

ARTICLE

Trafic et signalisation du récepteur de la leptine

Julie Dam*

Institut Cochin, Inserm U1016, CNRS UMR 8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 22 Rue Méchain, 75014 Paris, France

Reçu le 24 juin 2018

Résumé - Les récepteurs sont les pièces maîtresses véhiculant l'information apportée par l'hormone de l'environnement extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Par ce fait, la fraction de récepteur à la surface de la cellule peut déterminer la force du signal. La régulation du trafic du récepteur vers la surface de la cellule ainsi que les processus de rétention du récepteur dans les compartiments intracellulaires constituent des mécanismes clés pour l'activité du récepteur de la leptine (ObR). Une altération de ces mécanismes conduit au développement de l'obésité. Par ailleurs, la part du mécanisme classique d'activation des récepteurs à la membrane plasmique est mise en question, depuis la découverte d'une activité de signalisation propre à ces récepteurs intracellulaires. Ceux-ci peuvent déclencher une signalisation régulant une fonction particulière, différente de la signalisation des récepteurs de surface, ou en continuité avec ces derniers. Nous aborderons à la fois ces deux aspects en nous intéressant particulièrement au cas du récepteur de la leptine, c'est à dire i) la régulation de son niveau d'exposition à la surface cellulaire et ses répercussions sur le développement de l'obésité, et ii) la découverte de sa localisation et de sa signalisation dans certains compartiments intracellulaires.

Mots clés : récepteur de la leptine, trafic, exposition à la surface cellulaire, compartiments intracellulaires, obésité

Abstract - Traffic and signalisation of the leptin receptor. Receptors are the master regulators conveying the information provided by the hormone from the extracellular environment to the intracellular milieu. As a result, the level of receptors at the cell surface can determine the signaling strength. Regulation of receptor trafficking to the cell surface or receptor retention processes in intracellular compartments are key mechanisms for leptin receptor (ObR) activity. An alteration of these mechanisms leads to the development of obesity. However, the canonical mechanism of plasma membrane receptors activation is challenged by the discovery that intracellular receptors also have their own signaling activity inside specific intracellular compartments. These intracellular receptors can trigger signaling that regulates a particular function, different from, or in continuity with, surface receptor signaling. We will address both these aspects by focusing particularly on the case of the leptin receptor (ObR), *i.e.*, i) the regulation of its level of exposure to the cell surface and its impact on the development of obesity, and ii) the discovery of its location and signaling in some intracellular compartments.

Keywords: leptin receptor, cell surface exposure, trafficking, intracellular compartments, obesity

Abréviations

BBS	Syndrome de Bardet Biedl
BRET	<i>Bioluminescence Resonance Energy Transfer</i>
Endo1	Endospanine 1
ERK	<i>Extracellular Regulated Kinase</i>
FRET	<i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i>
IMM	Membrane mitochondriale interne
mPTP	Pore de transition de perméabilité mitochondriale

NRP1	Neuropiline-1
ObR	Récepteur de la leptine
ObRa	Isoforme courte du récepteur de la leptine
ObRb	Isoforme longue du récepteur de la leptine
OMM	Membrane mitochondriale externe
PI3K	Phosphoinositide 3 kinase
STAT3	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>

La leptine (Tartaglia *et al.*, 1995) et son récepteur (ObR) (Zhang *et al.*, 1994) constituent le système le plus important jusqu'à présent identifié qui contrôle le poids

*Auteur correspondant : julie.dam@inserm.fr

corporel en équilibrant l'apport alimentaire et la dépense énergétique dans la réponse adaptative à divers états énergétiques. La leptine est sécrétée par le tissu adipeux, circule dans le sang jusqu'au cerveau pour signaler aux neurones hypothalamiques l'état de l'énergie stockée dans le corps. Ainsi, la leptine fonctionne comme un adipostat de rétrocontrôle négatif sur l'expansion du tissu adipeux, et se comporte comme un signal de satiété efférent et une hormone anti-obésité. Une déficience congénitale rare de la leptine et des mutations dans le gène d'ObR déclenchent l'apparition précoce d'une obésité massive (Montague *et al.*, 1997).

À ce jour, pas moins de 50 gènes (y compris ceux de la leptine et son récepteur) sont liés à un risque accru d'obésité chez l'homme et les rongeurs (Farooqi & O'Rahilly, 2014). Paradoxalement, la plupart des patients obèses ne portent pas de mutations dans les gènes liés à la signalisation de la leptine, mais ont souvent des concentrations circulantes anormalement élevées de leptine. En tant que tels, ils sont considérés comme résistants à l'hormone. Nous avons été l'un des premiers à suggérer qu'un des mécanismes sous-jacents à l'origine du développement de la résistance à la leptine est un défaut de trafic intracellulaire du récepteur. Au-delà des régulations du trafic intracellulaire vers la membrane plasmique, de nouvelles données suggèrent qu'ObR pourrait également transiter et signaler dans la mitochondrie ou le noyau cellulaire pour réguler certaines fonctions spécifiques.

Le récepteur de la leptine

Les isoformes

ObR est un récepteur à un domaine transmembranaire appartenant à la famille des récepteurs de cytokines. Jusqu'à présent, six isoformes d'ObR sont produites par épissage alternatif ou clivage protéolytique. Toutes les isoformes ont une partie extracellulaire identique composée de six domaines : un domaine N-terminal, deux domaines CRH, un domaine de type immunoglobuline et deux domaines fibronectine de type III, à proximité du domaine transmembranaire ancré dans la membrane plasmique. L'isoforme longue ObRb est caractérisée par le plus long domaine intracellulaire capable d'activer toutes les voies de signalisation connues induites par la leptine. ObRb est fortement exprimée dans l'hypothalamus, une région du cerveau impliquée dans la régulation du poids corporel et particulièrement le noyau arqué (Schwartz *et al.*, 1996 ; Fei *et al.*, 1997). La fonction de l'isoforme courte ObRa est moins bien comprise et son profil d'expression suggère son implication dans le transport de la leptine à travers la barrière hémato-encéphalique et dans la clairance rénale de la leptine (Hileman *et al.*, 2000 ; Li *et al.*, 2013). Les fonctions spécifiques des autres isoformes courtes sont encore inconnues à ce jour.

L'architecture

La microscopie électronique à coloration négative (Mancour *et al.*, 2012) et la diffusion des rayons X aux

petits angles (SAXS) (Moharana *et al.*, 2014) suggèrent que le complexe ObR/leptine serait de stœchiométrie 2:2. Des interactions récepteur-récepteur supplémentaires qui se produiraient dans les membranes cellulaires, mais pas en solution, pourraient conduire à des complexes ObR/leptine d'ordre 4:2 ou 4:4. Ces architectures oligomériques seraient conformes aux données expérimentales de complémentation (Zabeau *et al.*, 2004) ou de *Bioluminescence Resonance Energy Transfer* (BRET) (Couturier & Jockers, 2003) et de *Fluorescence Resonance Energy Transfer* (FRET) (Biener *et al.*, 2005), suggérant une oligomérisation d'ordre supérieur et une réorganisation conformationnelle des complexes de récepteurs préformés après stimulation par la leptine. Cet arrangement du complexe entre ObRb et la leptine est un prérequis à l'activation de différentes voies de signalisation. Nous observons en BRET que la leptine stimule, de la même façon, les ObR de surface ou les ObR intracellulaires (c'est-à-dire sans ou avec une perméabilisation préalable de la cellule, respectivement) conduisant à un changement similaire du signal BRET. Ce même comportement suggère que le récepteur localisé dans les membranes intracellulaires pourrait être activé de la même façon qu'à la membrane plasmique, à la seule condition qu'il soit accessible à la leptine.

Les voies de signalisation

ObR n'a pas d'activité tyrosine kinase propre et est associé à la kinase JAK2. La stimulation du récepteur ObRb par la leptine déclenche l'activation de multiples voies de signalisation (Roujeau *et al.*, 2014 ; Wauman *et al.*, 2017) dont la voie Janus kinase 2 (JAK2)/*Signal Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3) dans l'hypothalamus pour réguler la balance énergétique (Bates *et al.*, 2003 ; Buettner *et al.*, 2006 ; Piper *et al.*, 2008). Certaines études suggèrent également un rôle important de la leptine sur l'homéostasie du glucose à travers l'activation de la voie Phosphoinositide 3 kinase (PI3K)/Protéine kinase B (PKB/AKT) au niveau des neurones du noyau arqué de l'hypothalamus (Bates *et al.*, 2005 ; Coppari *et al.*, 2005 ; Morton *et al.*, 2005). Bien d'autres voies de signalisation sont activées par la leptine, parmi lesquelles la voie *Extracellular Regulated Kinase* (ERK) (Rahmouni *et al.*, 2009).

L'altération de ces voies de signalisation peut engendrer le développement de l'obésité. L'obésité est caractérisée par une résistance à la leptine car, bien que la plupart des patients obèses aient des niveaux de leptine élevés dans le sang, l'hormone ne semble plus être capable d'assurer correctement ses fonctions. Plusieurs mécanismes sous-jacents ont été décrits pour rendre compte de cette résistance, tels un défaut de signalisation d'ObR par sur-activation de régulateurs négatifs, un défaut de transport de la leptine à travers la barrière hémato-encéphalique, ou le stress du réticulum endoplasmique. Notre groupe a émis l'hypothèse selon laquelle un défaut de trafic du récepteur qui conduirait à réduire le pool des récepteurs ObR à la surface des

cellules, rendant le récepteur peu accessible à l'hormone, participerait au mécanisme de résistance à la leptine.

La rétention et le trafic intracellulaires : l'importance du niveau des récepteurs de la leptine à la surface cellulaire

La quantité d'ObR présent à la surface cellulaire est déterminée par l'équilibre constant entre la synthèse du récepteur, son transport vers la membrane plasmique, son internalisation, son recyclage, sa dégradation et aussi le clivage protéolytique du domaine extracellulaire (ou ectodomaine). À l'équilibre physiologique, ObRa et ObRb sont principalement retenus dans le réseau golgien et trans-golgien et dans les endosomes, alors que le récepteur de surface subit une élimination constitutive permanente par endocytose, indépendante de la leptine, conduisant à une dégradation lysosomale, sans évidence de recyclage (Uotani *et al.*, 1999; Belouzard *et al.*, 2004). La demi-vie du récepteur est courte et estimée à moins de 2h. Ces processus entraînent de faibles niveaux de localisation d'ObR à la surface cellulaire (5–20%) (Belouzard *et al.*, 2004). Une quantité suffisante d'ObR au niveau de la membrane plasmique est cruciale, car la localisation du récepteur y est nécessaire pour déclencher la réponse de signalisation. Un réseau de protéines intracellulaires régulant l'expression de surface d'ObR a récemment été identifié, parmi lesquelles l'endospanine 1, les protéines BBS ou certaines protéines du complexe d'ubiquitination.

Trafic et signalisation d'ObR régulée par l'endospanine 1

L'endospanine 1 (Endo1, également connue sous le nom de Ob-RGRP ou LEPROT) est une petite protéine à quatre domaines transmembranaires, codée chez l'homme par le même gène qu'ObR, mais sans similarité de séquence d'acides aminés avec ce dernier (Bailleul *et al.*, 1997; Vauthier *et al.*, 2012). Nous avons montré qu'Endo1, principalement localisée dans les compartiments intracellulaires (Golgi, trans-Golgi et endosomes tardifs), interagit avec ObRa et ObRb, les retient à l'intérieur des cellules et les dirige des endosomes aux lysosomes pour leur dégradation (Seron *et al.*, 2011). En surexprimant Endo1, on diminue l'exposition d'ObR au niveau de la membrane plasmique (Couturier *et al.*, 2007; Seron *et al.*, 2011). Au contraire, l'extinction d'Endo1 diminue la dégradation lysosomale d'ObR en faveur d'un recyclage du récepteur vers la membrane plasmique à l'origine de l'augmentation de l'exposition de surface du récepteur (Seron *et al.*, 2011). L'inactivation d'Endo1 augmentant le nombre d'ObR à la surface cellulaire permet donc d'augmenter la force de signalisation induite par la leptine et conduit à une amélioration de la phosphorylation de STAT3 (Couturier *et al.*, 2007; Vauthier *et al.*, 2014). Nous observons que l'expression d'Endo1 est augmentée dans le noyau arqué de l'hypothalamus des souris devenues obèses après un régime gras, indiquant que, dans la pathogénie de

l'obésité, la protéine de trafic Endo1 contribue à restreindre le nombre de récepteurs ObR accessibles à la leptine. De ce fait, en diminuant l'expression d'Endo1 dans le noyau arqué, on a pu corriger et même empêcher le développement de l'obésité après un régime riche en graisses, chez des souris initialement obèses ou minces, respectivement (Couturier *et al.*, 2007; Vauthier *et al.*, 2017).

De façon surprenante, malgré l'augmentation attendue de la localisation de surface d'ObR, l'activation induite par la leptine de la voie PI3K/AKT, au contraire de la voie STAT3, est fortement diminuée en l'absence d'Endo1. Ceci suggère un mécanisme d'action additionnel d'Endo1 sur la signalisation ObR, indépendant de son effet sur la fraction des récepteurs de surface. Dans le complexe de signalisation, Endo1, en interagissant également avec p85, la sous-unité régulatrice de PI3K, est requise par la leptine pour activer la voie PI3K. L'altération de cette dernière perturbe la régulation de l'homéostasie glucidique avec développement d'un diabète de type 2. Endo1 n'est pas seulement une molécule de trafic intracellulaire d'ObR, mais elle participe aussi directement à la régulation de la signalisation du récepteur. L'altération des niveaux d'expression conduit au déclenchement d'une signalisation biaisée et altère l'équilibre entre deux voies de signalisation d'ObR.

La nature d'Endo1 qui est une protéine de trafic, sa localisation principalement endosomale, et le fait qu'Endo1 soit nécessaire à l'activation d'une des voies de signalisation de la leptine, nous laissent supposer que la régulation de la voie PI3K de la leptine pourrait avoir une composante intracellulaire dont le signal serait déclenché ou maintenu dans les endosomes de signalisation. Ces derniers sont particulièrement importants dans le contexte neuronal, où la structure étendue du neurone avec dendrites et axones nécessite le maintien de la signalisation intracellulaire sur de longues distances. À cet égard, les endosomes assurent le transport rétrograde du récepteur *Tropomyosin receptor kinase A* (TrkA) et de ses effecteurs de signalisation, depuis les terminaisons axonales jusqu'au corps cellulaire (Lin *et al.*, 2006; Schmiege *et al.*, 2014). Les endosomes de signalisation peuvent donc permettre d'amplifier et de compartimenter la signalisation des récepteurs intracellulaires (Kermorgant & Parker, 2008; Taelman *et al.*, 2010). Un nombre croissant d'études souligne l'importance des mécanismes endocytaires pour la signalisation des récepteurs de cytokines (*Tumor Necrosis Factor-Receptor superfamily* (TNF-R), *Interleukin Receptors* (IL-R) et *Interferon Receptors* (IFN-R)). Certains récepteurs de cytokine nécessitent clairement une endocytose pour une transduction de signal appropriée (Cendrowski *et al.*, 2016).

Plus récemment, d'autres régulateurs du trafic intracellulaire d'ObR ont été identifiés comme étant impliqués dans la pathogénie de l'obésité, tels que les protéines BBS et des protéines du complexe d'ubiquitination comme MAGEL2. Ces protéines ciblent également l'exposition d'ObR à la membrane plasmique, révélant l'importance de ce processus très finement régulé.

Les protéines du syndrome de Bardet-Biedl (BBS)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est un trouble autosomique récessif très pléiotrope dans lequel l'obésité est une caractéristique prédominante (Forsythe & Beales, 2013). Huit protéines BBS dont BBS1, BBS2 et BBS4 forment un complexe stable, appelé le BBSome, qui assure le trafic des protéines comme celles des récepteurs vers le cil primaire et éventuellement vers d'autres compartiments membranaires (Klink *et al.*, 2017). Le cil primaire est un petit appendice formé de microtubules immobiles, qui dépasse de la surface de la plupart des cellules, incluant les neurones (Zaghloul & Katsanis, 2009). Les cils primaires des neurones hypothalamiques jouent un rôle essentiel dans la détection des signaux métaboliques. Les protéines BBS régulent la fonction des cils primaires en assurant le trafic protéique vers la membrane ciliaire (Guo & Rahmouni, 2011 ; Kim & Dynlacht, 2013).

Une relation surprenante entre récepteur de la leptine et cil primaire a été observée. Celle-ci se situerait à deux niveaux, l'un étant la régulation de la longueur des cils par la leptine associée à une localisation d'ObR au niveau du corps basal du cil primaire et l'autre étant l'importance de certaines protéines du BBSome comme BBS1 et BBS2 dans le contrôle de la localisation d'ObR à la surface cellulaire, indépendamment du cil primaire.

Les protéines BBS1 et BBS2 du BBSome interagissent avec ObR, permettant le contrôle du transport d'ObRb à la surface cellulaire et régulant ainsi le maintien de l'homéostasie énergétique. Au contraire d'Endo1 qui retient ObR à l'intérieur, BBS1 véhicule ObR vers la membrane plasmique. Ainsi, la délétion de BBS1, spécifiquement dans les neurones exprimant ObRb, provoque l'obésité chez la souris (Seo *et al.*, 2009 ; Guo *et al.*, 2016). Ce mécanisme de régulation des pools d'ObR de surface serait à l'origine de l'obésité chez les patients atteints du syndrome de Bardet-Biedl avec mutations dans les gènes BBS. Au-delà de la régulation du trafic d'ObR à la membrane plasmique par certaines protéines BBS, la signalisation de la leptine impliquant sa localisation spécifique au niveau du cil primaire demeure encore incomplètement résolue à ce jour (voir plus bas).

Ubiquitination, endocytose et obésité

ObR subit une endocytose constitutive des récepteurs néo-synthétisés. ObRa est internalisé à partir de la surface cellulaire après ubiquitination au niveau de deux résidus lysine par une voie induite par la clathrine (Belouzard & Rouille, 2006). L'ubiquitination régule généralement l'exposition à la surface cellulaire des récepteurs en affectant leur dégradation, leur internalisation et le tri intracellulaire ultérieur. L'activité des ubiquitine-ligases E3 est contrebalancée par l'activité des enzymes dés-ubiquitinantes, qui permettent un contrôle spatio-temporel du trafic, du *turn-over* et de la demi-vie des récepteurs (Clague *et al.*, 2012). L'interaction de l'ubiquitine ligase RNF41 avec ObR (Wauaman *et al.*, 2011) et avec la dés-ubiquitinase USP8 favorise le recyclage d'ObR

à la membrane plasmique, plutôt que sa dégradation lysosomale, par un effet indirect, la déstabilisation du complexe de machinerie endocytaire ESCRT-O, dont le rôle est d'accompagner les protéines vers les lysosomes (De Ceuninck *et al.*, 2013). Plus récemment, l'identification d'autres acteurs participant au trafic du récepteur ObR a été élargie aux protéines necdine et MAGEL2, qui s'assemblent en complexes d'ubiquitination et qui agissent avec RNF41 pour réguler les niveaux d'ObR à la membrane plasmique. L'altération de ce système est proposée comme étant à l'origine de certaines manifestations du syndrome de Prader-Willi. Dans ce syndrome, l'obésité, associée à une hyperphagie et à une perturbation des voies contrôlant la satiété, serait la résultante des mutations de MAGEL2 et de necdine (Wijesuriya *et al.*, 2017). Ces mutations semblent altérer le tri et la dégradation d'ObR, par une voie dynamique dépendante de l'ubiquitine, réduisant ainsi la disponibilité d'ObR à la membrane plasmique. Les patients atteints du syndrome de Prader-Willi et qui portent des mutations au niveau de MAGEL2 et de la necdine sont, par conséquent, résistants aux effets de la leptine et développent une obésité.

L'ensemble de ces données révèle l'importance du réseau régulant le trafic intracellulaire d'ObR dans le maintien correct de la signalisation du récepteur par l'intermédiaire d'un contrôle des niveaux des récepteurs de surface. Une perturbation de cet équilibre semble conduire au développement de l'obésité chez l'homme. D'autres systèmes ont également révélé l'importance d'un niveau correct des récepteurs membranaires ou des canaux ioniques à la surface cellulaire. Dans ce contexte, un médicament contre la mucoviscidose s'est révélé efficace en essai clinique de par sa capacité à rétablir l'expression de surface du canal chlorure CFTR muté, en combinaison avec un potentialisateur de l'activité de CFTR (Wainwright *et al.*, 2015). De même, différentes mutations du gène codant pour le récepteur de la mélanocortine MC4R entraîne une rétention intracellulaire du récepteur, qui peut être remédiée par des molécules chaperonnes capables de corriger ce défaut (Huang *et al.*, 2017). Dans cette recherche, nous avons également essayé d'identifier des molécules chimiques capables d'augmenter le pool des molécules d'ObR à la surface cellulaire, avec pour cible thérapeutique la liaison entre résistance à la leptine et l'obésité (Kim *et al.*, 2014). De telles molécules pourraient devenir utiles aux patients atteints du syndrome de Prader-Willi ou du syndrome de Bardet-Biedl.

Au-delà des récepteurs ObR présents à la membrane plasmique, d'autres fonctions assurées par ObR semblent être dépendantes d'un pool de récepteurs dans les compartiments intracellulaires.

Fonction du récepteur de la leptine dans les compartiments intracellulaires

ObR est constamment internalisé et est principalement localisé dans les compartiments intracellulaires. Plusieurs fonctions de ce récepteur semblent prendre leur

origine à la membrane plasmique et persister dans la cellule ou éventuellement se déclencher directement dans les compartiments intracellulaires. Les études à ce sujet sont encore éparpillées et peu nombreuses ; nous allons faire l'état des lieux de la connaissance actuelle sur ObR dans ce contexte.

Un changement de paradigme a émergé lorsque la signalisation directe de certains récepteurs membranaires a été découverte spécifiquement dans les compartiments intracellulaires ou dans les organites. Les récepteurs membranaires peuvent se déplacer de la surface cellulaire vers le noyau de la cellule où ils transduisent les signaux de manière directe. Plus récemment, des observations ont été accumulées révélant que les récepteurs membranaires peuvent également être localisés dans les mitochondries et y être activés directement. La localisation nucléaire et mitochondriale d'ObR et/ou de la leptine ont également été décrits, posant la question de la signalisation et de la fonction d'ObR spécifiques à ces compartiments.

Le cil primaire

Certaines données suggèrent que le complexe du corps basal des cils primaires des neurones agit comme une plateforme pour la signalisation d'ObR. La longueur des cils primaires des neurones diminue dans l'hypothalamus des souris obèses ayant un déficit en leptine et une résistance à la leptine (Han *et al.*, 2014 ; Kang *et al.*, 2015), au niveau des neurones hypothalamiques (Han *et al.*, 2014). De la même façon, la suppression d'un autre gène ciliaire, *Retinitis Pigmentosa GTPase Regulator-Interacting Protein 1 Like* (RPGRIP1L), dans les cultures neuronales, réduit la localisation d'ObR à proximité du cil et l'activation de la cascade de signalisation en aval (Stratigopoulos *et al.*, 2011). Il semblerait que RPGRIP1L interagisse avec ObR et régule son trafic vers la zone périciliaire (Stratigopoulos *et al.*, 2014). Les souris déficientes pour RPGRIP1L se caractérisent alors par une obésité accompagnée d'hyperphagie résultant de la diminution de la sensibilité à la leptine dans les neurones exprimant ObR (Stratigopoulos *et al.*, 2016). Ces résultats indiquent que des anomalies de la signalisation de la leptine au niveau du cil primaire pourraient contribuer à l'obésité.

De façon surprenante, des résultats contradictoires concernant le rôle des cils dans la signalisation de la leptine ont été rapportés (Berbari *et al.*, 2013 ; Guo *et al.*, 2016). Ces études ont démontré que les souris mutantes BBS4 pré-obèses présentent une signalisation normale de la leptine avant que l'obésité ne se développe, suggérant que la résistance à la leptine serait secondaire au développement de l'obésité et à l'altération de BBS4 (Berbari *et al.*, 2013). Celle-ci n'est pas non plus impactée après perturbation de la machinerie de transport intraflagellaire (IFT) nécessaire pour la ciliogenèse (en supprimant le gène *Ift88*) (Berbari *et al.*, 2013 ; Guo *et al.*, 2016). Ces résultats suggèrent, quant à eux, que les cils impliqués dans la résistance à la leptine et les défauts de signalisation d'ObR observés dans la ciliopathie pourraient ne pas être la

principale cause de l'obésité. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour résoudre ces contradictions ; notamment quel serait le rôle exact d'ObR au niveau des zones périciliaire et ciliaire, et y est-il fonctionnel et capable de signaler spécifiquement, indépendamment de sa localisation à la membrane plasmique ?

La mitochondrie

De plus en plus de récepteurs membranaires, que ce soit les récepteurs de la famille des récepteurs tyrosine kinase ou celle des récepteurs couplés aux protéines G, peuvent être localisés dans les mitochondries où ils activent directement leurs voies de signalisation. Cette voie émergente de signalisation mitochondriale est également suggérée pour le récepteur de la leptine dans le contexte des cellules cardiaques (Martinez-Abundis *et al.*, 2015). Bien que les adipocytes soient la principale source de leptine, les cardiomyocytes peuvent également synthétiser cette protéine *de novo* (Purdham *et al.*, 2004 ; Rajapurohitam *et al.*, 2006), ce qui permet à la leptine produite localement d'agir directement sur des cibles intracellulaires. La production de leptine par les cellules cardiaques et sa signalisation sont augmentées chez les souris après un infarctus du myocarde (McGaffin *et al.*, 2009). Une étude récente a suggéré la présence des protéines ObR et de la leptine directement dans les mitochondries cardiaques de rat en microscopie électronique et a montré que le récepteur y est fonctionnel (Martinez-Abundis *et al.*, 2015). La stimulation des mitochondries par la leptine semble agir sur le pore de transition de perméabilité mitochondriale (mPTP) qui est une structure transitoire formée dans la membrane mitochondriale interne (IMM) en conditions pathologiques, pouvant entraîner la rupture de la membrane mitochondriale externe (OMM) et conduire à la libération de facteurs provoquant l'apoptose. L'activation des récepteurs ObR au niveau de mitochondries purifiées induit l'ouverture du pore mPTP comme en témoigne le gonflement mitochondrial et la rupture de l'OMM. Cet effet est inhibé en présence de l'inhibiteur du canal mPTP ainsi que par l'antagoniste d'ObR. Une leptine recombinante rendue perméable aux cellules par l'addition d'une séquence de translocation membranaire (MTS-Leptine) augmente l'ouverture du mPTP dans les cardiomyocytes intacts. Au contraire, la leptine n'activant que les récepteurs de surface n'a aucun effet. Ces observations mettent en lumière la différence d'impact entre l'activation de récepteurs à la membrane plasmique et celle plus locale et directe de récepteurs mitochondriaux.

Même si cette étude reste encore isolée, la présence de la leptine et de son récepteur directement dans la mitochondrie mérite d'être confirmée dans le futur avec des investigations plus poussées. D'autant plus que les protéines de signalisation en aval, connues pour véhiculer la signalisation de la leptine, sont aussi accumulées dans les mitochondries, telles que STAT3 montrée comme pouvant lier l'ADN mitochondrial (Macias *et al.*, 2014 ; Xu

et al., 2016), AKT (Bijur & Jope, 2003) ou ERK (Dagda *et al.*, 2008). Cette étude suggère également l'implication du système leptine au niveau mitochondrial dans les pathologies cardiaques. D'autres récepteurs cytokine ou récepteurs tyrosine kinase ont également été décrits comme étant fonctionnels dans la mitochondrie. À cet égard, la translocation mitochondriale de l'EGFR a été observée dans les ganglions lymphatiques métastatiques et contribuerait à l'invasion des métastases en régulant la dynamique des mitochondries (Che *et al.*, 2015). De même, dans les hépatocytes, la translocation du récepteur TNFR1 aux mitochondries induite par TNF- α pourrait réguler le complexe de signalisation conduisant à la mort cellulaire (*Death-Inducing Signaling Complex*, DISC) (Eum *et al.*, 2011). On remarque que pour beaucoup d'auteurs, l'activation des récepteurs mitochondriaux semble être associée à des conséquences pathologiques et néfastes pour la cellule.

Le noyau cellulaire

Depuis plus de trente ans, de multiples études montrent que divers types de récepteurs de surface cellulaire, tels que les récepteurs tyrosine kinase tels que EGFR (Lin *et al.*, 2001) ou le récepteur de la prolactine (Rycyzyn & Clevenger, 2002) ainsi que les récepteurs de cytokines (IFN γ , Subramaniam *et al.*, 2001 ; IL1, Curtis *et al.*, 1990), sont détectés dans les noyaux, suggérant que les ligands agissent comme leur propre messenger à travers des interactions avec des protéines nucléaires. Ainsi, la relation entre l'activation des récepteurs et la signalisation cellulaire s'avère être plus dynamique que prévu. L'implication directe des molécules de récepteur/ligand dans la transcription de gènes apporterait une spécificité sur la réponse résultante. En effet, un point reste obscur : comment différents systèmes récepteur/ligand activant les mêmes facteurs de transcription comme STAT (pour les cytokines) peuvent-ils se traduire par une activation spécifique des gènes au niveau du noyau alors que le ligand inducteur est situé bien loin au niveau de la membrane plasmique ?

Ainsi l'activité transcriptionnelle et/ou co-transcriptionnelle directe des systèmes récepteur/ligand a des implications importantes pour la spécificité des activités biologiques déclenchées par ces récepteurs/ligands (Johnson *et al.*, 2004).

En collaboration avec l'équipe d'Olivier Hermine et Zakia Belaid-Choucair, nous avons observé la localisation du système leptine associé à la neuropiline-1 (NRP1) dans le noyau de la cellule associée à la régulation de la transcription des gènes (*Cancer Research abstract*, doi: 10.1158/1538-7445.AM2014-3293).

Le système leptine est connu pour participer au développement du cancer du sein (Ando & Catalano, 2011 ; Wang *et al.*, 2018). Plusieurs études ont également démontré l'implication de la neuropiline-1 dans la progression tumorale indépendamment de ses co-récepteurs connus que sont les récepteurs du *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (Gray *et al.*, 2005). Sur la

base des connexions croissantes entre le cancer du sein et l'obésité, nous avons postulé que la leptine et ObR pourraient agir dans les processus cancéreux, conjointement avec NRP1, qui est un co-récepteur à spectre large interagissant avec de multiples récepteurs et ligands : TGF β R1 (Glinka *et al.*, 2011), Sema3A (He & Tessier-Lavigne, 1997), VEGF (Soker *et al.*, 1996). La leptine induirait des métastases dans les ganglions lymphatiques uniquement dans un modèle murin de xéno greffes avec des cellules de cancer du sein surexprimant NRP1. Nous avons démontré par co-immunoprécipitation, *Proximity Ligation Assay* et analyse BRET que NRP1 est un co-récepteur d'ObR. La stimulation par la leptine induit la translocation du complexe ObR/NRP1 dans le noyau. L'analyse de NRP1 en Chip-Seq au niveau des cellules cancéreuses MDA-MB-231 a permis d'identifier des sites de liaison de facteurs de transcription impliqués dans les métastases du cancer du sein. Cette étude suggère l'importance de l'implication nucléaire directe du système leptine et de la neuropiline dans le développement des métastases associées au cancer du sein.

Ces résultats sont étayés par une étude récente observant la présence nucléaire des protéines ObR/leptine dans les tissus du sein chez la femme. Dans des tissus du sein d'origine cancéreuse, les auteurs ont observé en microscopie électronique à transmission (TEM) que la leptine et l'ObR sont concentrés dans le noyau des cellules cancéreuses, contrairement aux tissus sains, suggérant que le noyau est un site d'action direct du système leptine dans le développement tumoral (Al-Shibli *et al.*, 2017).

Plus récemment, une étude a décrit dans un contexte cellulaire totalement différent, que la translocation de la leptine dans le noyau des cellules adipocytaires était corrélée au déclenchement d'un processus de thermogénèse appelé « brunissement » (ou *browning*) du tissu adipeux (Velickovic *et al.*, 2018). Il existe deux types différents de tissus adipeux, le blanc et le brun. Le premier stocke les graisses, le second les brûle. De nouvelles cellules dites « beiges », dispersées dans le tissu adipeux blanc, ont été récemment découvertes (Bartelt & Heeren, 2014). Les cellules adipeuses brunes ou beiges ont la propriété unique d'utiliser l'énergie du tissu graisseux pour la transformer et la dissiper en chaleur, en produisant des protéines mitochondriales comme la protéine découplante 1 (UCP1), permettant ainsi de brûler les calories excédentaires. L'activation spécifique de ces protéines au sein du tissu adipeux blanc en ferait un traitement prometteur contre le diabète et l'obésité.

Les cellules souches mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse (ou pré-adipocytes), semblent pouvoir se différencier en cellules à caractère « brun » après une exposition à 32 °C au lieu de 37 °C. Ces cellules ont montré un « brunissement » des adipocytes, associé à une translocation marquée de la leptine vers les noyaux adipocytaires, suggérant un rôle direct de la leptine mitochondriale dans le processus de brunissement (Velickovic *et al.*, 2018). En effet, la leptine était exprimée dans les deux groupes d'adipocytes mais étonnamment, contrairement aux adipocytes différenciés à 37 °C où la leptine était

retrouvée dans le cytoplasme, dans les adipocytes différenciés à 32°C, la leptine était plutôt localisée dans le noyau. Sa fonction exacte dans les adipocytes, directement au niveau nucléaire, est à ce jour totalement inconnue.

L'implication de la leptine et d'ObR dans la signalisation nucléaire et mitochondriale et son impact sur le développement de maladies méritent plus d'attention dans le futur.

Conclusions

ObR est un récepteur principalement intracellulaire dont le niveau d'exposition à la surface cellulaire est finement régulé par différents systèmes; comment ces systèmes s'intègrent entre eux pour réguler le trafic intracellulaire du récepteur et sa capacité de signalisation reste encore à déterminer. De par le faible niveau d'ObR présent normalement à la membrane plasmique qui détermine sa force de signalisation, une altération de l'équilibre régulant ce pool de récepteurs de surface peut engendrer le développement de l'obésité. Au-delà de la dynamique des récepteurs à la membrane plasmique et de leur importance dans la signalisation d'ObR, de plus en plus d'études semblent suggérer l'implication directe du système leptine dans les compartiments intracellulaires où ObR pourrait engendrer une signalisation locale. Les outils de détection du récepteur et son très faible niveau d'expression constituent un frein à ce type d'étude. Cependant, le développement des techniques biophysiques, le recours au système de surexpression ciblée ou la connaissance que nous accumulons sur d'autres types de récepteurs pourraient permettre d'aiguiller les études sur la signalisation intracellulaire d'ObR. Les études à ce sujet sont encore éparses mais devraient se développer davantage dans le futur, d'autant plus qu'une part importante de l'implication de cette signalisation dans le développement de maladies telles que le cancer et les maladies cardiaques/métaboliques semble être suggérée.

Références

- Al-Shibli, S.M., Amjad, N.M., Al-Kubaisi, M.K., Mizan, S. (2017). Subcellular localization of leptin and leptin receptor in breast cancer detected in an electron microscopic study. *Biochem Biophys Res Comm*, 482, 1102-1106.
- Ando, S., Catalano, S. (2011). The multifactorial role of leptin in driving the breast cancer microenvironment. *Nat Rev Endocrinol*, 8, 263-275.
- Bailleul, B., Akerblom, I., Strosberg, A.D. (1997). The leptin receptor promoter controls expression of a second distinct protein. *Nucleic Acids Res*, 25, 2752-2758.
- Bartelt, A., Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol*, 10, 24-36.
- Bates, S.H., Stearns, W.H., Dundon, T.A., Schubert, M., Tso, A. W., Wang, Y., Banks, A.S., Lavery, H.J., Haq, A.K., Maratos-Flier, E., Neel, B.G., Schwartz, M.W., Myers, M. G., Jr. (2003). STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*, 421, 856-859.
- Bates, S.H., Kulkarni, R.N., Seifert, M., Myers, M.G., Jr. (2005). Roles for leptin receptor/STAT3-dependent and -independent signals in the regulation of glucose homeostasis. *Cell Metab*, 1, 169-178.
- Belouzard, S., Rouille, Y. (2006). Ubiquitylation of leptin receptor OB-Ra regulates its clathrin-mediated endocytosis. *EMBO J*, 25, 932-942.
- Belouzard, S., Delcroix, D., Rouille, Y. (2004). Low levels of expression of leptin receptor at the cell surface result from constitutive endocytosis and intracellular retention in the biosynthetic pathway. *J Biol Chem*, 279, 28499-28508.
- Berbari, N.F., Pasek, R.C., Malarkey, E.B., Yazdi, S.M., McNair, A.D., Lewis, W.R., Nagy, T.R., Kesterson, R.A., Yoder, B.K. (2013). Leptin resistance is a secondary consequence of the obesity in ciliopathy mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110, 7796-7801.
- Biener, E., Charlier, M., Ramanujan, V.K., Daniel, N., Eisenberg, A., Bjørbaek C., Herman B., Gertler A., Djiane J. (2005). Quantitative FRET imaging of leptin receptor oligomerization kinetics in single cells. *Biol Cell*, 97, 905-919.
- Bijur, G.N., Jope, R.S. (2003). Rapid accumulation of Akt in mitochondria following phosphatidylinositol 3-kinase activation. *J Neurochem*, 87, 1427-1435.
- Buettner, C., Poci, A., Muse, E.D., Etgen, A.M., Myers, M.G., Jr., Rossetti, L. (2006). Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell Metab*, 4, 49-60.
- Cendrowski, J., Maminska, A., Miaczynska, M. (2016). Endocytic regulation of cytokine receptor signaling. *Cytokine Growth Factor Rev*, 32, 63-73.
- Che, T.F., Lin, C.W., Wu, Y.Y., Chen, Y.J., Han, C.L., Chang, Y.L., Wu, C.T., Hsiao, T.H., Hong, T.M., Yang, P.C. (2015). Mitochondrial translocation of EGFR regulates mitochondria dynamics and promotes metastasis in NSCLC. *Oncotarget*, 6, 37349-37366.
- Clague, M.J., Liu, H., Urbe, S. (2012). Governance of endocytic trafficking and signaling by reversible ubiquitylation. *Dev Cell*, 23, 457-467.
- Coppiari, R., Ichinose, M., Lee, C.E., Pullen, A.E., Kenny, C.D., McGovern, R.A., Tang, V., Liu, S.M., Ludwig, T., Chua, S. C., Jr., Lowell, B.B., Elmquist, J.K. (2005). The hypothalamic arcuate nucleus: a key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity. *Cell Metab*, 1, 63-72.
- Couturier, C., Jockers, R. (2003). Activation of the leptin receptor by a ligand-induced conformational change of constitutive receptor dimers. *J Biol Chem*, 278, 26604-26611.
- Couturier, C., Sarkis, C., Seron, K., Belouzard, S., Chen, P., Lenain, A., Corset, L., Dam, J., Vauthier, V., Dubart, A., Mallet, J., Froguel, P., Rouille, Y., Jockers, R. (2007). Silencing of OB-RGRP in mouse hypothalamic arcuate nucleus increases leptin receptor signaling and prevents diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 19476-19481.
- Curtis, B.M., Widmer, M.B., deRoos, P., Qwarnstrom, E.E. (1990). IL-1 and its receptor are translocated to the nucleus. *J Immunol*, 144, 1295-1303.
- Dagda, R.K., Zhu, J., Kulich, S.M., Chu, C.T. (2008). Mitochondrially localized ERK2 regulates mitophagy and autophagic cell stress: implications for Parkinson's disease. *Autophagy*, 4, 770-782.
- De Ceuninck, L., Wauman, J., Masschaele, D., Peelman, F., Tavernier, J. (2013). Reciprocal cross-regulation between RNF41 and USP8 controls cytokine receptor sorting and processing. *J Cell Sci*, 126, 3770-3781.

- Eum, H.A., Vallabhaneni, R., Wang, Y., Loughran, P.A., Stolz, D.B., Billiar, T.R. (2011). Characterization of DISC formation and TNFR1 translocation to mitochondria in TNF-alpha-treated hepatocytes. *Am J Pathol*, 179, 1221-1229.
- Farooqi, I.S., O'Rahilly, S. (2014). 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *J Endocrinol*, 223, T63-70.
- Fei, H., Okano, H.J., Li, C., Lee, G.H., Zhao, C., Darnell, R., Friedman, J.M. (1997). Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 7001-7005.
- Forsythe, E., Beales, P.L. (2013). Bardet-Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet*, 21, 8-13.
- Glinka, Y., Stoilova, S., Mohammed, N., Prud'homme, G.J. (2011). Neuropilin-1 exerts co-receptor function for TGF-beta-1 on the membrane of cancer cells and enhances responses to both latent and active TGF-beta. *Carcinogenesis*, 32, 613-621.
- Gray, M.J., Wey, J.S., Belcheva, A., McCarty, M.F., Trevino, J.G., Evans, D.B., Ellis, L.M., Gallick, G.E. (2005). Neuropilin-1 suppresses tumorigenic properties in a human pancreatic adenocarcinoma cell line lacking neuropilin-1 coreceptors. *Cancer Res*, 65, 3664-3670.
- Guo, D.F., Rahmouni, K. (2011). Molecular basis of the obesity associated with Bardet-Biedl syndrome. *Trends Endocrinol Metab*, 22, 286-293.
- Guo, D.F., Cui, H., Zhang, Q., Morgan, D.A., Thedens, D.R., Nishimura, D., Grobe, J.L., Sheffield, V.C., Rahmouni, K. (2016). The BBSome controls energy homeostasis by mediating the transport of the leptin receptor to the plasma membrane. *PLoS Genet*, 12, e1005890.
- Han, Y.M., Kang, G.M., Byun, K., Ko, H.W., Kim, J., Shin, M.S., Kim, H.K., Gil, S.Y., Yu, J.H., Lee, B., Kim, M.S. (2014). Leptin-promoted cilia assembly is critical for normal energy balance. *J Clin Invest*, 124, 2193-2197.
- He, Z., Tessier-Lavigne, M. (1997). Neuropilin is a receptor for the axonal chemorepellent Semaphorin III. *Cell*, 90, 739-751.
- Hileman, S.M., Tornoe, J., Flier, J.S., Bjorbaek, C. (2000). Transcellular transport of leptin by the short leptin receptor isoform ObRa in Madin-Darby Canine Kidney cells. *Endocrinology*, 141, 1955-1961.
- Huang, H., Wang, W., Tao, Y.X. (2017). Pharmacological chaperones for the misfolded melanocortin-4 receptor associated with human obesity. *Biochim Biophys Acta*, 1863, 2496-2507.
- Johnson, H.M., Subramaniam, P.S., Olsnes, S., Jans, D.A. (2004). Trafficking and signaling pathways of nuclear localizing protein ligands and their receptors. *BioEssays*, 26, 993-1004.
- Kang, G.M., Han, Y.M., Ko, H.W., Kim, J., Oh, B.C., Kwon, I., Kim, M.S. (2015). Leptin elongates hypothalamic neuronal cilia via transcriptional regulation and actin destabilization. *J Biol Chem*, 290, 18146-18155.
- Kermorgant, S., Parker, P.J. (2008). Receptor trafficking controls weak signal delivery: a strategy used by c-Met for STAT3 nuclear accumulation. *J Cell Biol*, 182, 855-863.
- Kim, S., Dynlacht, B.D. (2013). Assembling a primary cilium. *Curr Opin Cell Biol*, 25, 506-511.
- Kim, T.H., Choi, D.H., Vauthier, V., Dam, J., Li, X., Nam, Y.J., Ko, Y., Kwon, H.J., Shin, S.H., Cechetto, J., Soloveva, V., Jockers, R. (2014). Anti-obesity phenotypic screening looking to increase OBR cell surface expression. *J Biomol Screening*, 19, 88-99.
- Klink, B.U., Zent, E., Juneja, P., Kuhlee, A., Raunser, S., Wittinghofer, A. (2017). A recombinant BBSome core complex and how it interacts with ciliary cargo. *eLife*, 6, e27434.
- Li, Z., Ceccarini, G., Eisenstein, M., Tan, K., Friedman, J.M. (2013). Phenotypic effects of an induced mutation of the ObRa isoform of the leptin receptor. *Mol Metab*, 2, 364-375.
- Lin, S.Y., Makino, K., Xia, W., Matin, A., Wen, Y., Kwong, K. Y., Bourguignon, L., Hung, M.C. (2001). Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor. *Nat Cell Biol*, 3, 802-808.
- Lin, D.C., Quevedo, C., Brewer, N.E., Bell, A., Testa, J.R., Grimes, M.L., Miller, F.D., Kaplan, D.R. (2006). APPL1 associates with TrkA and GIPC1 and is required for nerve growth factor-mediated signal transduction. *Mol Cell Biol*, 26, 8928-8941.
- Macias, E., Rao, D., Carbajal, S., Kiguchi, K., DiGiovanni, J. (2014). Stat3 binds to mtDNA and regulates mitochondrial gene expression in keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 134, 1971-1980.
- Mancour, L.V., Daghestani, H.N., Dutta, S., Westfield, G.H., Schilling, J., Oleskie, A.N., Herbstman, J.F., Chou, S.Z., Skiniotis, G. (2012). Ligand-induced architecture of the leptin receptor signaling complex. *Mol Cell*, 48, 655-661.
- Martinez-Abundis, E., Rajapurohitam, V., Gertler, A., Karmazyn, M. (2015). Identification of functional leptin receptors expressed in ventricular mitochondria. *Mol Cellular Biochem*, 408, 155-162.
- McGaffin, K.R., Moravec, C.S., McTiernan, C.F. (2009). Leptin signaling in the failing and mechanically unloaded human heart. *Circul Heart Fail*, 2, 676-683.
- Moharana, K., Zabeau, L., Peelman, F., Ringler, P., Stahlberg, H., Tavernier, J., Savvides, S.N. (2014). Structural and mechanistic paradigm of leptin receptor activation revealed by complexes with wild-type and antagonist leptins. *Structure*, 22, 866-877.
- Montague, C.T., Farooqi, I.S., Whitehead, J.P., Soos, M.A., Rau, H., Wareham, N.J., Sewter, C.P., Digby, J.E., Mohammed, S.N., Hurst, J.A., Cheetham, C.H., Earley, A. R., Barnett, A.H., Prins, J.B., O'Rahilly, S. (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 387, 903-908.
- Morton, G.J., Gelling, R.W., Niswender, K.D., Morrison, C.D., Rhodes, C.J., Schwartz, M.W. (2005). Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metab*, 2, 411-420.
- Piper, M.L., Unger, E.K., Myers, M.G., Jr., Xu, A.W. (2008). Specific physiological roles for signal transducer and activator of transcription 3 in leptin receptor-expressing neurons. *Mol Endocrinol*, 22, 751-759.
- Purdham, D.M., Zou, M.X., Rajapurohitam, V., Karmazyn, M. (2004). Rat heart is a site of leptin production and action. *Am J Physiol*, 287, H2877-2884.
- Rahmouni, K., Sigmund, C.D., Haynes, W.G., Mark, A.L. (2009). Hypothalamic ERK mediates the anorectic and thermogenic sympathetic effects of leptin. *Diabetes*, 58, 536-542.
- Rajapurohitam, V., Javadov, S., Purdham, D.M., Kirshenbaum, L.A., Karmazyn, M. (2006). An autocrine role for leptin in mediating the cardiomyocyte hypertrophic effects of angiotensin II and endothelin-1. *J Mol Cell Cardiol*, 41, 265-274.
- Roujeau, C., Jockers, R., Dam, J. (2014). New pharmacological perspectives for the leptin receptor in the treatment of obesity. *Front Endocrinol*, 5, 167.
- Rycczyn, M.A., Clevenger, C.V. (2002). The intranuclear prolactin/cyclophilin B complex as a transcriptional inducer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 6790-6795.
- Schmieg, N., Menendez, G., Schiavo, G., Terenzio, M. (2014). Signalling endosomes in axonal transport: travel updates on the molecular highway. *Sem Cell Dev Biol*, 27, 32-43.

- Schwartz, M.W., Seeley, R.J., Campfield, L.A., Burn, P., Baskin, D.G. (1996). Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest*, 98, 1101-1106.
- Seo, S., Guo, D.F., Bugge, K., Morgan, D.A., Rahmouni, K., Sheffield V.C. (2009). Requirement of Bardet-Biedl syndrome proteins for leptin receptor signaling. *Hum Mol Genet*, 18, 1323-1331.
- Seron, K., Couturier, C., Belouzard, S., Bacart, J., Monte, D., Corset, L., Bocquet, O., Dam, J., Vauthier, V., Lecoq, C., Bailleul, B., Hoflack, B., Froguel, P., Jockers, R., Rouille, Y. (2011). Endospanins regulate a postinternalization step of the leptin receptor endocytic pathway. *J Biol Chem*, 286, 17968-17981.
- Soker, S., Fidder, H., Neufeld, G., Klagsbrun, M. (1996). Characterization of novel vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors on tumor cells that bind VEGF165 via its exon 7-encoded domain. *J Biol Chem*, 271, 5761-5767.
- Stratigopoulos, G., LeDuc, C.A., Cremona, M.L., Chung, W.K., Leibel R.L. (2011). Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIPL) genes and coordinates leptin receptor signaling. *J Biol Chem*, 286, 2155-2170.
- Stratigopoulos, G., Martin Carli, J.F., O'Day, D.R., Wang, L., Leduc, C.A., Lanzano, P., Chung, W.K., Rosenbaum, M., Egli, D., Doherty, D.A., Leibel, R.L. (2014). Hypomorphism for RPGRIPL, a ciliary gene vicinal to the FTO locus, causes increased adiposity in mice. *Cell Metab*, 19, 767-779.
- Stratigopoulos, G., Burnett, L.C., Rausch, R., Gill, R., Penn, D. B., Skowronski, A.A., LeDuc, C.A., Lanzano, A.J., Zhang, P., Storm, D.R., Egli, D., Leibel, R.L. (2016). Hypomorphism of Fto and Rpgrip1l causes obesity in mice. *J Clin Invest*, 126, 1897-1910.
- Subramaniam, P.S., Green, M.M., Larkin, J. 3rd, Torres, B.A., Johnson, H.M. (2001). Nuclear translocation of IFN-gamma is an intrinsic requirement for its biologic activity and can be driven by a heterologous nuclear localization sequence. *J Interf Cytok Res*, 21, 951-959.
- Taelman, V.F., Dobrowolski, R., Plouhinec, J.L., Fuentealba, L. C., Vorwald, P.P., Gumper, I., Sabatini, D.D., De Robertis, E.M. (2010). Wnt signaling requires sequestration of glycogen synthase kinase 3 inside multivesicular endosomes. *Cell*, 143, 1136-1148.
- Tartaglia, L.A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., Richards, G.J., Campfield, L.A., Clark, F.T., Deeds, J., Muir, C., Sanker, S., Moriarty, A., Moore, K.J., Smutko, J.S., Mays, G.G., Wool, E.A., Monroe, C.A., Tepper, R.I. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, 83, 1263-1271.
- Uotani, S., Bjorbaek, C., Tornoe, J., Flier, J.S. (1999). Functional properties of leptin receptor isoforms: internalization and degradation of leptin and ligand-induced receptor downregulation. *Diabetes*, 48, 279-286.
- Vauthier, V., Jaillard, S., Journal, H., Dubourg, C., Jockers, R., Dam, J. (2012). Homozygous deletion of an 80 kb region comprising part of DNAJC6 and LEPR genes on chromosome 1P31.3 is associated with early onset obesity, mental retardation and epilepsy. *Mol Genet Metab*, 106, 345-350.
- Vauthier, V., Swartz, T.D., Chen, P., Roujeau, C., Pagnon, M., Mallet, J., Sarkis, C., Jockers, R., Dam, J. (2014). Endospanin 1 silencing in the hypothalamic arcuate nucleus contributes to sustained weight loss of high fat diet obese mice. *Gene Ther*, 21, 638-644.
- Vauthier, V., Roujeau, C., Chen, P., Sarkis, C., Migrenne, S., Hosoi, T., Ozawa, K., Rouille, Y., Foretz, M., Mallet, J., Launay, J.M., Magnan, C., Jockers, R., Dam, J. (2017). Endospanin1 affects oppositely body weight regulation and glucose homeostasis by differentially regulating central leptin signaling. *Mol Metab*, 6, 159-172.
- Velickovic, K., Lugo Leija, H.A., Bloor, I., Law, J., Sacks, H., Symonds, M., Sottile, V. (2018). Low temperature exposure induces browning of bone marrow stem cell derived adipocytes *in vitro*. *Sci Rep*, 8, 4974.
- Wainwright, C.E., Elborn, J.S., Ramsey, B.W., Marigowda, G., Huang, X., Cipolli, M., Colombo, C., Davies J.C, De Boeck, K., Flume, P.A., Konstan, M.W., McColley, S.A., McCoy, K., McKone, E.F., Munck, A., Ratjen, F., Rowe, S.M., Waltz, D., Boyle, M.P., TRAFFIC Study Group, TRANSPORT Study Group. (2015). Lumacaftor-Ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. *New Engl J Med*, 373, 220-231.
- Wang, T., Fahrman, J.F., Lee, H., Li, Y.J., Tripathi, S.C., Yue, C., Zhang, C., Lifshitz, V., Song, J., Yuan, Y., Somlo, G., Jandial, R., Ann, D., Hanash, S., Jove, R., Yu, H. (2018). JAK/STAT3-regulated fatty acid beta-oxidation is critical for breast cancer stem cell self-renewal and chemoresistance. *Cell Metab*, 27, 136-150 e135.
- Wauaman, J., De Ceuninck, L., Vanderroost, N., Lievens, S., Tavernier, J. (2011). RNF41 (Nrdp1) controls type 1 cytokine receptor degradation and ectodomain shedding. *J Cell Sci*, 124, 921-932.
- Wauaman, J., Zabeau, L., Tavernier, J. (2017). The leptin receptor complex: Heavier than expected? *Front Endocrinol*, 8, 30.
- Wijesuriya, T.M., De Ceuninck, L., Masschaele, D., Sander-son, M.R., Carias, K.V., Tavernier, J, Wevrick, R. (2017). The Prader-Willi syndrome proteins MAGEL2 and necdin regulate leptin receptor cell surface abundance through ubiquitination pathways. *Hum Mol Genet*, 26, 4215-4230.
- Xu, Y.S., Liang, J.J., Wang, Y., Zhao, X.J., Xu, L., Xu, Y.Y., Zou, Q.C., Zhang, J.M., Tu, C.E., Cui, Y.G., Sun, W.H., Huang, C., Yang, J.H., Chin, Y.E. (2016). STAT3 undergoes acetylation-dependent mitochondrial translocation to regulate pyruvate metabolism. *Sci Rep*, 6, 39517.
- Zabeau, L., Defeau, D., Van der Heyden, J., Iserentant, H., Vandekerckhove, J., Tavernier, J. (2004). Functional analysis of leptin receptor activation using a Janus kinase/signal transducer and activator of transcription complementation assay. *Molecular Endocrinol*, 18, 150-161.
- Zaghloul, N.A., Katsanis, N. (2009). Mechanistic insights into Bardet-Biedl syndrome, a model ciliopathy. *J Clin Invest*, 119, 428-437.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.