

## **Invalidation du gène de la melanin-concentrating hormone (MCH) : un « KO » qui n'est pas nul... pour l'équilibre pondéral et énergétique**

Dans le domaine restreint mais pharmacologiquement « porteur » des peptides orexigènes, la MCH commence à prendre une place de premier plan à laquelle ce peptide si « discret » n'était pas, *a priori*, prédestiné... même si certains étaient persuadés du contraire dès l'origine ! La MCH est, initialement, un peptide neurohypophysaire circulant, impliqué, comme agent « pâissant », dans le contrôle de la pigmentation chez les poissons téléostéens [1]. Un peptide apparenté a été identifié et l'ARNm MCH caractérisé en 1989 chez le rat par le groupe de W. Vale (Salk Institute, San Diego, CA, USA) [2, 3]. Le statut de ce peptide change alors et il devient un neurotransmetteur/neuromodulateur hypothalamique pouvant influencer de multiples fonctions compte tenu de la distribution foisonnante des projections à MCH dans le cerveau des mammifères [4]. Des sondes oligonucléotidiques permettront ensuite de cloner et séquencer les ADNc complets codant pour la MCH chez la souris et l'homme [5]. L'analyse des séquences protéiques déduites de ces ADNc va révéler l'existence de deux nouveaux peptides potentiels appelés respectivement neuropeptide-EI (NEI) et neuropeptide GE (NGE) [3, 6]. Les premières études fonctionnelles vont permettre d'associer la MCH (et le NEI) au contrôle de la réponse au *stress* [7], de comportements sensorimoteurs [8], de la reproduction et du comportement

sexuel [9, 10] et de la réponse épileptique [11]. Cependant, l'intérêt de la communauté scientifique (et des compagnies pharmaceutiques !) pour ce peptide va s'amplifier à partir de 1996 lorsque la MCH devient un candidat pour la régulation de la prise alimentaire [12-14]. Les premiers travaux vont susciter cependant quelques états d'âme dans la mesure où un effet anorexigène [12] ou orexigène [13] était attribué au même peptide, mais pas dans les mêmes conditions expérimentales. Cependant, il existe aujourd'hui un consensus pour reconnaître au peptide MCH un effet orexigène lorsqu'il est injecté par voie centrale à des doses égales ou supérieures à 5 mg chez le rat adulte.

Un argument de poids en faveur d'un rôle majeur du gène de la MCH dans la régulation de l'appétit et de la masse corporelle vient d'être apporté par les résultats du groupe de Maratos-Flier (Boston, MA, USA) [15]. En effet, en utilisant la technique d'invalidation de gène par recombinaison homologue dans les lignées ES, des lignées de souris ont pu être établies porteuses d'un gène MCH délété de la totalité de ses exons. Les souris homozygotes MCH<sup>-/-</sup> apparaissent viables, fertiles et sans changement phénotypique notable à l'exception... d'une réduction significative de leur taille et de leur poids dès 4-5 semaines après la naissance. Après 17 semaines de vie postnatale la réduction en poids des

souris mâles et femelles atteint respectivement 28 % et 24 % par rapport aux souris témoins, parallèle à la diminution massive du contenu lipidique. On est loin du résultat décevant obtenu lorsque le gène NPY, autre « vedette » parmi les peptides orexigènes, avait été invalidé [16].

Qu'en est-il de la prise alimentaire chez les souris mutantes ? Les souris MCH<sup>-/-</sup> sont hypophagiques, mais pendant la période nocturne seulement suggérant ainsi une action prédominante de la MCH pendant la nuit, période de consommation alimentaire chez les rongeurs. Incidemment, c'est aussi le moment où l'ARNm MCH est le plus fortement exprimé chez le rat [17]. Cependant, la chute de poids corporel ne peut s'expliquer entièrement par une diminution de prise alimentaire. En poursuivant leurs investigations, les auteurs [15] vont découvrir que la consommation d'oxygène rapportée au poids est augmentée de 20 % chez les souris MCH<sup>-/-</sup> par rapport aux animaux témoins en période de jeûne uniquement. Ainsi, la perte de poids associée à l'inactivation du gène MCH découle à la fois d'une hypophagie et d'une altération des mécanismes de contrôle réduisant le métabolisme énergétique lors d'une restriction alimentaire. Venant renforcer ces données, des modifications profondes des réponses compensatrices, et en particulier de la thermogénèse, ont été également observées chez les souris MCH<sup>-/-</sup> lors de la

période de réalimentation après un jeûne de 24 heures et dans des conditions d'alimentation restreintes.

L'importance du système neuronal à MCH comme cible potentielle de la leptine, célèbre et incontournable hormone anorexigène et lipostatique (*m/s* 1994, n° 12, p. 1337; 1995, n° 10, p. 1463), a été aussi examinée dans le modèle des souris porteuses du gène *MCH* invalidé. Chez les souris *MCH*<sup>-/-</sup> la concentration plasmatique de leptine est diminuée... et pourtant elles mangent moins ! Ce paradoxe est aisément résolu en suggérant que la MCH est essentielle à la réponse hyperphagique associée à une chute de la concentration plasmatique de leptine dans ce modèle particulier [15], en parfaite adéquation avec les résultats obtenus chez les souris *ob/ob*, déficientes en leptine, chez lesquelles les niveaux d'ARNm MCH et de peptide MCH sont supérieurs à ceux trouvés chez les souris témoins [13, 18]. L'hypothèse la plus simple pouvant expliquer ces résultats est que la leptine, agent « coupe faim », inhibe l'expression de la MCH, peptide inducteur d'appétit, comme elle le fait pour d'autres peptides orexigènes (NPY, ART/AgRP) (*m/s* 1998, n° 4, p. 496). Malheureusement, les résultats issus de deux études indépendantes vont à l'encontre de ce séduisant modèle de régulation : (1) l'injection deux fois par jour de leptine (1 mg/g masse corporelle pendant 2 jours) diminue l'appétit (et réduit le poids) des souris *MCH*<sup>-/-</sup> de manière encore plus marquée que celui des animaux témoins [15]; (2) l'administration chronique de leptine (0,1 mg/g masse corporelle pendant 6 jours) provoque une sur-expression d'ARNm et de peptide MCH chez les souris *ob/ob* [18]. Il est donc fort improbable que l'effet anorexigène de la leptine soit relayé par une diminution de l'expression de la MCH chez la souris. Il faut souligner qu'une situation de même nature a été retrouvée lorsque la leptine a été injectée aux souris double-mutantes *A<sup>m</sup>/a-ob/ob* qui surexpriment la protéine agouti bloquant les récepteurs MC4-R (et donc l'action du peptide anorexigène aMSH) et sont déficientes en leptine [19]. Le contrôle par la leptine des réseaux neuropep-

tidergiques hypothalamiques supposés être impliqués dans la régulation de la prise alimentaire est clairement bien plus complexe qu'on ne l'imaginait à l'origine, et semble plutôt faire intervenir les circuits anorexigènes comme évoqué précédemment dans ces colonnes (*m/s* 1998, n° 4, p. 496). Existe-t-il des mécanismes de régulation compensatoires intégrant le système neuronal à MCH et les autres réseaux peptidergiques contrôlant l'homéostasie pondérale et énergétique ? L'expression des ARNm codant pour le NPY, les hypocrétines/oréxines et l'ART/AgRP n'est pas altérée chez les souris *MCH*<sup>-/-</sup> [15]. En revanche, la concentration d'ARNm de la pro-opiomélanocortine (POMC) est fortement diminuée dans le noyau arqué. Là encore il s'agit, comme pour la leptine, d'un résultat paradoxal dans la mesure où l'aMSH, engendrée à partir du POMC, est un peptide agissant indiscutablement comme un inhibiteur de la prise alimentaire chez les rongeurs. Comment rendre compte de cette contradiction apparente entre le phénotype « mince » provoqué chez les souris *MCH*<sup>-/-</sup> et une diminution d'expression d'un facteur anorexigène ? Deux hypothèses sont proposées : 1) cette chute de la concentration d'ARNm POMC résulterait de la diminution du contenu en leptine chez ces animaux ; 2) la MCH exercerait une action positive tonique sur les neurones à POMC, équilibrant ainsi le Ying (MCH comme orexigène) et le Yang (aMSH comme anorexigène). Ce subtil contrôle serait « levé » chez les souris mutantes. A ce stade de l'étude il faut confesser l'absence de résultats permettant de trancher entre ces deux propositions, voire d'autres spéculations.

Peut-on attribuer à la disparition de la MCH seule le mérite de tous les effets observés chez les souris *MCH*<sup>-/-</sup> ? Les auteurs pencheraient plutôt en faveur d'une telle hypothèse. En accord avec cette assertion il n'y a pas d'élément indiquant que les autres peptides issus de la pro-MCH comme NEI [14] ou l'hypothétique NGE participent à la régulation de l'homéostasie pondérale ou énergétique. Cependant, en l'absence d'études détaillées, on ne peut écarter définitivement cette possibilité.

Par ailleurs, au royaume de la MCH la complexité est reine. La mise en évidence d'ARNm issus par épissage alternatif du transcrit primaire MCH codant pour une nouvelle protéine appelée MGOP [20, 21] ou l'identification d'ARN antisens du gène *MCH* chez le rat [22] et l'homme [23] vient perturber le modèle harmonieux qui présentait la MCH comme seule digne d'intérêt. Des invalidations du gène *MCH* plus sophistiquées seront nécessaires pour définir qui (ou combien) des différents produits du gène *MCH* est réellement important pour le contrôle de l'appétit et de la consommation d'énergie. En conclusion, l'invalidation du gène *MCH* a révélé son rôle crucial dans le contrôle de la prise alimentaire et de l'homéostasie énergétique chez la souris. En outre, ces résultats et d'autres études fonctionnelles [24] suggèrent que le réseau neuronal à MCH agirait en aval des systèmes cibles des anorexigènes comme la leptine, et l'aMSH, et indépendamment des voies de contrôle propres aux autres peptides orexigènes, renforçant ainsi l'originalité du modèle MCH. Il reste maintenant à caractériser le(s) récepteur(s) du MCH et à produire des antagonistes susceptibles d'être efficaces dans le traitement de l'obésité...

J.L.N.

1. Kawachi H, Kawazoe I, Tsukagawa M, Kishida M, Baker BI. Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. *Nature* 1983; 305: 321-3.
2. Vaughan JM, Fischer WH, Hoeger C, Rivier J, Vale W. Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. *Endocrinology* 1989; 125: 1660-5.
3. Nahon JL, Presse F, Bittencourt JC, Sawchenko P, Vale W. The rat melanin-concentrating hormone mRNA encodes multiple putative neuropeptides coexpressed in the dorsolateral hypothalamus. *Endocrinology* 1989; 125: 2056-65.
4. Bittencourt JC, Presse F, Arias C, Peto C, et al. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immunohistochemical characterization. *J Comp Neurol* 1992; 319: 218-45.
5. Nahon JL. The melanin-concentrating hormone: from the peptide to the gene. *Crit Rev Neurobiol* 1994; 8: 221-62.
6. Breton C, Fellmann D, Bugnon C. Clonage et séquençage d'ADNc du précurseur commun de trois neuropeptides hypothalamiques immunologiquement apparentés à la somatostatine humaine 1-37, à l'a-mélanotropine et à l'hormone de mélanocortine du saumon. *CR Acad Sci, Paris* 1989; 309: 749-54.

7. Bluet-Pajot MT, Presse F, Vokó Z, Hoeger C, Mounier F, Epelbaum J, Nahon JL. Neuropeptide-E-I antagonizes the action of melanin-concentrating hormone on stress-induced release of adrenocorticotropin in the rat. *J Neuroendocrinol* 1995; 7: 297-303.

8. Miller CL, Hruba VJ, Matsunaga TO, Bickford PC. Alpha-MSH and MCH are functional antagonists in a CNS auditory gating paradigm. *Peptides* 1993; 14: 431-40.

9. Gonzalez MI, Vaziri S, Wilson CA. Behavioral effects of  $\alpha$ -MSH and MCH after central administration in the female rat. *Peptides* 1996; 17: 171-7.

10. Gonzalez MI, Baker BI, Wilson CA. Stimulatory effect of melanin concentrating hormone on LH release. *Neuroendocrinology* 1997; 66: 254-62.

11. Knigge KM, Wagner JE. Melanin-concentrating hormone (MCH) involvement in pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure in rat and guinea pig. *Peptides* 1997; 18: 1095-7.

12. Presse F, Sorokovsky I, Max JP, Nicolaidis S, Nahon JL. Melanin-concentrating hormone is a potent anorectic peptide regulated by food-deprivation and glucopenia in the rat. *Neuroscience* 1996; 71: 735-45.

13. Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pellemounter MA, Cullen MJ, Mathes WF, Przupek J, Kanarek R, Maratos-Flier E. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature* 1996; 380: 243-7.

14. Rossi M, Choi SJ, O'Shea D, Miyoshi T, Ghatei MA, Bloom SR. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. *Endocrinology* 1997; 138: 351-5.

15. Shimada M, Tritos NA, Lowell BB, Flier JS, Maratos-Flier E. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature* 1998; 396: 670-4.

16. Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* 1996; 381: 415-8.

17. Presse F, Nahon JL. Differential regulation of Melanin-Concentrating Hormone gene expression in distinct hypothalamic areas under osmotic stimulation in rat. *Neuroscience* 1993; 55: 709-20.

18. Huang HY, Viale A, Picard F, Nahon JL, Richard D. Effects of leptin on melanin-concentrating hormone expression in the brain of lean and obese *LEP<sup>ob</sup>/LEP<sup>ob</sup>* mice. *Neuroendocrinology* 1999 (sous presse).

19. Boston BA, Blyden KM, Varnerin J, Cone RD. Independent and additive effects of central POMC and leptin pathways on murine obesity. *Science* 1997; 278: 1641-4.

20. Toumaniantz G, Bittencourt JC, Nahon JL. The rat melanin-concentrating hormone gene encodes an additional putative protein in a different reading frame. *Endocrinology* 1996; 137: 4518-21.

21. Viale A, Yao Z, Breton C, Pedeutour F, Coquerel A, Jordan D, Nahon JL. The melanin-concentrating hormone gene in human: flanking region analysis, fine chromosome mapping and tissue-specific expression. *Mol Brain Res* 1997; 46: 243-55.

22. Hervieu G, Nahon JL. Pro-melanin concentrating hormone messenger ribonucleic acid and peptides expression in peripheral tissues of the rat. *Neuroendocrinology* 1995; 61: 348-64.

23. Miller CL, Burmeister M, Thompson RC. Antisense expression of the human pro-melanin-concentrating hormone genes. *Brain Res* 1998; 803: 86-94.

24. Tritos NA, Vicent D, Gillette J, Ludwig DS, Flier ES, Maratos-Flier E. Functional interactions between melanin-concentrating hormone, neuropeptide Y, and anorectic neuropeptides in the rat hypothalamus. *Diabetes* 1998; 47: 1687-92.

## ■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **NPY, le maître de la faim... et de la soif!** La consommation d'alcool, aussi ancienne que l'homme se souvienne de l'homme, a sans doute été d'un grand réconfort tant physique que psychologique. Mais, depuis qu'on a appris à faire des breuvages très riches en alcool, on s'est aperçu de ses effets négatifs, au moins sur une fraction de la population. Qu'est-ce qui pousse ces individus à boire plus que de raison? De nombreux éléments plaident en faveur d'une origine génétique à ces troubles mais elle n'est sûrement pas monogénique. En outre, des facteurs liés à l'environnement contribuent au risque d'alcoolisme. Les modèles animaux, bien que fort imparfaits pour ce genre d'étude, ont déjà apporté quelques pistes chez la souris (*m/s* 1996, n° 10, p. 1140) ou chez la drosophile (*m/s* 1998, n° 11, p. 1265). Des rats ont été sélectionnés génétiquement pour leur goût pour l'alcool, croisés entre eux, et une étude de liaison génétique a permis d'identifier une région chromosomique liée à la préférence pour l'alcool. Cette région comportait un gène qui pouvait être un candidat, le gène codant pour le neuropeptide NPY [1]. La concentra-

tion de NPY était, en effet, plus basse dans plusieurs régions du cerveau du rat préférant l'alcool. Thiele *et al.* ont donc invalidé le gène du neuropeptide par rupture ciblée chez la souris et montrent que, chez la souris aussi, le déficit en NPY s'accompagne d'une augmentation de la consommation d'alcool [2]. Ces souris sont, en outre, moins sensibles aux effets sédatifs et hypnotiques de l'alcool. A l'inverse, les souris surexprimant le gène *NPY* (*NPY<sup>OX</sup>*) dans les neurones qui le produisent naturellement ont une moindre préférence pour l'alcool et sont plus sensibles à ses effets sédatifs et hypnotiques que les souris témoins. Il faut noter que pour une même consommation d'alcool, l'alcoolémie était la même dans les trois groupes de souris *NPY<sup>-/-</sup>*, *NPY<sup>+/+</sup>*, *NPY<sup>OX</sup>*. Le NPY est un neuromodulateur inhibiteur dont les récepteurs cérébraux Y1, Y2 et Y5 sont couplés à des protéines G hétérotrimériques qui inhibent la production d'AMPc. Un des possibles rôles physiologiques de NPY pourrait être d'inhiber la production d'AMPc en réponse à l'alcool (ou à d'autres drogues) et de réduire ainsi la prise d'alcool: un excès de NPY réduirait la consommation, un défaut de NPY

l'augmenterait. Si cette explication est valable, les autres modulateurs qui augmentent la concentration d'AMPc dans les neurones critiques devraient aussi augmenter la consommation d'alcool et leurs antagonistes la réduire. C'est ce qui a été observé effectivement chez la drosophile chez laquelle l'invalidation du gène *amnesiac*, qui code pour un neuropeptide sécrété qui stimule la production d'AMPc, augmente la sensibilité des drosophiles à l'alcool (*m/s* 1998, n° 11, p. 1265). La consommation d'alcool n'est pas liée à la consommation calorique, ni au niveau d'anxiété. Observation surprenante, les souris *NPY<sup>-/-</sup>* ne pouvaient être distinguées des témoins en ce qui concerne la quantité de nourriture ingérée et la prise de poids, ce qui devraient amener à reconsidérer la primauté reconnue jusqu'à présent du rôle de NPY dans la régulation de la nutrition [3].

[1. Carr LG, *et al.* *Acohol Clin Exp Res* 1998; 22: 884-7.]

[2. Thiele TE, *et al.* *Nature* 1998; 396: 366-9.]

[3. Tecott LH, Heberlein U. *Cell* 1998; 95: 733-5.]