Biologie Aujourd'hui, 210 (4), 227-235 (2016)
© Société de Biologie, 2017
DOI: 10.1051/jbio/2016024

Le neuropeptide 26RFa : un nouveau régulateur de l'homéostasie énergétique

Nicolas Chartrel[1], Gaëtan Prévost[1,3], Mouna El Medhi[1], Arnaud Arabo[2], Hind Berrahmoune[1,3], Julie Maucotel[2], Youssef Anouar[1] et Marie Picot[1]

[1] INSERM U982, Laboratoire de Différenciation et Communication Neuronale et Neuroendocrine, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Université de Rouen, Normandie Université, 76821 Mont-Saint-Aignan, France
[2] Université de Rouen, Normandie Université, 76821 Mont-Saint-Aignan, France
[3] Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale (IRIB), Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Université de Rouen, Normandie Université, Rouen, France

Auteur correspondant : Nicolas Chartrel, nicolas.chartrel@univ-rouen.fr

Reçu le 27 octobre 2016

Résumé – Le neuropeptide 26RFa, aussi nommé QRFP (pour *pyroglutamilated RFamide peptide*), est le dernier membre de la famille des peptides RFamide à avoir été découvert. Le 26RFa et sa forme allongée en N-terminal, le 43RFa, ont été caractérisés dans toutes les classes de vertébrés et les deux peptides ont été identifiés comme ligands endogènes d'un récepteur humain orphelin, le GPR103. Dans le cerveau, les transcrits du 26RFa et du GPR103 sont essentiellement exprimés dans des noyaux de l'hypothalamus impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire, et à la périphérie, le neuropeptide et son récepteur sont présents en abondance dans le tractus gastro-intestinal et les îlots pancréatiques, suggérant une implication du 26RFa dans la régulation du métabolisme énergétique. De fait, le 26RFa stimule la prise alimentaire lorsqu'il est injecté au niveau central, et son activité orexigène est renforcée chez les animaux obèses. De plus, l'expression du 26RFa est augmentée dans l'hypothalamus des animaux obèses, suggérant que le système peptidergique 26RFa/GPR103 pourrait être impliqué dans l'établissement et le développement de l'obésité. Des données récentes indiquent que le 26RFa intervient aussi dans la régulation de l'homéostasie glucidique. En effet, le 26RFa réduit significativement l'hyperglycémie induite par le glucose, augmente la sensibilité à l'insuline ainsi que l'insulinémie. De plus, l'ingestion orale de glucose stimule fortement la libération de 26RFa par le tube digestif, révélant que le 26RFa est une nouvelle incrétine. Enfin, le 26RFa prévient la mort et l'apoptose des cellules β pancréatiques. En conclusion, cette revue de la littérature montre que le 26RFa est un neuropeptide clé dans le contrôle du métabolisme énergétique et des pistes de recherche sont évoquées pour mieux comprendre l'implication physiopathologique du système 26RFa/GPR103.

Mots clés : Peptide RFamide / prise alimentaire / homéostasie glucidique / obésité / diabète

Abstract – The neuropeptide 26RFa and its role in the regulation of energy metabolism.

The neuropeptide 26RFa, also referred to as QRFP (for pyroglutamilated RFamide peptide), is the latest member of the RFamide peptide family to be discovered. 26RFa and its N-extended form, 43RFa, have been characterized in all vertebrate classes as the endogenous ligands of the human orphan receptor GPR103. In the brain, 26RFa and GPR103mRNA are primarily expressed in hypothalamic nuclei involved in the control of feeding behavior, and in the periphery, the neuropeptide and its receptor are present in abundance in the gut and the pancreatic islets, suggesting that 26RFa is involved in the regulation of energy metabolism. Indeed, 26RFa stimulates food intake when centrally injected, and its orexigenic effect is even more pronounced in obese animals. The expression of 26RFa is up-regulated in the hypothalamus of obese animals, supporting the view that 26RFa may play a role in the development and/or

Article publié par EDP Sciences

maintenance of the obese status. Recent data indicate that 26RFa is also involved in the regulation of glucose homeostasis. 26RFa reduces glucose-induced hyperglycemia, increases insulin sensitivity and insulinemia. Furthermore, an oral ingestion of glucose strongly stimulates 26RFa release by the gut, indicating that 26RFa is a novel incretin. Finally, 26RFa is able to prevent pancreatic β cell death and apoptosis. In conclusion, this overview of the literature reveals that 26RFa is a key neuropeptide in the regulation of energy metabolism. Further fields of research are suggested including the pathophysiological implication of the 26RFa/GPR103 system.

Key words: RFamide peptide / food intake / glucose homeostasis / obesity / diabetes

1 Découverte du 26RFa et de son récepteur, le GPR103

Le 26RFa, aussi nommé QRFP (pour *pyroglutamilated RFamide peptide*), est un neuropeptide de 26 acides aminés qui appartient à la famille des peptides RFamide, famille dont les membres ont tous en commun la présence d'un motif Arg-Phe-NH_2 à leur extrémité C-terminale. Le 26RFa a été découvert simultanément en 2003 par trois équipes (dont la nôtre), qui ont développé des stratégies distinctes pour découvrir ce nouveau neuropeptide (Chartrel *et al.*, 2003 ; Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003). Notre propre groupe a purifié le 26RFa à partir de fractions prépurifiées de cerveaux de grenouille qui ont été criblées à l'aide d'un antisérum dirigé contre le peptide RFamide de mammifère NPFF (pour neuropeptide FF) (Chartrel *et al.*, 2002, 2003). Parallèlement, deux compagnies pharmaceutiques ont identifié le 26RFa par une approche bioinformatique *in silico* qui a consisté à rechercher, dans le génome humain, des précurseurs polypeptidiques putatifs présentant un motif Arg-Phe-Gly flanqué d'un site dibasique potentiel de clivage et possédant un peptide signal, mais pas de domaines transmembranaires (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003). Ces deux compagnies ont ainsi identifié une seule et même séquence inconnue jusqu'alors, rassemblant tous ces critères, et cette séquence codait le prépro26RFa (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003). Par la suite, la caractérisation biochimique du 26RFa ou de sa forme allongée en N-terminal, le 43RFa, dans l'hypothalamus humain et le cerveau de rat, a confirmé que le neuropeptide était bien produit chez les mammifères (Bruzzone *et al.*, 2006 ; Takayasu *et al.*, 2006). De plus, le clonage moléculaire du précurseur du 26RFa chez l'Homme (Chartrel *et al.*, 2003 ; Fukusumi *et al.*, 2003), le bœuf (Fukusumi *et al.*, 2003), le rat (Chartrel *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003), la souris (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003), la caille (Ukena *et al.*, 2010), le poulet (Ukena *et al.*, 2010) et le poisson rouge (Liu *et al.*, 2009), a révélé qu'un gène codant le 26RFa existait dans toutes les classes de vertébrés et que la séquence du neuropeptide était fortement conservée au cours de l'évolution, suggérant que le 26RFa exerce des fonctions physiologiques vitales.

Le 26RFa a, par la suite, été identifié comme le ligand endogène d'un récepteur humain orphelin, le GPR103, aussi désigné sous les termes de SP9155 et AQ27 (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003 ; Chartrel *et al.*, 2011). Le GPR103 est un récepteur à 7 domaines transmembranaires couplé aux protéines G (RCPG) qui présente 52 % d'identité de structure avec un autre récepteur de peptide RFamide de mammifère, le récepteur NPFF2 (Bonini *et al.*, 2000 ; Lee *et al.*, 2001). La forme allongée du 26RFa, le 43RFa, a une affinité légèrement plus élevée que le 26RFa pour le GPR103 et est aussi efficace que lui pour inhiber la production d'AMPc *in vitro* (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Jiang *et al.*, 2003). Le GPR103 n'est pas activé par d'autres peptides RFamide mammaliens tels que le PrRP ou encore les RFRP-1 et -3 (Dockray, 2004), suggérant donc que le GPR103 reconnaît sélectivement le 26RFa et le 43RFa. En revanche, il a été montré que le 26RFa est capable de se lier avec une affinité modérée (de l'ordre du μM) au NPFF2 (Gouardères *et al.*, 2007). Par ailleurs, deux gènes distincts codant le GPR103 ont été identifiés chez la souris, les GPR103A et B (Takayasu *et al.*, 2006). Le GPR103A montre 85 % d'identité de séquence avec le GPR103 humain et le GPR103B, 79 %, et les deux sous-types de GPR103 de souris sont similaires à 75 % (Takayasu *et al.*, 2006). Enfin, il a été montré que le 43RFa présente une affinité similaire pour le GPR103A et le GPR103B (Takayasu *et al.*, 2006). Deux gènes codant deux formes distinctes de GPR103, désignés QRFP-r1 et QRFPr-2, ont également été clonés chez le rat (Kampe *et al.*, 2006). Les QRFPr-1 et QRFPr-2 montrent respectivement 84 % et 82 % d'identité de séquence avec le GPR103 humain, et comme observé chez la souris, le 43RFa présente une affinité similaire pour les deux formes de GPR103 de rat (Kampe *et al.*, 2006). L'existence de deux formes de GPR103 semble être

une spécificité des rongeurs, car jusqu'à présent, un second gène codant le GPR103 n'a été identifié dans le génome d'aucune autre espèce de vertébrés.

2 Le 26RFa et le contrôle du comportement alimentaire

Dans toutes les espèces de vertébrés étudiées jusqu'à présent, les neurones exprimant le 26RFa dans le cerveau sont exclusivement localisés dans différents noyaux de l'hypothalamus, à savoir le noyau hypothalamique ventro-médian (VMH), l'aire hypothalamique latérale (LHA) et le noyau arqué (Arc) qui sont tous bien connus pour être impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire (Chartrel *et al.*, 2003 ; Takayasu *et al.*, 2006 ; Bruzzone *et al.*, 2007). Le GPR103 est détecté dans les mêmes structures hypothalamiques, mais aussi dans d'autres noyaux du cerveau comme le cortex piriforme ou encore le noyau du tractus solitaire qui eux aussi interviennent dans la régulation de la prise de nourriture (Bruzzone *et al.*, 2007). L'ensemble de ces observations neuroanatomiques suggérait que le 26RFa pouvait jouer un rôle dans la régulation centrale de l'homéostasie énergétique. De fait, l'injection intracérébro-ventriculaire (i.c.v.) en aigu de 26RFa chez la souris provoque une augmentation dose-dépendante de la consommation de nourriture (Chartrel *et al.*, 2003 ; Do Rego *et al.*, 2006 ; Takayasu *et al.*, 2006) et, en accord avec cette observation, l'expression du prépro26RFa s'est révélée fortement augmentée chez les souris soumises à un jeûne (Takayasu *et al.*, 2006). La forme allongée du 26RFa, le 43RFa, exerce un effet similaire au 26RFa et est même plus puissante que ce dernier pour stimuler l'appétit (Do Rego *et al.*, 2006 ; Moriya *et al.*, 2006 ; Takayasu *et al.*, 2006). De plus, l'injection chronique de 43RFa (par voie i.c.v.) pendant deux semaines induit une augmentation significative du poids et de la masse grasse de l'animal, qui est associée à un comportement hyperphagique (Moriya *et al.*, 2006). Enfin, l'activité orexigène du 43RFa apparaîtplus importante lorsque les souris sont soumises à un régime gras (Moriya *et al.*, 2006), et en accord avec cette observation, les niveaux d'ARNm du prépro26RFa sont fortement augmentés chez les souris génétiquement obèses *ob/ob* et *db/db* (Takayasu *et al.*, 2006), suggérant donc que la surexpression du 26RFa pourrait jouer un rôle non négligeable dans le maintien de l'état obèse.

L'administration i.c.v. de 26RFa stimule aussi la prise de nourriture chez le rat (Kampe *et al.*, 2006 ; Lectez *et al.*, 2009) et les mêmes effets sont observés lorsque le neuropeptide est directement injecté dans l'hypothalamus médian (Zagoracz *et al.*, 2015). En accord avec ces données, les concentrations en 26RFa/43RFa dans le VMH du rat sont augmentées lorsque les animaux sont soumis à un régime pauvre en graisse (Beck & Richy, 2009). Le 26RFa stimule aussi l'appétit du rat lorsque les animaux sont soumis à un régime riche en graisse (Primeaux *et al.*, 2008), et les rats obèses présentent une surexpression du prépro26RFa et du GPR103 dans le VMH et l'Arc (Schreiber *et al.*, 2016). En revanche, ces auteurs (Primeaux *et al.*, 2008 ; Beck & Richy, 2009) ainsi que Patel *et al.* (2008) n'ont pas retrouvé d'activité orexigène pour le 26RFa ou le 43RFa quand les rats sont alimentés avec une nourriture standard. En conclusion, l'ensemble de ces résultats indique que, chez la souris et le rat, le 26RFa et le 43RFa sont de puissants stimulateurs de la prise de nourriture et que l'effet orexigène de ces neuropeptides est accru chez les animaux soumis à un régime riche en graisse, suggérant donc que le 26RFa/43RFa pourrait être impliqué dans l'établissement et le maintien de l'obésité chez les mammifères. Chez l'Homme, deux études ont examiné l'évolution du système peptidergique 26RFa en fonction de l'état nutritionnel de l'individu. La première a été réalisée sur un groupe de jeunes femmes souffrant d'anorexie mentale (donc en état de sous-nutrition chronique) chez lesquelles les taux plasmatiques circadiens de 26RFa ont été mesurés (Galusca *et al.*, 2012). Les données obtenues révèlent que les taux circulants de 26RFa sont significativement plus élevés tout au long de la journée chez les adolescentes anorexiques comparées à un groupe de volontaires sains, suggérant donc, chez les anorexiques, la mise en place d'un mécanisme adaptatif pour favoriser l'ingestion de nourriture et augmenter le stockage de graisse afin de contrecarrer la malnutrition chronique (Galusca *et al.*, 2012). La seconde étude a mesuré les taux plasmatiques de 26RFa chez des individus obèses à jeun et montre des taux circulants du neuropeptide significativement plus élevés dans le groupe obèse par rapport au groupe de volontaires sains (Prévost *et al.*, 2015). Ce résultat est en accord avec ce qui a été précédemment observé chez les rongeurs et suggère que chez l'Homme aussi le 26RFa pourrait jouer un rôle dans l'établissement et le maintien de l'état obèse.

De façon intéressante, dans toutes les études rapportant un effet orexigène du 26RFa/43RFa, le neuropeptide était administré le matin, alors que le 26RFa/43RFa est sans effet sur la prise alimentaire lorsqu'il est donné la nuit. Parallèlement, il a été montré que le 26RFa/43RFa favorise le réveil chez la souris (Takayasu *et al.*, 2006), suggérant que l'activité orexigène du neuropeptide pourrait être une conséquence de son effet promoteur de l'éveil, hypothèse déjà émise pour un autre peptide orexigène, l'orexine. Cependant, chez le poisson zèbre, la surexpression du 26RFa dans l'hypothalamus provoque une diminution de l'activité locomotrice et favorise

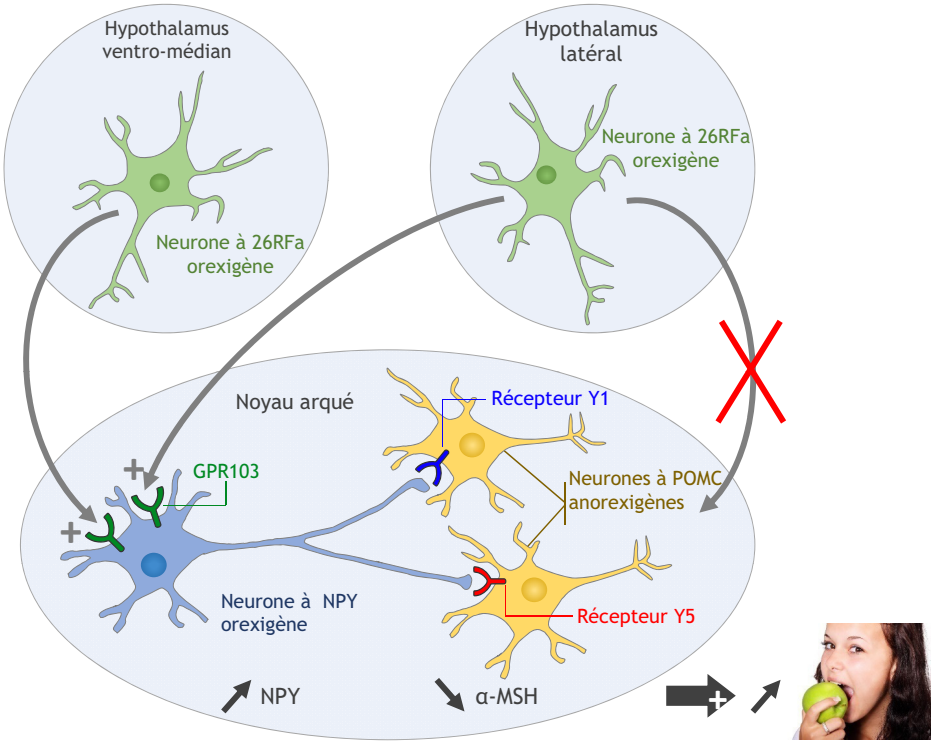

Fig. 1. Mécanisme d'action du 26RFa dans le contrôle hypothalamique du comportement alimentaire. Le 26RFa, produit par les neurones du noyau hypothalamique ventro-médian (VMH) et de l'aire hypothalamique latérale (LHA), stimule l'activité des neurones à NPY du noyau arqué (Arc) *via* l'activation du GPR103. La libération de NPY dans l'Arc inhibe alors l'activité des neurones à pro-opiomélanocortine (POMC) en activant ses récepteurs Y1 et Y5 présents sur les neurones à POMC, conduisant ainsi à une stimulation de l'appétit.

l'endormissement alors que l'absence de 26RFa dans l'hypothalamus se traduit par une augmentation de l'activité locomotrice et une réduction du temps de sommeil durant la journée (Chen *et al.*, 2016).

Le mécanisme d'action par lequel le 26RFa/43RFa régule le comportement alimentaire au sein de l'hypothalamus a aussi été recherché. La forte expression du GPR103 dans l'Arc (Fukusumi *et al.*, 2003 ; Takayasu *et al.*, 2006 ; Bruzzone *et al.*, 2007) suggérait que le 26RFa pourrait exercer son activité orexigène en modulant le système NPY/pro-opiomélanocortine (POMC) qui est considéré comme le régulateur essentiel du comportement alimentaire dans le cerveau. De fait, dans leur étude, Lectez *et al.* (2009) montrent que l'injection i.c.v. de 26RFa provoque une augmentation de l'expression et de la libération de NPY dans l'Arc, et simultanément, une diminution de l'expression de la POMC et de la libération d'α-MSH, le neuropeptide anorexigène dérivé de la POMC, et que ces effets du 26RFa sont accompagnés d'une augmentation de la consommation de nourriture. De plus, des expériences de double hybridation *in situ* on révélé que le transcrit du GPR103 est bien exprimé par les neurones à NPY de l'Arc mais non par les neurones à POMC, suggérant donc que l'effet inhibiteur du 26RFa sur l'activité des neurones à POMC est indirect et pourrait être relayé par les neurones à NPY qui sont connus pour inhiber l'activité des neurones à POMC. Cette hypothèse fut confirmée par l'observation selon laquelle des antagonistes spécifiques des récepteurs Y1 et Y5 du NPY, qui sont présents sur les neurones à POMC, abolissent totalement l'effet inhibiteur du 26RFa sur l'expression de la POMC et la libération d'α-MSH, ainsi que l'activité orexigène du 26RFa (Lectez *et al.*, 2009). En conclusion, l'étude de Lectez *et al.* (2009) démontre que le 26RFa exerce son activité orexigène *via* une modulation du système NPY/POMC de l'Arc. Plus précisément, il apparaît que le 26RFa stimule la prise alimentaire en stimulant la libération de NPY qui va inhiber l'activité des neurones à POMC en se liant aux récepteurs Y1 et Y5 (figure 1).

L'interaction éventuelle du système 26RFa/GPR103 avec d'autres systèmes peptidergiques connus pour contrôler le comportement alimentaire a également été recherchée. Le système orexine a suscité un intérêt particulier dans la mesure où il présente de nombreuses similarités avec le système 26RFa/GPR103. En effet, les orexines A et B sont

des neuropeptides à activité orexigène, comme leur nom l'indique, qui sont produits par une population neuronale localisée dans la LHA (Sakurai *et al.*, 1998), comme le 26RFa. Les fibres nerveuses à orexines sont présentes au voisinage des neurones à NPY de l'Arc (Ciriello *et al.*, 2003), le récepteur de type 1 des orexines est exprimé par les neurones à NPY de l'Arc (Bäckberg *et al.*, 2002) et l'orexine A stimule l'activité des neurones à NPY (Lopez *et al.*, 2002). De plus, l'augmentation de prise de nourriture induite par l'orexine A est totalement bloquée par un prétraitement avec des antagonistes des récepteurs Y1 et Y5 du NPY (Dube *et al.*, 2000 ; Yamanaka *et al.*, 2000). Enfin, il a été rapporté très récemment que les récepteurs des orexines pouvaient former des hétérodimères avec le GPR103 pour exercer leurs effets (Davies *et al.*, 2015). Cependant, le fait que l'activité orexigène du 26RFa n'est pas abolie chez les souris invalidées du gène des orexines (Takayasu *et al.*, 2006) et que l'expression du transcrit des orexines est diminuée chez les souris génétiquement obèses *ob/ob* et *db/db* (Yamanaka *et al.*, 2000), contrairement à celle du 26RFa qui est augmentée, indique que le système orexine n'est pas le médiateur des effets orexigènes du 26RFa.

En plus de son action centrale, plusieurs études révèlent que le 26RFa peut aussi intervenir dans la régulation de l'homéostasie énergétique au niveau périphérique. Il a notamment été montré que dans les cellules adipocytaires 3T3-L1, le 26RFa et le 43RFa induisent une importante accumulation des triglycérides, une augmentation de la captation d'acides gras, et une élévation de l'expression de gènes impliqués dans la captation des lipides comme FATP1, CD36, LPL, ACSL1, PPAR-γ et C/EBP-α (Mulumba *et al.*, 2010). Le 26RFa/43RFa inhibe aussi la lipolyse induite par l'isoprotérénol de façon dose-dépendante, et ces effets sont médiés par le GPR103B (Mulumba *et al.*, 2010). De plus, ces mêmes auteurs rapportent que l'expression du GPR103B est fortement augmentée dans le tissu adipeux des souris obèses alors que celle du prépro26RFa est diminuée, et que le 26RFa/43RFa inhibe la lipolyse adipocytaire chez ces animaux obèses (Mulumba *et al.*, 2010 ; 2015). En conclusion, l'ensemble de ces travaux appuie fortement l'idée selon laquelle le 26RFa/43RFa joue un rôle crucial dans la régulation centrale et périphérique de l'homéostasie énergétique, et qu'un dysfonctionnement de ce système peptidergique pourrait favoriser l'établissement et le développement de l'obésité.

3 Le 26RFa et le contrôle de l'homéostasie glucidique

Le diabète de type 2 (DT2) est l'une des complications métaboliques les plus fréquemment associées à l'obésité et se caractérise par une hyperglycémie chronique induite par un défaut de sécrétion d'insuline dû à une diminution de la masse des cellules β pancréatiques et à une altération de leur fonction endocrine, ainsi qu'à l'apparition d'une insulinorésistance (Butler *et al.*, 2011 ; Kahn *et al.*, 2014). Des études récentes ont révélé que des neuropeptides impliqués dans le contrôle hypothalamique du comportement alimentaire comme le NPY, les orexines, la ghréline, ou encore l'apéline pouvaient réguler le métabolisme glucidique, suggérant que les neuropeptides pourraient servir de lien entre homéostasie énergétique et glucidique, et constituer des cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement du DT2 associé à l'obésité (Greenwood *et al.*, 2011). Au vu de ces observations, une éventuelle implication du 26RFa dans le contrôle de l'homéostasie glucidique a été recherchée. Une première étude réalisée en 2007 a examiné les effets du 26RFa sur la sécrétion d'insuline et de glucagon dans un modèle de pancréas de rat perfusé (Egido *et al.*, 2007). Cette étude rapporte que le 26RFa réduit la libération d'insuline induite par le glucose, l'arginine et l'exendine-4 (un analogue du GLP-1), mais n'affecte pas la sécrétion de glucagon (Egido *et al.*, 2007). De plus, ces auteurs montrent que l'effet inhibiteur du 26RFa sur la sécrétion d'insuline induite par l'exendine-4 n'est pas observé lorsque les pancréas sont prétraités par la toxine *pertussis*, suggérant donc l'implication d'une protéine G_i sensible, couplée négativement à l'adénylyl-cyclase (Egido *et al.*, 2007). Récemment, deux équipes ont étudié plus en détail le rôle et le mécanisme d'action du 26RFa/43RFa dans le contrôle du métabolisme glucidique (Granata *et al.*, 2014 ; Prévost *et al.*, 2015). Les deux études révèlent que le 26RFa/43RFa et le GPR103 sont exprimés par les cellules β des îlots pancréatiques et par les lignées cellulaires insulino-sécrétantes de rongeurs, les lignées INS-1E et MIN6. L'étude de Granata *et al.* (2014) montre que le 26RFa et le 43RFa préviennent la mort cellulaire et l'apoptose des cellules β INS-1E et des îlots pancréatiques humains isolés, induites par les cytokines ou une glycolipotoxicité. De plus, ces mêmes auteurs mettent en évidence que le 43RFa potentialise, alors que le 26RFa inhibe, la sécrétion d'insuline induite par le glucose ou l'exendine-4, *via* le recrutement de protéines $G\alpha_s$ et $G\alpha_{i/o}$ respectivement (Granata *et al.*, 2014). Ils montrent aussi que l'inhibition de l'expression du GPR103 induite par des ARN d'interférence dans les cellules β INS-1 bloque totalement l'effet insulinotropique du 43RFa, mais pas l'effet insulinostatique du 26RFa. En conséquence, ces auteurs concluent que l'effet insulinotropique du 43RFa s'exerce *via* l'activation du GPR103 alors que l'effet insulinostatique du 26RFa s'effectuerait *via* l'activation d'un autre récepteur non identifié jusqu'à présent (Granata *et al.*, 2014). Enfin, ce travail révèle

que le 43RFa favorise la captation de glucose par les cellules β alors que le 26RFa n'a aucun effet.

Notre équipe a également exploré le rôle et le mécanisme d'action du 26RFa dans la régulation de l'homéostasie glucidique (Prévost *et al.*, 2015). Les études cliniques qui ont été menées chez l'homme ont mis en évidence une corrélation positive entre les taux plasmatiques de 26RFa et ceux d'insuline chez des individus obèses non diabétiques, des patients souffrant de DT2 et des volontaires sains. De plus, la mesure des taux circulants de 26RFa au décours d'un test de tolérance au glucose chez des volontaires sains a révélé une augmentation importante des taux plasmatiques du neuropeptide 2 heures après l'ingestion orale de glucose, indiquant l'existence d'un « lien » entre le système 26RFa et l'homéostasie glucidique (Prévost *et al.*, 2015). Les études immunohistochimiques toujours réalisées chez l'homme montrent la présence, en abondance, de 26RFa dans la paroi du tractus gastro-intestinal, de l'estomac au colon, suggérant que le tube digestif est la source essentielle du 26RFa circulant, qui pourrait ainsi être libéré sous l'effet d'une charge orale de glucose. Chez la souris, ces auteurs montrent que l'injection intrapéritonéale (i.p.) de 26RFa n'a aucun effet sur la glycémie de base. En revanche, le neuropeptide réduit fortement l'hyperglycémie induite par le glucose, indiquant que le 26RFa exerce plutôt un effet anti-hyperglycémiant qu'un effet hypoglycémiant. Cette même étude révèle également que le 26RFa augmente l'insulinosensibilité ainsi que la production d'insuline, suggérant que ces deux mécanismes participent à l'effet anti-hyperglycémiant du 26RFa (Prévost *et al.*, 2015). De plus, il apparaît que l'effet stimulateur du 26RFa sur la production d'insuline est dû à une action du neuropeptide sur les cellules β pancréatiques. En effet ces chercheurs montrent que le 26RFa provoque la libération d'insuline des cellules MIN6 qui expriment le GPR103, et que l'invalidation du GPR103 dans ces cellules abolit totalement l'effet insulinotropique du 26RFa. Ces résultats ne sont que partiellement en accord avec ceux de l'équipe italienne qui montrent que le 43RFa stimule la sécrétion d'insuline par les îlots β pancréatiques humains isolés et par les cellules β INS-1E *via* l'activation du GPR103 (Granata *et al.*, 2014). Néanmoins, ces auteurs montrent aussi que le 26RFa exerce un effet opposé à celui du 43RFa sur la sécrétion d'insuline, et que cet effet inhibiteur du 26RFa ne fait pas intervenir le GPR103. Ils suggèrent que le NPFF2, un autre récepteur auquel le 26RFa peut se lier, mais avec une affinité beaucoup plus faible que pour le GPR103, pourrait être impliqué dans l'activité insulinostatique du 26RFa. Dans leurs travaux, Prévost *et al.* (2015) indiquent que les cellules MIN6 n'expriment pas le NPFF2, ce qui pourrait peut-être expliquer la discordance de résultats entre les deux études.

Le 26RFa augmente l'insulinosensibilité et le GPR103 est co-exprimé avec le récepteur de l'insuline et le transporteur du glucose, GLUT-4, dans le muscle, le foie et le tissu adipeux (Prévost *et al.*, 2015). De plus, une étude publiée la même année révèle que le 26RFa est capable de potentialiser les effets de l'insuline sur la captation de glucose dans une lignée de cellules musculaires (Allerton & Primeaux, 2015). L'ensemble de ces observations suggère une action directe du 26RFa sur les tissus cibles de l'insuline. Enfin, il a aussi été montré que l'ingestion orale de glucose provoque après 30 min une augmentation importante des taux plasmatiques de 26RFa, alors que cette élévation de 26RFa n'est pas observée lorsque le glucose est injecté par voie intraveineuse (i.v.) (Prévost *et al.*, 2015). Ces dernières expériences démontrent que l'augmentation du 26RFa dans le sang est due à une libération massive du neuropeptide par le tube digestif après l'ingestion de glucose. En conclusion, ces travaux révèlent que le 26RFa joue un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie glucidique en agissant comme une incrétine (figure 2). Étayant cette hypothèse d'une implication du système 26RFa/GPR103 dans la régulation du métabolisme du glucose, une étude récente visant à identifier de nouveaux gènes associés au diabète de type 1 a mis en évidence une association robuste entre le gène du GPR103 et l'apparition de cette pathologie (Tomer *et al.*, 2015).

4 Conclusion

Les données accumulées durant la dernière décennie suggèrent que le système peptidergique 26RFa/GPR103 joue un rôle important dans le contrôle du comportement alimentaire et dans la régulation de l'homéostasie glucidique. L'obésité associée au DT2 représente un enjeu mondial de santé publique car elle est liée à une forte morbi-mortalité (notamment cardiovasculaire) avec un impact socio-économique considérable. En effet, 11 % de la population mondiale est obèse (*World Health Organisation*, 2014) et 400 millions de personnes souffrent de DT2 dans le monde (Kahn *et al.*, 2014). Au regard de ces chiffres alarmants, un des axes majeurs de recherche serait de rechercher si un dysfonctionnement du système 26RFa/GPR103 est associé à l'obésité et au diabète, et ensuite de développer des analogues stables du 26RFa pour traiter la pathologie. Dans ce cadre, il peut être rappelé que l'arsenal thérapeutique pour traiter le DT2 s'est enrichi ces dernières années avec l'apparition de nouvelles classes de médicaments comme des agonistes du GLP-1 ou des inhibiteurs de la dipeptidylpeptidase IV (DPPIV).

Par ailleurs, un nombre croissant d'études étaye l'hypothèse de l'existence, dans l'hypothalamus,

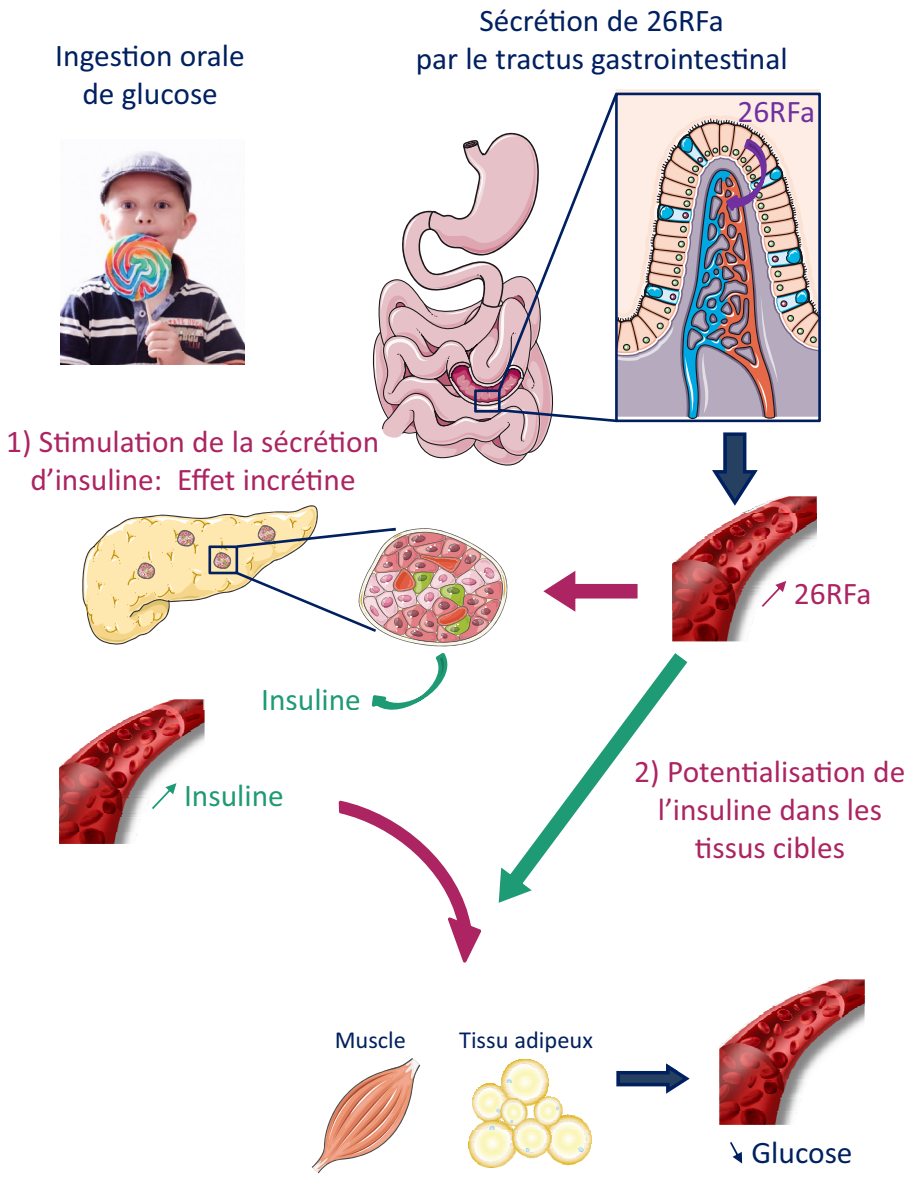

Fig. 2. Mécanisme d'action du 26RFa dans le contrôle périphérique de l'homéostasie glucidique. Le 26RFa, produit en abondance par le tractus gastro-intestinal, est libéré dans la circulation générale après une ingestion orale de glucose. Le 26RFa circulant stimule alors la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques et, dans le même temps, potentialise la sensibilité à l'insuline au niveau de ses tissus cibles, à savoir le muscle et le tissu adipeux, provoquant ainsi à une baisse de la glycémie.

d'un système gluco-régulateur qui agirait en coordination avec les îlots pancréatiques pour réguler la glycémie, *via* des mécanismes insulino-dépendants et -indépendants, et qui pourrait être responsables, à hauteur de 50 %, du contrôle de l'homéostasie glucidique. Au vu de ces observations, il serait tout à fait intéressant de rechercher si la population neuronale exprimant le 26RFa dans l'hypothalamus est impliquée dans la régulation centrale de l'homéostasie glucidique.

Références

Allerton, T.D., Primeaux, S.D. (2015). QRFP-26 enhances insulin's effects on glucose uptake in rat skeletal muscle cells. *Peptides*, 69, 77-79.

Bäckberg, M., Hervieu, G., Wilson, S., Meister, B. (2002). Orexin receptor-1 (OX-R1) immunoreactivity in chemically identified neurons of the hypothalamus: focus on orexin targets involved in control of food and water intake. *Eur J Neurosci*, 15, 315-328.

Beck, B., Richy, S. (2009).Suppression of QRFP 43 in the hypothalamic ventromedial nucleus of Long-Evans rats fed a high-fat diet. *Biochem Biophys Res Commun*, 383, 78-82.

Bonini, J.A., Jones, K.A., Adham, N., Forray, C., Artymyshyn, R., Durkin, M.M., Smith, K.E., Tamm, J.A., Boteju, L.W., Lakhlani, P.P., Raddatz, R., Yao, W.J., Ogozalek, K.L., Boyle, N., Kouranova, E.V., Quan, Y., Vaysse, P.J., Wetzel, J.M., Branchek, T.A., Gerald, C., Borowsky, B. (2000). Identification and characterization of two G protein-coupled receptors for neuropeptide FF. *J Biol Chem*, 275, 39324-39331.

Bruzzone, F., Lectez, B., Tollemer, H., Leprince, J., Dujardin, C., Rachidi, W., Chatenet, D., Baroncini, M., Beauvillain, J.C., Vallarino, M., Vaudry, H., Chartrel, N. (2006). Anatomical distribution and biochemical characterization of the novel RFamide peptide 26RFa in the human hypothalamus and spinal cord. *J Neurochem*, 99, 616-27.

Bruzzone, F., Lectez, B., Alexandre, D., Jégou, S., Mounien, L., Tollemer, H., Chatenet, D., Leprince, J., Vallarino, M., Vaudry, H., Chartrel, N. (2007). Distribution of 26RFa binding sites and GPR103 mRNA in the central nervous system of the rat. *J Comp Neurol*, 503, 573-591.

Butler, A.E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R.A., Butler, P.C. (2003). Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52, 102-110.

Chartrel, N., Dujardin, C., Leprince, J., Desrues, L., Tonon, M.C., Cellier, E., Jouenne, T., Simonnet, G., Vaudry, H. (2002). Isolation, characterization and distribution of a novel neuropeptide, *Rana* RFamide (R-RFa), in the brain of the European green frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol*, 448, 111-127.

Chartrel, N., Dujardin, C., AnouarY., Leprince, J., Decker, A., Clerens, S., Do-Régo J.L., Vandesande, F., Llorens-Cortes, C., Costentin, J., Beauvillain, J.C., Vaudry, H. (2003). Identification of 26RFa, a hypothalamic neuropeptide of the RFamide peptide family with orexigenic activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100, 15247-15252.

Chartrel, N., Alonzeau, J., Alexandre, D., Jeandel, L., Alvear-Perez, R., Leprince, J., Boutin, J., Vaudry, H., Anouar, Y., Llorens-Cortes, C. (2011).The RFamide neuropeptide 26RFa and its role in the control of neuroendocrine functions. *Front Neuroendocrinol*, 32, 387-397.

Chen, A., Chiu, C.N., Mosser, E.A., Kahn, S., Spence, R., Prober, D.A. (2016). QRFP and its receptors regulate locomotor activity and sleep in zebrafish. *J Neurosci*, 36, 1823-1840.

Ciriello, J., McMurray, J.C., Babic, T., de Oliveira, C.V. (2003). Collateral axonal projections from hypothalamic hypocretin neurons to cardiovascular sites in nucleus ambiguus and nucleus tractus solitarius. *Brain Res*, 991, 133-141.

Davies, J., Chen, J., Pink, R., Carter, D., Saunders, N., Sotiriadis, G., Bai, B., Pan, Y., Howlett, D., Payne, A., Randeva, H., Karteris, E. (2015). Orexin receptors exert a neuroprotective effect in Alzheimer's desease (AD) via heterodimerization with GPR103. *Sci Rep*, 5, 12584.

Dockray, G.J. (2004). The expanding family of -RFamide peptides and their effects on feeding behavior. *Exp Physiol*, 89, 229-235.

Do Rego, J.C., Leprince, J., Chartrel, N., Vaudry, H., Costentin, J. (2006). Behavioral effects of 26RFamide and related peptides. *Peptides*, 27, 2715-2721.

Dube, M.G., HorvathT.L., Kalra, P.S. (2000). Evidence of NPY Y5 receptor involvement in food intake elicited by orexin A in sated rats. *Peptides*, 21, 1557-1560.

Fukusumi, S., Yoshida, H., Fujii, R., Maruyama, M., Komatsu, H., Habata, Y., Shintani, Y., Hinuma, S., Fujino, M. (2003). A new peptidic ligand and its receptor regulating adrenal function in rats. *J Biol Chem*, 278, 46387-46395.

Egido, E.M., Hernandez, R., Leprince, J., Chartrel, N., Vaudry, H., Marco, J., Silvestre, R.A. (2007). 26RFa, a novel orexigenic neuropeptide, inhibits insulin secretion in the rat pancreas. *Peptides*, 28, 725-730.

Galusca, B., Jeandel, L., Germain, N., Alexandre, D., Leprince, J., Anouar, Y., Estour, B., Chartrel, N. (2012). Plasma levels of the orexigenic neuropeptide 26RFa in two populations with low body weight: constitutional thinness and anorexia nervosa. Influence of bingeing/purging episodes. *J Clin Endocrinol Metab*, 97, 2012-2018.

Gouardères, C., Mazarguil, H., Mollereau, C., Chartrel, N., Leprince, J., Vaudry, H., Zajac, J.M. (2007). Functional differences between NPFF1 and NPFF2 receptor coupling: High intrinsic activities of RFamide-related peptides on stimulation of $[^{35}S]GTP\gamma S$ binding. *Neuropharmacol*, 52, 376-386.

Granata, R., Settanni, F., Trovato, L., Gallo, D., Gesmundo, I., Nano, R., Gallo, M.P., Bergandi, L., Volante, M., Alloatti, G., Piemonti, L., Leprince, J., Papotti, M., Vaudry, H., Ong, H., Ghigo, E. (2014). RFamide Peptides 43RFa and 26RFa Both Promote Survival of Pancreatic β-Cells and Human Pancreatic Islets but Exert Opposite Effects on Insulin Secretion. *Diabetes*, 63, 2380-2393.

Greenwood, H.C., Bloom, S.R., Murphy, K.G. (2011).Peptides and their potential role in the treatment of diabetes and obesity. *Rev Diabet Stud*, 8, 355-368.

Jiang, Y., Luo, L., Gustafson, E.L., Yadav, D., Laverty, M., Murgolo, N., Vassileva, G., Zeng, M., Laz, T.M., Behan, J., Qiu, P., Wang, L., Wang, S., Bayne, M., Greene, J., Monsma, F. Jr., Zhang, F.L. (2003). Identification and characterization of a novel RF-amide peptide ligand for orphan G-protein-coupled receptor SP9155. *J Biol Chem*, 278, 27652-27657.

Kahn, S.E., Cooper, M.E., Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 383, 1068-1083.

Kampe, J., Wiedmer, P., Pfluger, P.T., Castaneda, T.R., Burget, L., Mondala, H., Kerr, J., Liaw, C., Oldfield, B.J., Tschöp, M.H., Bagnol, D. (2006). Effect of central administration of QRFP(26) peptide on energy balance and characterization of a second QRFP receptor in rat. *Brain Res*, 1119, 133-149.

Lectez, B., Jeandel, L., El-Yamani, F.Z., Arthaud, S., Alexandre, D., Mardargent, A., Jégou, S., Mounien, L., Bizet, P., Magoul, R., Anouar, Y., Chartrel, N. (2009). The orexigenic activity of the hypothalamic neuropeptide 26RFa is mediated by the neuropeptide Y and proopiomelanocortin neurons of the arcuate nucleus. *Endocrinology*, 150, 2342-2350.

Lee, D.K., Nguyen, T., Lynch, K.R., Cheng, R., Vanti, W.B., Arkhitko, O., Lewis, T., Evans, J.F., George, S.R., O'Dowd, B.F. (2001). Discovery and mapping of ten novel G protein-coupled receptor genes. *Gene*, 275, 83-91.

Liu, Y., Zhang, Y., Li, S., Huang, W., Liu, X., Lu, D., Meng, Z., Lin, H. (2009). Molecular cloning and functional characterization of the first non-mammalian 26RFa/QRFP orthologue in goldfish, *Carassius auratus*. *Mol Endocrinol*, 303, 82-90.

López, M., Seoane, L.M., García Medel, C., Diéguez, C., Señarís, R. (2002). Neuropeptide Y, but not agouti-related peptide or melanin-concentrating hormone, is a target peptide for orexin-A feeding actions in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 75, 34-44.

Moriya, R., Sano, H., Umeda, T., Ito, M., Takahashi, Y., Matsuda, M., Ishihara, A., Kanatani, A., Iwaasa, H. (2006). RFamide peptide QRFP43 causes obesity with hyperphagia and reduced thermogenesis in mice. *Endocrinology*, 147, 2916-2922.

Mulumba, M., Jossart, C., Granata, R., Gallo, D., Escher, E., Ghigo, E., Servant, M.J., Marleau, S., Ong, H. (2010). GPR103b functions in the peripheral regulation of adipogenesis. *Mol Endocrinol*, 24, 1615-1625.

Mulumba, M., Granata, R., Marleau, S., Ong, H. (2015). QRFP-43 inhibits lipolysis by preventing ligand-induced complex formation between perilipin A, caveolin-1, the catalytic subunit of protein kinase and hormone-sensitive lipase in 3T3-L1 adipocytes. *Biochim Biophys Acta*, 1851, 657-666.

Patel, S.R., Murphy, K.G., Thompson, E.L., Patterson, M., Curtis, A.E., Ghatei, M.A., Bloom, S.R. (2008). Pyroglutamylated RFamide peptide 43 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis via gonadotropin-releasing hormone in rats. *Endocrinology*, 149, 4747-4754.

Prévost G., Jeandel, L., Arabo, A., Coëffier, M., El Ouahli, M., Picot, M., Alexandre, D., Gobet, F., Leprince, J., Berrahmoune, H., Déchelotte, P., Malagon, M., Bonner, C., Kerr-Conte, J., Chigr, F., Lefebvre, H., Anouar, Y., Chartrel, N. (2015). The hypothalamic neuropeptide 26RFa acts as an incretin to regulate glucose homeostasis. *Diabetes*, 64, 2805-2816.

Primeaux, S.D., Blackmon, C., Barnes, M.J., Braymer, D., Bray, G.A. (2008). Central administration of the RFamide peptides, QRFP-26 and QRFP-43, increases high fat food intake in rats. *Peptides*, 29, 1994-2000.

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R.M., Tanaka, H., Williams, S.C., Richarson, J.A., Kozlowski, G.P., Wilson, S., Arch, J.R., Buckingham, R.E., Haynes, A.C., Carr, S.A., Annan, R.S., McNulty, D.E., Liu, W.S., Terrett, J.A., Elshourbagy, N.A., Bergsma, D.J., Yanagisawa, M. (1998). Orexins and orexin receptors : a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behaviour. *Cell*, 92, 573-585.

Schreiber, A.L., Arceneaux III, K.P., Malbrue, R.A., Mouton, A.J., Chen, C.S., Bench, E.M., Braymer, H.D., Primeaux, S.D. (2016). The effects of high fat diet and oestradiol on hypothalamic prepro-QRFP mRNA expression in female rats. *Neuropeptides*, 58, 103-109.

Takayasu, S., Sakurai, T., Iwasaki, S., Teranishi, H., Yamanaka, A., Williams, S.C., Iguchi, H., Kawasawa, Y.I., Ikeda, Y., Sakakibara, I., Ohno, K., Ioka, R.X., Murakami, S., Dohmae, N., Xie, J., Suda, T., Motoike, T., Ohuchi, T., Yanagisawa, M., Sakai, J. (2006). A neuropeptide ligand of the G protein-coupled receptor GPR103 regulates feeding, behavioral arousal, and blood pressure in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 7438-7443.

Tomer, Y., Dolan, L.M., Kahaly, G., Divers, J., D'Agostino, R.B., Imperatore, G., Dabelea, D., Marcovina, S., Black, M.H., Pihoker, C., Hasham, A., Hammerstad, S.S., Greenberg, D.A., Lotay, V., Zhang, W., Monti, M.C., Matheis, N. (2015). SEARCH for Diabetes in Youth Study. Genome wide identification of new genes and pathways in patients with both autoimmune thyroiditis and type 1 diabetes. *J Autoimmun*, 60, 32-39.

Ukena, K., Tachibana, T., Iwakoshi-Ukena, E., Saito, Y., Minakata, H., Kawaguchi, R., Osugi, T., Tobari, Y., Leprince, J., Vaudry, H., Tsutsui, K. (2010). Identification, localization, and function of a novel hypothalamic neuropeptide, 26RFa, and its cognate receptor, G protein-coupled receptor-103. *Endocrinology*, 151, 2255-2264.

Yamanaka, A., Kunii, K., Nambu, T., Tsujino, N., Sakai, A., Matsuzaki, I., Miwa, Y., Goto, K., Sakurai, T. (2000). Orexin-induced food intake involves neuropeptide Y pathway. *Brain Res*, 859, 404-409.

Zagoracz, O., Kovacs, A., Laszlo, K., Ollmann, T., Peczely, L., Lenard, L. (2015). Effect of direct QRFP-26 administration into the medial hypothalamic area on food intake in rats. *Brain Res Bull*, 118, 58-64.

World Health Organization (2014). Obésité et surpoids. *In: Aide Mémoire.*