

Arango-Lievano M, Borie AM, Dromard Y, Murat M, Desarmenien M, Garabedian MJ, Jeanneteau F. (2019) Persistence of learning-induced synapses depends on neurotrophic priming of glucocorticoid receptors. ***Proc Natl Acad Sci U S A.*** *116(26):13097-13106.*

Stress rewrites synaptic engram maps

What are the structural bases of memory? In principle, synapses formed at the time of learning constitute a reservoir for storage of new information. Stress modifies synapse turnover to either consolidate or deteriorate the retention of new information. The difference takes place in engram neurons that use the neurotrophic factor BDNF to modify the response to the stress hormone receptor for glucocorticoids.

The diversity of responses to glucocorticoid receptors, to enhance memory retention upon secretion of BDNF or to impair it in absence of BDNF secretion is the hypothesis tested on the consolidation of new synapses during learning and memory. The turnover of new synapses formed at learning was captured by time lapse in vivo microscopy in the contexts of stress, enriched environment and the human polymorphism Val66Met in the BDNF gene associated with vulnerability to neuropsychiatric disorders caused by stress.

The main result is that memory retention depends on the survival of new synapses between assemblies of neurons recruited during learning that is conditioned by the alignment of BDNF and glucocorticoid secretions. Detection of such coincident hormonal signalling provokes the remodelling of new synaptic connectivity that persists beyond memory consolidation and is proportionate to behavioural performance. This study shows that priming glucocorticoid receptors with BDNF is as much the problem to stress maladaptation as it is the solution to recovery.

Comportement parental et défense du territoire : la connexion olfactive

Chez de nombreuses espèces, les comportements sociaux sont médiés par des signaux chimiques, notamment les phéromones. Chez la souris, ces informations olfactives sont détectées par les neurones sensoriels de l'organe voméronasal (VNO) où environ 400 gènes codent pour des récepteurs chimiosensoriels. Pour décrypter les circuits neuronaux des comportements d'agression, nous nous sommes intéressés aux comportements et à l'activité neuronale de souris mâles portant une mutation au niveau d'une protéine ($G\alpha_{i2}$) liée à certains récepteurs voméronasaux (V1Rs) exprimés dans les neurones apicaux du VNO. Nous avons étudié deux types de comportements : l'agression territoriale (entre mâles) et le comportement d'agression envers des nouveaux nés étrangers. Chez les animaux sans la protéine fonctionnelle $G\alpha_{i2}$, nous avons observé une augmentation du comportement d'agression entre mâles, concordant avec une augmentation de l'activité cérébrale dans des régions impliquées dans l'expression du comportement agressif : amygdale médiane (MeA), noyau du lit de la strie terminale et septum latéral. En revanche, la mutation entraîne une diminution du comportement d'agressivité des mâles vis-à-vis des nouveau-nés étrangers, en même temps qu'une diminution de l'activité des neurones de la MeA. De plus, ces mâles présentent un comportement parental envers ces nouveau-nés, ainsi qu'une augmentation de l'activité neuronale dans la région pré-optique médiane, impliquée elle dans l'expression des comportements parentaux. Ces travaux démontrent donc que les informations olfactives médiées par la voie de signalisation vomeronasale de Gαi2 régulent différemment deux types d'agressions chez la souris mâle via l'activation de circuits neurobiologiques distincts. Cette étude ouvre la voie à l'identification des circuits neuronaux contrôlant les comportements agressifs ainsi qu'à la compréhension du décodage cérébral des informations olfactives.

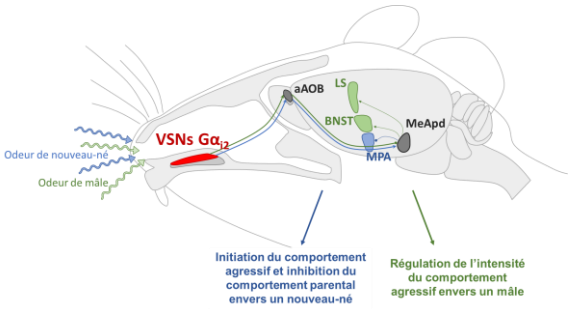


Figure : **Contrôle par $G\alpha_{i2}$ de l'équilibre entre agression territoriale et parentale chez la souris mâle.** Les odeurs de mâle et de nouveau-né sont détectées par les neurones sensoriels voméronasaux exprimant $G\alpha_{i2}$. Différents circuits sont alors activés/inhibés afin de réguler l'intensité du comportement agressif envers un mâle adulte (flèches et structures vertes), ou d'activer le comportement agressif/inhiber le comportement parental envers un nouveau-né (flèches et structures bleues).

Trouillet A-C., Keller M., Weiss J., Leinders-Zufall T., Birnbaumer L., Zufall F., and Chamero P. (2019). Central role of G protein Gαi2 and Gαi2 + vomeronasal neurons in balancing territorial and infant-directed aggression of male mice. ***Proc. Natl. Acad. Sci.*** *116, 5135–5143.*

Parental behavior and territoriality: the olfactory connection

In many species, social behaviors are mediated by chemical signals, notably pheromones. In mice, this olfactory information is detected in the vomeronasal organ (VNO) by nearly 400 different chemosensory receptors expressed by sensory neurons. To understand how olfactory neuronal circuits modulate aggression in mice, we investigated the behavior and neuronal activity of male mice carrying a mutation of a protein (Gαi2) linked to a specific vomeronasal receptor (V1Rs) subclass expressed in apical neurons of the VNO. We studied two types of behavior: territorial aggression (inter-male) and aggression toward alien neonates. In the absence of a functional Gαi2 protein, we observed an increase of inter-male aggression, associated with an increased brain activation in three regions involved in aggressive behavior: medial amygdala (MeA), bed nucleus of the stria terminalis and lateral septum. In contrast, these mice showed a decrease of aggression toward alien neonates and subsequent reduction in MeA activity. Surprisingly, mutant males showed parental behavior toward the pups and an increased activation in the preoptic area, which is known to be involved in the expression of this type of behavior. This data reveal that olfactory information mediated by Gαi2 vomeronasal signaling pathway balance two type of aggressions in male mice, through the activation of distinct brain circuits. These results provide a framework to a better understanding of neuronal networks underlying aggressive behaviors and to the comprehension of brain coding of olfactory information.

Identification de l'enhancer le plus précocement impliqué dans la régulation de l'expression de *Sf-1* au cours de la différenciation du lignage gonadotrope hypophysaire.

La différenciation du lignage gonadotrope est un processus qui a lieu durant le développement embryonnaire de l'hypophyse. La spécification du lignage gonadotrope est caractérisée par l'expression du facteur de transcription *Sf-1*, aussi appelé *Nr5a1*, le marqueur le plus précoce du lignage gonadotrope. C'est un facteur crucial pour l'émergence du lignage gonadotrope puisqu'il initie notamment l'expression des gènes codant le récepteur de la GnRH et les sous-unités spécifiques des hormones gonadotropes LH et FSH. Ainsi, des anomalies de l'expression de *Sf-1* entraînent un hypogonadisme hypogonadotrope et une stérilité de l'individu. Cependant, les mécanismes épigénétiques régulant l'expression de *Sf-1* durant les stades précoces de la spécification du lignage gonadotrope sont encore peu connus. Nous avons effectué une analyse à haut débit de l'accessibilité de la chromatine dans trois lignées immortalisées de cellules gonadotropes murines récapitulant trois stades de la différenciation du lignage gonadotrope. Nous avons ainsi identifié une nouvelle séquence régulatrice de type enhancer de *Sf-1*, transitoirement recrutée durant la spécification de ce lignage. Par stratégie CRISPR-Cas9, nous avons démontré que cet enhancer est nécessaire pour l'émergence du lignage gonadotrope. De plus, nous avons démontré que la fixation du récepteur α des estrogènes (ERα) est cruciale pour le remodelage de la chromatine à la fois au niveau de l'enhancer et du promoteur du gène *Sf-1*, conduisant au recrutement de la RNA Polymérase II et la transcription du gène. Cette étude a permis d'identifier le plus précoce des éléments régulateurs impliqués dans la spécification du lignage gonadotrope et souligne l'importance de ERα dans la régulation épigénétique de ce processus de différenciation.

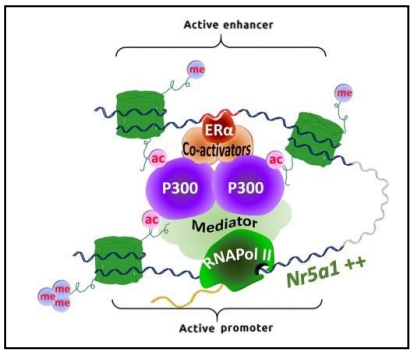


Figure : Schéma illustrant la fixation de ERα sur l'enhancer identifié. La fixation de ERα sur l'enhancer permet le remodellage chromatinien et le recrutement de facteurs de transcription sur l'enhancer et le promoteur pituitaire de *Sf*-1 dans les cellules gonadotropes immatures, essentiels pour la transcription génique de *Sf-1*.

Pacini V., Petit F., Querat B., Laverriere J-N., Cohen-Tannoudji J., L'hôte D. (2019) Identification of a pituitary ERα-activated enhancer triggering the expression of Nr5a1, the earliest gonadotrope lineage-specific transcription factor. ***Epigenetics & Chromatin*** *12 : 48. doi:10.1186/s13072-019-0291-8.*

Identification of the earliest enhancer regulating *Sf-1* expression during pituitary gonadotrope lineage differenciation.

Gonadotrope lineage differentiation is a stepwise process, taking place during pituitary development. The early step of gonadotrope specification is characterized by the expression of the *Sf-1* transcription factor, also called *Nr5a1*, the earliest marker gene of gonadotrope lineage. *Sf-1* is a crucial factor for gonadotrope cell fate determination since it initiates transcription of key gonadotrope genes such as the GnRH receptor and LH and FSH specific subunits. Abnormalities affecting *Sf-1* expression lead to hypogonadotropic hypogonadism and infertily. However, the epigenetic mechanisms regulating *Sf-1* expression during early gonadotrope lineage specification are still poorly understood. Using whole genome chromatin accessibility analyses on three cell lines recapitulating gradual stages of gonadotrope differentiation, we demonstrated that a yet undescribed *Sf-1* enhancer is transiently recruited during gonadotrope specification. Using CRISPR-Cas9, we showed that this enhancer is mandatory for the emergence of *Sf-1* during gonadotrope specification. Furthermore, we demonstrated that binding of estrogen receptor-α (ERα) is crucial for chromatin remodeling of *Sf-1* enhancer and promoter, leading to RNA polymerase recruitment and transcription of the gene. This study has thus identified the earliest regulatory sequence involved in gonadotrope lineage specification and highlights the key epigenetic role played by ERα in this differentiation process.

La transcortine, protéine de liaison des glucocorticoïdes, influence certains types de mémoire

Les hormones glucocorticoïdes ont un rôle crucial dans les processus de mémoire associés à un sursaut émotionnel. Notre équipe a montré récemment que la transcortine (ou CBG pour Corticosteroid Binding Globulin), une protéine qui lie les glucocorticoïdes dans la circulation sanguine, module les quantités de glucocorticoïdes atteignant le cerveau en situation de stress. Dans cette étude nous avons analysé le rôle de la transcortine dans certains types de mémoire à long-terme en fonction de l'intensité du stress associé. Pour cela nous avons utilisé des souris totalement dépourvues de transcortine (Cbg KO) ou des souris dépourvues de cette protéine uniquement dans les neurones du cerveau antérieur (CbgCamK KO). Ces souris ont été soumises à des taches de mémoire permettant d'évaluer la mémoire du contexte ou la mémoire de reconnaissance d'objet dans des conditions sans stress, avec stress modéré ou fort induisant une libération de glucocorticoïdes plus ou moins élevée. Notre étude montre que la transcortine circulante, mais pas celle présente dans les neurones, est nécessaire pour la consolidation de la mémoire contextuelle à long-terme (test de conditionnement de peur au contexte). Nous montrons que les déficits de mémoire sont dépendants de la quantité de glucocorticoïdes atteignant le cerveau, eux-mêmes modulés par la transcortine. En effet, sans transcortine la quantité de glucocorticoïdes n'est pas suffisante pour des performances optimales dans la reconnaissance d'objet alors qu'en situation de stress fort, où les niveaux de glucocorticoïdes sont très élevés chez les contrôles, la déficience en transcortine protège des effets délétères de ces taux élevés d'hormones. Ainsi, la transcortine est une cible thérapeutique possible pour des conditions de stress intense associé à une perte de mémoire contextuelle telle que le stress post-traumatique.

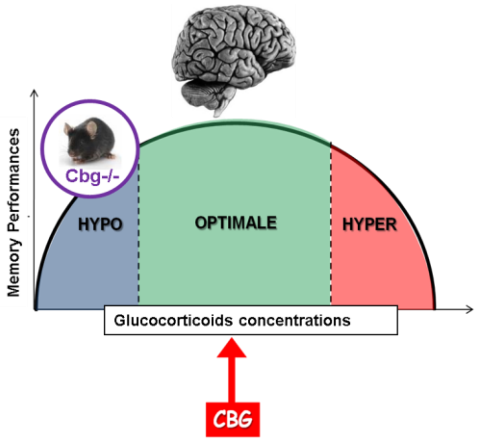


Figure : La transcortine (CBG) influence les niveaux de glucocorticoïdes atteignant le cerveau et ainsi les performances de mémoire. La souris Cbg-/- présente des déficits de mémoire en condition sans stress mais est protégée des effets délétères de taux élevés de glucocorticoïdes en condition de stress.

de Medeiros GF, Lafenêtre P, Janthakhin Y, Cerpa J-C, Zhang C-L, Mehta MM, Mortessagne, Helbling JC, Ferreira G, Moisan MP. Corticosteroid-Binding Globulin deficiency specifically impairs contextual and recognition memory consolidation in male mice. ***Neuroendocrinology.*** *2019;109(4):322-332.*

Corticosteroid Binding Globulin (CBG) influences certain types of memory

Glucocorticoids are essential in modulating memory processes of emotionally arousing experiences and we have shown that corticosteroid-binding globulin (CBG) influences glucocorticoid delivery to the brain. Here, we investigated the role of CBG in contextual and object recognition long-term memory according to stress intensity. For this we used adult male mice totally deficient in CBG (Cbg KO) or brain-specific Cbg KO (Cbg^{Camk} KO) to examine their performance in memory task evaluating contextual memory or object recognition in condition of varying stress intensity inducing relative glucocorticoid release. Our study shows that peripheral but not neuronal CBG is necessary for the consolidation of hippocampus-dependent contextual memory (contextual fear conditioning). Furthermore, by modulating the quantity of glucocorticoids reaching the brain, CBG influences memory performances of object recognition. Indeed, without CBG, glucocorticoid levels are not sufficient for optimal performances while in condition of strong stress where glucocorticoid levels are elevated in control mice, the lack of CBG protects against the deleterious effect of these too high levels of hormones. Thus, CBG is a possible therapeutic target for pathologies linked to intense stress associated with impaired contextual memory such as post-traumatic stress disorder.

Le mystère du rôle des neurones à kisspeptine dans le rétrocontrôle stéroïdien élucidé ?

La sécrétion pulsatile de 'gonadotropin releasing hormone' (GnRH) par l'hypothalamus est nécessaire au contrôle de l'axe reproducteur. La sécrétion de GnRH stimule la sécrétion d'hormone lutéinisante (LH) et d'hormone folliculostimulante (FSH) qui agissent sur les gonades et stimulent la gamétogenèse, l'ovulation et la sécrétion de stéroïdes gonadiques. Les stéroïdes gonadiques, en particulier l'œstradiol, régulent la fréquence des pulses de GnRH. Ainsi, chez le mâle et au cours de la majorité du cycle ovarien chez la femelle, les faibles taux d'œstradiol ont un effet inhibiteur sur la sécrétion de GnRH. Un fois par cycle, les taux d'œstradiol augmentent et induisent, par rétrocontrôle positif, la production d'un pic de GnRH et de LH déclenchant l'ovulation. Malgré l'importance de ce mécanisme pour la fertilité, des questions majeures restent en suspens. Les neurones à GnRH eux-mêmes n'expriment pas la forme alpha du récepteur aux œstrogènes (ERα), principal responsable de l'effet du rétrocontrôle stéroïdien sur la sécrétion de GnRH, suggérant l'implication de cellules afférentes sensibles aux stéroïdes dans ce mécanisme. Les neurones à kisspeptine sont les candidats favoris pour ce rôle. En particulier la population de neurones à kisspeptine du noyau antéroventral périventriculaire (AVPV) est associée au rétrocontrôle positif et celle du noyau arqué (ARC) au rétrocontrôle négatif. Les modèles transgéniques touchant les neurones à kisspeptine ne permettent pas d'isoler l'une ou l'autre de ces populations pour disséquer leur rôle *in vivo*. Au cours de mon postdoctorat, j'ai eu la chance de participer à une étude basée sur la technologie CRISPR-Cas9 combinée à l'injection virale pour muter sélectivement et localement ERα, dans l'une ou l'autre des populations de neurones à kisspeptine chez la femelle adulte. L'invalidation d'ERα dans les neurones de l'AVPV induit une diminution de l'activité de ces neurones et l'interruption du pic de LH préovulatoire, confirmant leur rôle dans la transmission du rétrocontrôle positif et l'induction du pic de GnRH. L'invalidation d'ERα dans les neurones de l'ARC interrompt le cycle ovarien, confirmant leur rôle dans la génération des pulses de GnRH et la transmission du rétrocontrôle négatif chez la femelle adulte.

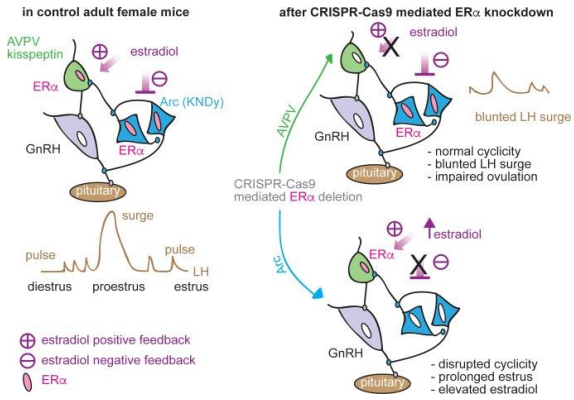


Figure : Schéma décrivant le mécanisme de rétrocontrôle stéroïdien chez la femelle adulte (à gauche) et l'effet observé après l'invalidation de ERα dans les neurones à kisspeptine de l'AVPV ou de l'ARC (à droite)

Wang L., Vanacker C., Burger LL., Shah YM., Myers MG., Moenter SM., Genetic dissection of the different roles of hypothalamic kisspeptin neurons in regulating female reproduction ***eLife.*** *2019 Apr 4;8. pii: e43999.*

Understanding the role of kisspeptin neuron populations in the control of reproduction

The fine regulation of GnRH release from the hypothalamus is necessary for fertility, but major gaps persist in our understanding of how steroid levels are detected and control this release. GnRH neurons, themselves, do not express significant levels of estrogen receptor alpha (ERα), the steroid receptor involved in the control of GnRH release, suggesting the involvement of other cell populations in this mechanism. Kisspeptin neurons located either in the anteroventral periventricular nucleus (AVPV) or in the arcuate nucleus (ARC) are ideal candidates for that role, as they express ERα and contact GnRH neurons. During my postdoctoral fellowship, I participated in a study published recently in *eLife* in which we combined CRISPR-Cas9 technology and targeted viral vector injection to knock down ERα specifically in AVPV or ARC kisspeptin neurons. The knock down of ERα in AVPV kisspeptin neurons decreased firing rate and excitability, and caused the disruption of both the preovulatory and estradiol-induced LH surge in adult females, confirming its role in conveying estradiol positive feedback signals to generate the GnRH surge that ultimately triggers ovulation. The knock down of ERα in arcuate kisspeptin neurons in adults disrupted estrous cycles, confirming their involvement in generating pulsatile GnRH output and mediating central estradiol negative feedback.

Le NI956/QGC006, une nouvelle prodrogue d'un inhibiteur de l'aminopeptidase A à action centrale pour traiter l'hypertension artérielle

L'hyperactivité du système rénine-angiotensine cérébral participe au développement et au maintien de l'hypertension. Notre laboratoire a identifié l'enzyme aminopeptidase A (APA) qui produit dans le cerveau l'angiotensine III dont le rôle consiste à réguler de façon tonique la pression artérielle chez le rat hypertendu. Puis, nous avons montré que l'administration intracérébroventriculaire de l'inhibiteur spécifique et sélectif de l'APA, l'EC33, ou l'administration orale de sa prodrogue, le RB150/firibastat inhibe l'activité APA cérébrale, bloque la formation de l'AngIII cérébrale et normalise la pression artérielle dans différents modèles expérimentaux d'hypertension. Ces résultats montrent que les inhibiteurs de l'APA cérébrale constituent de nouveaux agents antihypertenseurs à action centrale. Dans cette étude, nous avons développé une nouvelle prodrogue, le NI956, obtenue par la liaison via un pont disulfure de 2 molécules d'un nouvel inhibiteur de l'APA, le NI929. Le NI929 est 10 fois plus efficace que l'EC33 pour inhiber *in vitro* l'activité APA recombinante de souris. L'administration orale de NI956, à la dose de 4 mg/kg chez le rat hypertendu DOCA-sel, normalise l'hyperactivité APA cérébrale et entraine une baisse importante de la pression artérielle de −44 ± 13 mmHg, 4 heures après le traitement et qui est maintenue durant 10 heures. De plus, l'administration de NI956 diminue la sécrétion de vasopressine dans la circulation sanguine, et augmente la diurèse et la natriurèse, participant à la baisse de pression artérielle. Ces résultats démontrent que le NI956 est une prodrogue « best-in-class » d'un nouvel inhibiteur de l'APA à action centrale, renforçant l'intérêt de développer un traitement antihypertenseur ciblant l'APA cérébrale.

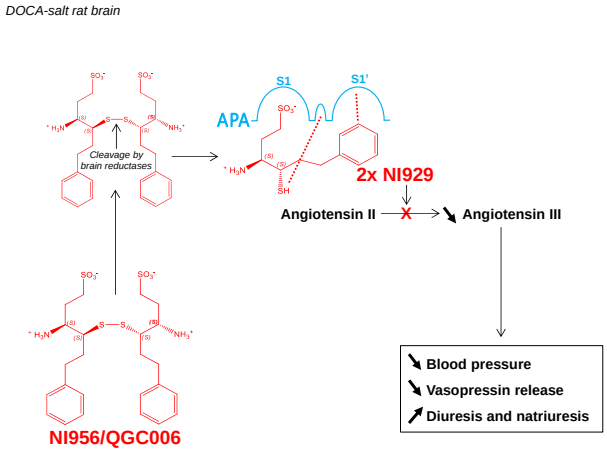


Figure: La prodrogue, NI956, de l'inhibiteur de l'APA, NI929, est formée de 2 molécules de NI929 liées par un pont disulfure permettant le passage du NI956 à travers la barrière hémato-encéphalique. Une fois dans le cerveau, ce pont disulfure est clivé par des réductases, libérant 2 molécules actives de NI929, inhibant l'activité APA cérébrale et bloquant la formation d'angiotensine III. Ceci a pour conséquence de normaliser la pression artérielle durant plusieurs heures dans le modèle expérimental d'hypertension dépendant du sel, le rat DOCA-sel. De plus, le NI956 diminue la sécrétion de vasopressine, et augmente la diurèse et la natriurèse, participant à la baisse de pression artérielle.

Keck M, De Almeida H, Compère D, Inguimbert N, Flahault A, Balavoine F, Roques B, Llorens-Cortes C. NI956/QGC006, a Potent Orally Active, Brain-Penetrating Aminopeptidase A Inhibitor for Treating Hypertension. ***Hypertension.*** *2019 Jun;73(6):1300-1307.*

NI956/QGC006, a potent orally active, brain-penetrating aminopeptidase A inhibitor prodrug for treating hypertension

Brain renin-angiotensin system hyperactivity has been implicated in the development and maintenance of hypertension. We have shown that aminopeptidase A (APA) is involved in the formation of brain angiotensin III, which exerts a tonic stimulatory effect on the control of blood pressure in hypertensive rats. We also showed that injection of the specific and selective APA inhibitor, EC33, by central route or its prodrug, RB150/firibastat, by oral route inhibited brain APA activity and blocked the formation of brain angiotensin III, normalizing blood pressure in hypertensive rats. These findings identified brain APA as a potential new therapeutic target for hypertension. We report here the development of a new APA inhibitor prodrug, NI956, obtained by the disulfide bridge-mediated dimerization of NI929. NI929 is 10 fold more potent than EC33 at inhibiting recombinant mouse APA activity *in vitro*. After oral administration at a dose of 4 mg/kg in conscious DOCA-salt rats, NI956 normalized brain APA activity and induced a marked decrease in blood pressure of −44±13 mmHg 4 hours after treatment, sustained over 10 hours. Moreover, NI956 decreased plasma arginine-vasopressin levels, and increased diuresis and natriuresis, participating to the blood pressure decrease. This study shows that NI956 is a best-in-class central-acting APA inhibitor prodrug. Our results support the development of hypertension treatments targeting brain APA.

Des défauts de connexions neuronales conduisent à l'obésité

Dans le cerveau, l'hypothalamus joue un rôle essentiel dans le contrôle de la balance énergétique grâce notamment aux neurones anorexigéniques à pro-opiomélanocortine (POMC). Cependant, les mécanismes sous-jacents à l'organisation de ces circuits neuronaux restent encore peu connus. Leur développement et la trajectoire des projections des neurons à POMC reposent sur la présence, à des périodes clés, de facteurs de guidage dans leur environnement. En effet, des récepteurs et notamment Neuropilin (Nrp) sont exprimés sur ces axones et répondent spécifiquement aux molécules de la classe 3 des Sémaphorines (Sema3) qui sont secrétées. Dans une étude récemment publiée dans *Cell*, van der Klaauw, Croizier *et al.* ont montré, chez la souris, qu'une perte d'expression du récepteur Nrp2 dans les neurones a POMC entrainait des anomalies de développement des projections des neurones à POMC innervant le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et qu'elles étaient associées à des perturbations du poids et du métabolisme énergétique. En collaboration avec la Pr Farooqi à Cambridge, nous avons mis en évidence des mutations génétiques chez des patients développant précocement une obésité et plus précisément 40 mutations sur 13 gènes impliqués dans la signalisation des Sema3. L'étude de ces mutations *in vitro* a montré qu'elles étaient liées à une altération de leurs fonctions notamment leur capacité attractive sur les neurones à POMC. De plus, la délétion de gènes codant différents membres appartenant à la voie de signalisation Sema3 chez le poisson zèbre a conduit à une augmentation de leur poids et/ou masse grasse mais aussi à une altération des projections des neurones à POMC. Collectivement, ce papier montre un rôle prépondérant des membres de la voie de signalisation Sema3 dans le développement des circuits à mélanocortine contrôlant le métabolisme énergétique.

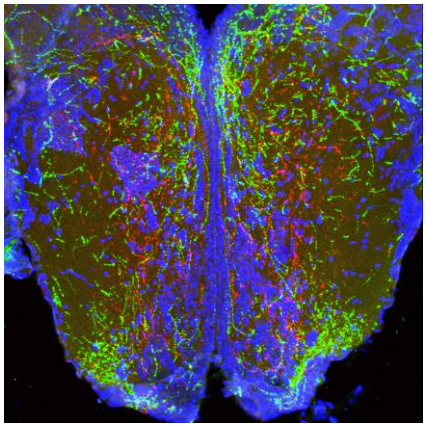


Figure : Projections axonales des neurones à POMC (fluorescence verte) et AgRP (fluorescence rouge) chez le poisson zèbre. Les membres de la famille des sémaphorines jouent un rôle essentiel dans la mise en place de ces projections et des mutations génétiques de ces facteurs chimiotropiques sont associées à une obésité chez l'homme.

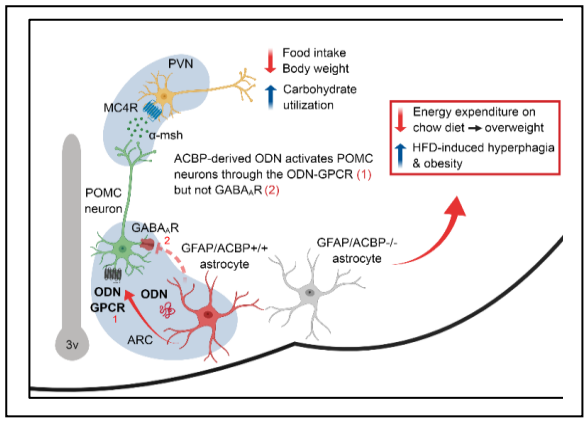
van der Klaauw A, Croizier S, Mendes de Oliveira E, Banton M, Stadler L, Kong Y, Hendricks A, Tandon P, Keogh J, Park S, Papadia S, Henning E, Bounds R, Bochukova E, Mistry V, O'Rahilly S, Simerly RB, INTERVAL, UK10K consortium, Minchin JEN, Barroso I, Jones Y, Bouret SG, Farooqi IS. Semaphorin 3 signaling directs the development of hypothalamic melanocortin circuits involved in mammalian energy homeostasis. ***Cell****, 176(4):729-742, 2019*

Miswiring of the brain leads to obesity

Hypothalamic pro-opiomelanocortin (POMC) neurons play a critical role in the regulation of energy homeostasis. However, how POMC neuronal circuits are being organized is largely unknown. The complex patterns of neuronal wiring in the adult hypothalamus depend on a series of developmental events that establish a framework on which functional circuits can be built. The rate and direction of axon growth are defined by diffusible axon guidance cues. Neuropilin (Nrp) is a neuronal cell surface protein that has been shown to function as a receptor for class 3 semaphorins (Sema3s), which are secreted proteins that influence axon guidance. In a recent study published in *Cell*, van der Klaauw, Croizier *et al.* discovered that loss of Nrp2 in POMC neurons causes abnormal development of POMC axonal projections specifically to the hypothalamic paraventricular nucleus. These developmental abnormalities are associated with long-term perturbations in body weight and energy homeostasis. In collaboration with Pr. Farooqi at the University of Cambridge, we also analyzed sequencing data of individuals with severe early-onset obesity and found 40 rare variants in 13 genes involved in semaphorin signaling. The SEMA3 signaling gene variants act to disrupt normal signaling through multiple molecular mechanisms, resulting in a blunted chemoattractive action on POMC axons. Furthermore, deletion of several Semaphorin genes in zebrafish is associated with increased bodyweight and/or fat and altered POMC neuronal circuits. Cumulatively, these studies demonstrate that SEMA3-mediated signaling drives the development of hypothalamic melanocortin circuits involved in energy homeostasis.

ACBP: un nouveau gliotransmetteur contrôlant la balance énergétique via le réseau mélanocortine

Les neurones pro-opiomélanocortine (POMC) du noyau arqué (ARC) de l'hypothalamus sont capables de détecter les variations de signaux métaboliques périphériques et de réguler le comportement alimentaire ainsi que les dépenses énergétiques. Récemment, les cellules gliales ont été mises en avant en tant qu'éléments clés dans la détection des nutriments et le contrôle de la balance énergétique. En particulier, les astrocytes peuvent moduler l'activité neuronale via la libération de gliotransmetteurs. Les endozépines sont une classe de gliotransmetteurs dérivées du clivage de la protéine astrocytaire Acyl-CoA Binding Protein (ACBP). En particulier, l'octadécaneuropeptide (ODN) a pour effet de réduire la prise alimentaire par un mécanisme qui restait à mettre en évidence. Dans cette étude, nous mettons en évidence le rôle d'ACBP et d'ODN dans le contrôle de la balance énergétique. Nous montrons que la délétion génétique d'ACBP dans les astrocytes favorise le développement de l'obésité induite par une diète obésogène principalement en induisant une hyperphagie chez les mâles et les femelles. Nous montrons que ces effets sont bloqués par la réexpression d'ACBP spécifiquement dans les astrocytes de l'ARC. L'utilisation d'enregistrements électrophysiologiques nous a permis de montrer qu'ODN active directement les neurones POMC de l'ARC via un Récepteur Couplé aux Protéines G indépendamment de la signalisation GABA sur ces neurones. Finalement, nous montrons que l'administration quotidienne de l'agoniste de ce récepteur induit une perte de poids dans un modèle génétique d'obésité causée par une diminution de la prise alimentaire. Nos données mettent en valeur ACBP comme gliotransmetteur jouant un rôle clé dans le contrôle de la balance énergétique en diminuant la consommation de nourriture via une activation directe des neurones POMC et de la voie mélanocortine. Ces travaux suggèrent ainsi l'existence d'une potentielle nouvelle cible pharmacologique sur les neurones POMC capable de diminuer la prise alimentaire.



Bouyakdan K, Martin H, Liénard L, Budry L, Taib B, Rodaros D, Chrétien C, Biron E, Husson Z, Cota D, Pénicaud L, Fulton S, Fioramonti X and Alquier T. The gliotransmitter ACBP controls feeding and energy homeostasis via the melanocortin system. ***J Clin Invest.*** *2019 Apr 2;129(6):2417-2430.*

ACBP: a new gliotransmitter controlling energy balance via the melanocortin system

Melanocortin (POMC) neurons in the arcuate nucleus (ARC) of the hypothalamus are able to detect changes in circulating metabolic signals and to regulate food intake and energy expenditure.

Recently, glial cells have emerged as key players in nutrient sensing and central control of energy balance. Astrocytes can modulate neuronal activity via the release of gliotransmitters including endozepines that are derived from astroglial Acyl-CoA Binding Protein (ACBP). In particular, the octadecaneuropeptide (ODN) is known to inhibit feeding through a relatively uncharacterized mechanism. In this study, we investigated the role of ACBP and ACBP-derived ODN in the control of energy balance. We demonstrate that ACBP loss-of-function in astrocytes promotes diet-induced hyperphagia leading to obesity in both male and female mice, an effect that was prevented by restoring ACBP expression specifically in ARC astrocytes.

Using patch-clamp electrophysiological recordings, we demonstrate that ODN directly activates POMC neurons via its G-Protein Coupled Receptor (GPCR) independently of GABA signaling. Finally, we show that daily administration of the GPCR agonist is capable of inducing weight loss in a genetic model of obesity by reducing food intake.

These findings highlight ACBP released in the ARC plays a key role in the control of energy balance by decreasing feeding via a direct activation of POMC neurons. These data suggest the existence of a potentially new pharmacological target expressed on POMC neurons capable of decreasing food intake.

Les tanycytes détectent les acides gras circulants pour maintenir l'homéostasie lipidique grâce à la production du facteur Fgf21

Dans le cerveau, l'hypothalamus joue un rôle clé dans la détection des substrats énergétiques pour réguler l'homéostasie énergétique. Des cellules épendymogliales spécialisées, appelées tanycytes, occupent une position privilégiée dans l'hypothalamus pour percevoir l'évolution du statut énergétique. Nous avons observé que les tanycytes produisent et sécrètent le facteur Fgf21 et sont situés à proximité des neurones sensibles à ce facteur. Le jeûne, probablement *via* l'augmentation des acides gras circulants, régule cette production centrale de Fgf21. En effet, nous avons mis en évidence que le palmitate, un acide gras libre, induit la production du Fgf21 tanycytaire. Les tanycytes peuvent non seulement stocker le palmitate dans des gouttelettes lipidiques mais également l'oxyder, conduisant à l'activation de la voie de signalisation ROS / p38-MAPK/ Fgf21. L'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques spécifiques de cette voie de signalisation, nous a permis de montrer que l'activation de cette dernière est essentielle à la production du Fgf21 tanycytaire en présence de palmitate. Par une approche génétique, nous avons également découvert que les souris qui n'expriment plus le Fgf21 tanycytaire, présentent après un jeûne une augmentation de la lipolyse du tissu adipeux blanc, probablement en raison d'une inhibition altérée de neurones clés. Enfin, ces souris arborent également une dépense énergétique accrue, une réduction du gain de masse grasse et un brunissement du tissu adipeux blanc. Nos résultats suggèrent donc que les tanycytes détectent les acides gras circulants pour maintenir l'homéostasie lipidique corporelle grâce à la signalisation Fgf21.

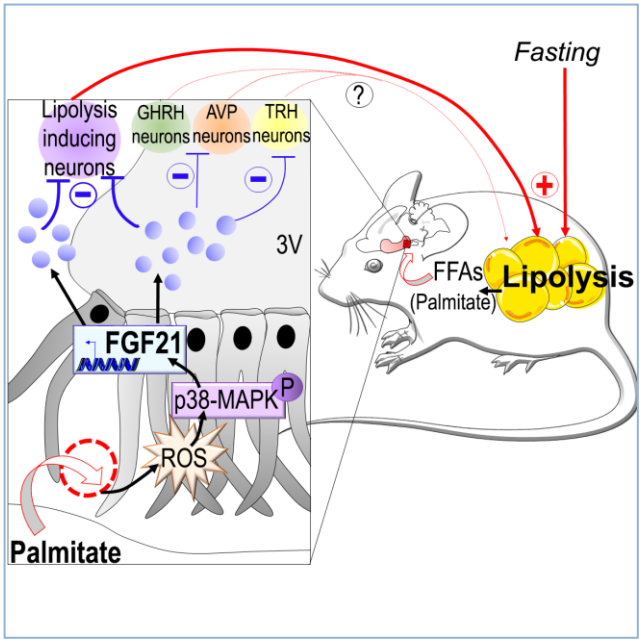


Figure : Schéma illustrant la régulation de la lipolyse du tissu adipeux blanc par les tanycytes, *via* la voie de signalisation ROS/p38-MAPK/Fgf21 et suite à la détection de palmitate, un acide gras libre (FFA).

Geller S, Arribat Y, Netzahualcoyotzi C, Lagarrigue S, Carneiro L, Zhang L, Amati F, Lopez-Mejia IC, Pellerin L. Tanycytes Regulate Lipid Homeostasis by Sensing Free Fatty Acids and Signaling to Key Hypothalamic Neuronal Populations via FGF21 Secretion. ***Cell Metabolism****. 2019 Oct 1;30(4):833-844.e7.*

Tanycytic Fgf21 maintains lipid homeostasis

The hypothalamus plays a key role in the detection of energy substrates to regulate energy homeostasis. Tanycytes, the hypothalamic ependymo-glia, are located at a privileged position to integrate multiple peripheral inputs. We observed that tanycytes produce and secrete Fgf21 and are located close to Fgf21-sensitive neurons. Fasting, likely via the increase in circulating fatty acids, regulates this central Fgf21 production. Tanycytes store palmitate in lipid droplets and oxidize it, leading to the activation of a reactive oxygen species (ROS)/p38-MAPK signaling pathway, which is essential for tanycytic Fgf21 expression upon palmitate exposure. Tanycytic Fgf21 deletion triggers an increase in lipolysis, likely due to impaired inhibition of key neurons during fasting. Mice deleted for tanycytic Fgf21 exhibit increased energy expenditure and a reduction in fat mass gain, reminiscent of a browning phenotype. Our results suggest that tanycytes sense free fatty acids to maintain body lipid homeostasis through Fgf21 signaling within the hypothalamus.