



Faculté  
de Médecine  
Aix-Marseille Université



AIX-MARSEILLE UNIVERSITÉ

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

INSTITUT DE NEUROPHYSIOPATHOLOGIE (INP)  
CNRS UMR 7051

Thèse présentée en vue d'obtenir le grade universitaire de docteur

**Discipline : Neurosciences**

Par

**Fanny GAUDEL**

**Caractérisation des chimiorécepteurs dans le cerveau**

Soutenue publiquement le 07/12/2018

Membres du jury:

Pr. Evelyne Marchetti-Gauthier	UMR 7286 – Aix-Marseille Université	Présidente
Dr. Edith Pajot-Augy	UMR 1197 – INRA	Rapportrice
Dr. Loïc Briand	UMR 6265 – INRA	Rapporteur
Pr. Jérôme Golebiowski	UMR 7272 – Institut de Chimie de Nice	Examineur
Dr. Gaëlle Guiraudie-Capraz	UMR 7051 – Aix-Marseille Université	Directrice de thèse
Pr. François Féron	UMR 7051 – Aix-Marseille Université	Co-directeur de thèse

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier du fond du cœur ma directrice de thèse **Gaëlle Guiraudie-Capraz** de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ma thèse à ses côtés et de découvrir le monde merveilleux des récepteurs olfactifs. Malgré le fait que je me sois lancée dans ce travail sans rien en savoir, aussi bien thématiquement qu'expérimentalement, elle a su m'épauler et me partager sa flamme. Même si notre relation a eu des hauts et des bas, elle m'a tant aidé à évoluer sur le plan scientifique et humain que je recommencerais ces trois années sans hésiter. Un énorme merci également à **François Féron**, mon co-directeur de thèse, pour sa positivité, son enthousiasme, son implication en général au cours de ma thèse et nos longues discussions de bureau parfois totalement hors sujet. Évidemment, je remercie également **Michel Khrestchatisky** de m'avoir accueillie au sein du NICN/INP.

Un grand merci à **Edith Pajot-Augy** et **Loïc Briand** d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse en leur qualité de rapporteurs et, pour Edith, de m'avoir suivie au cours de ces 3 années lors de mes comités de suivi de thèse. Merci à **Jérôme Golebiowski** d'avoir accepté le rôle d'examineur, et à **Evelyne Marchetti-Gauthier** pour son rôle d'examinatrice et de présidente de mon jury de thèse.

Parmi les membres du laboratoire, je tiens d'abord à remercier **Gilles Sicard** d'avoir rendu ma thèse possible et de l'avoir suivie de près, et pour l'universalité de ses connaissances olfactives. Merci beaucoup à **Delphine Stephan** pour son sourire, sa disponibilité, ses conseils et son aide au long de mes expériences et **Kévin Baranger**, pour ses dons d'échantillons/anticorps/animaux, ses suggestions scientifiques et son savoir encyclopédique. Je remercie aussi **Véréna Landel** et **Emmanuelle Lacassagne** qui ont été un peu mes mamans de laboratoire mais qui en sont parties trop vite à mon goût. En particulier, merci Véréna de m'avoir permis de publier mon premier article grâce à tes résultats et ton aide. Merci à **Santiago Rivera** d'avoir toujours réussi à poser des questions lors de mes

présentations et pour son humour. Merci aussi à **Emmanuel Nivet** pour sa bienveillance et à **Lotfi Ferhat** pour ses conseils (surtout de jardinage). Je remercie **Eliane Charrat**, ma voisine de bureau, pour son sourire, sa gentillesse et nos conversations ainsi que **Laurence Louis** pour son exubérance et son humour. Merci aux «petites jeunes» **Laurie Arnaud** et **Louise Greetham** pour leur fraîcheur et leur sourire, et à **Audrey Jacq** pour nos discussions patio et son engagement (encore désolée pour les séminaires...). Grand merci en particulier à mes préférées, mes compagnonnes de thèse, de galère et de vie, **Pauline Rontani**, **Laura Garcia-Gonzalez** et **Dominika Pilat**. Merci les filles pour les moments passés ensemble, nos rigolades au sein du laboratoire et en dehors, et pour nos soirées. Sans vous, ces 3 ans auraient été bien fades. Bon courage à vous pour vos fins de thèses, j'espère sincèrement que nos chemins se recroiseront.

Sur un plan plus personnel, je remercie mes amis d'avoir été là et de m'avoir permis de conserver une relative santé mentale au cours de ces années. Tout d'abord, merci à mon meilleur ami et bien plus, **Yanis Inglebert**, pour son amour et son soutien inconditionnels. Merci à toi de partager ma vie, sans toi rien ne serait vraiment possible.

Merci à **Jean-Michel Paumier** (Paupay ?), dont les péripéties neuroscientifiques ont suivi les miennes depuis la licence, pour nos discussions/ragots, nos soirées interminables et les heures passées à l'attendre (ou pas). Merci aussi à sa moitié, **Jessica Payan** pour nos soirées ensemble, nos conversations et nos rires. Merci à **Erika Boulant** pour nos discussions de filles, sa fraîcheur, sa gentillesse, ses talents culinaires et de m'avoir rejoint dans mes aventures d'aquarelle. Je ne peux pas oublier de remercier **Richard Desplantes**, même s'il essaie (à juste titre) de voler mon chéri, pour nos parties de jeu infinies et son humour (mais pas pour la cade).

Enfin, ma reconnaissance va à ma famille et particulièrement à ma maman **Anne-Marie Gaudel**, mon père **Guy Gaudel** et mon grand frère **Vincent Gaudel**. Merci à tous de m'avoir épaulée au cours de ma vie et de mes études, pour votre bienveillance et vos encouragements. Merci de croire en moi.

## Résumé

Longtemps considérés comme cantonnés aux seuls organes sensoriels de la face, les chimiorécepteurs - gustatifs, phéromonaux et olfactifs - ont été mis en évidence dans de nombreux tissus et organes, notamment le pancréas, les muscles et le cerveau. Leur étude a permis de découvrir qu'ils y jouent des rôles variés : régulation du métabolisme et de la prolifération cellulaire ou encore recrutement du système immunitaire. Cependant, au niveau cérébral, leur fonction demeure énigmatique. Ce travail de thèse s'est focalisé sur deux aspects : 1) la description systématique de tous les chimiorécepteurs d'origine rhinolaryngée au niveau du cerveau humain et 2) la caractérisation de l'expression de deux récepteurs olfactifs cérébraux chez des souris sauvages ou transgéniques mimant la maladie d'Alzheimer. À l'aide d'outils bio-informatiques et de biologie cellulaire et moléculaire, il a été permis de démontrer que :

- Les transcrits des gènes codant pour les récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs sont tous exprimés au niveau du cerveau humain, principalement au niveau du système limbique.
- Leur expression s'accompagne de celle de leurs principaux partenaires canoniques de signalisation, indiquant qu'ils sont potentiellement fonctionnels dans le cerveau.
- L'expression des ARNm des récepteurs olfactifs Olfr110/111 et Olfr544 varie dans l'hippocampe et le cortex au cours du vieillissement pathologique des souris de type Alzheimer.
- Les récepteurs Olfr110/111 et Olfr544 sont principalement exprimés par les neurones et co-exprimés, à la surface des membranes cellulaires, avec leur partenaire de transduction olfactive, la protéine  $G_{\alpha_{olf}}$ , renforçant l'idée qu'ils sont potentiellement fonctionnels.

La présence et la potentielle fonctionnalité de ces familles de récepteurs suggèrent la capacité du cerveau à sentir et goûter son monde intérieur, en conditions physiologiques et pathologiques. Il convient désormais d'étudier les rôles et les voies cellulaires dans lesquels sont impliqués les récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs. Parmi les pistes possibles, on peut citer la migration des neurones néoformés, la régulation du métabolisme cérébral ou encore l'inflammation. À plus long terme, on peut envisager de moduler l'activité de ces récepteurs et de développer des molécules thérapeutiques pour les maladies neurodégénératives.

## Summary

Long-thought to be exclusively confined to the sensory organs of the face, gustatory, pheromonal and olfactory chemoreceptors have been identified in many tissues and organs, including the pancreas, muscles and brain. Herein, they can regulate cell metabolism and proliferation or recruit the cells of the immune system. However, in the brain, their functions remains unknown. My work focused on: 1) the description of all naso-laryngeal chemoreceptors in the human brain and 2) the kinetic mapping of two cerebral olfactory receptors in wild-type or transgenic mice mimicking Alzheimer's disease. Using bioinformatics tools, cellular and molecular biology, my work demonstrates that:

- The transcripts of genes encoding taste, pheromone and olfactory receptors are all expressed in the human brain, mainly in the limbic system.
- They are co-expressed with their main canonical signalling partners, indicating they are potentially functional in the brain.
- The hippocampal and cortical expression of Olfr110/111 and Olfr544 transcripts varies according the pathological stages in Alzheimer-like mice.
- Olfr110/111 and Olfr544 receptors are mainly expressed by neurons and co-expressed, at the cell membrane surface, with their olfactory transduction partner, the  $G_{\alpha_{olf}}$  protein, reinforcing the idea that they are functional.

The presence and the potential functionality of these receptor families suggest the brain is able to feel and taste its own inner world, under physiological and pathological conditions. It is of importance to further study the roles and cellular pathways in which taste, pheromone and olfactory receptors are involved. Putative functions include migration of newly formed neurons, regulation of metabolism or cerebral inflammation. Further down, it could be envisioned to identify chemoreceptor agonists/antagonists in order to treat neurodegenerative diseases.

## Liste des abréviations

**5HTR** : récepteur à la sérotonine

**5xFAD** : souris transgénique présentant 5 mutations de la forme familiale de la maladie d'Alzheimer (*Familial Alzheimer's Disease*)

**A $\beta$**  : peptide amyloïde bêta

**AC/ADCY** : adénylate cyclase

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AMPc** : adénosine monophosphate cyclique

**APOE** : apolipoprotéine E

**APP** : précurseur de la protéine amyloïde

**ARN** : acide ribonucléique

**ARNm** : acide ribonucléique messenger

**ASIC** : canal ionique sensible à l'acidité (*acid-sensing ion channel*)

**ATPase** : adénosine triphosphatase

**ATP** : adénosine triphosphate

**ADP** : adénosine diphosphate

**Ca<sup>2+</sup>** : ion calcium

**CMH** : complexe majeur d'histocompatibilité

**CNG** : canal ionique activé par les nucléotides cycliques (*cyclic nucleotide-gated channel*)

**DAG** : diacylglycérol

**ENaC** : canal sodique épithélial (*epithelial Na channel*)

**ESP** : peptide sécrété par les glandes exocrines (*exocrine-gland secreted peptide*)

**FPR** : récepteur aux peptides formylés (*formyl peptide receptor*)

**FSH** : hormone folliculo-stimulante (*follicle stimulating hormone*)

**GABA** : acide  $\gamma$ -aminobutyrique (*gamma-aminobutyric acid*)

**GC-D** : récepteur couplé à la guanylate cyclase D

**GDP** : guanosine diphosphate

**GEF** : facteur d'échange du nucléotide guanine (*guanine nucleotide exchange factor*)

**GNAL/G $\alpha_{olf}$**  : protéine G $\alpha$  spécifique de l'olfaction

**GNAT3/Gα<sub>3</sub>** : protéine Gα spécifique de la gustation (gustducine)

**GPR** : récepteur orphelin couplé à une protéine G

**GTP**: guanosine triphosphate

**GTPase** : guanosine triphosphatase

**IP<sub>3</sub>** : inositol triphosphate

**KCN** : canal potassique (*potassium channel*)

**LH** : hormone lutéinisante (*luteinizing hormone*)

**LPS** : lipopolysaccharide

**mGluR** : récepteur métabotrope au glutamate

**MUP** : protéine urinaire majeure (*major urinary protein*)

**Na<sup>+</sup>**: ion sodium

**OBP** : protéine de liaison aux odorants (*odorant-binding protein*)

**OMP** : protéine marqueur olfactif (*olfactory marker protein*)

**OTOP1** : otopétrine 1

**PIP<sub>2</sub>** : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate

**PKD2L** : protéine de la polykystose rénale 2-like (*polycystic kidney disease 2-like*)

**PLC** : phospholipase de type C

**PrP** : protéine prion

**PSEN** : préséniline

**RCPG** : récepteur couplé aux protéines G

**RGS** : régulateur de la signalisation des protéines G (*regulator of G protein signaling*)

**RT-qPCR** : réaction en chaîne par polymérase quantitative après rétro-transcription

**T1R** : récepteur gustatif de type 1

**T2R** : récepteur gustatif de type 2

**TAAR** : récepteur associé aux amines traces (*trace amine-associated receptor*)

**TRP** : canal ionique dépendant du potentiel (*transient receptor potential*)

**V1R** : récepteur voméronasal de type 1

**V2R** : récepteur voméronasal de type 2

## **Liste des figures**

**Figure 1.** Anatomie de la perception gustative périphérique.

**Figure 2.** Types cellulaires des bourgeons gustatifs.

**Figure 3.** Projection centrale du message gustatif chez l'homme.

**Figure 4.** Représentation schématique en coupe des organes olfactifs chez la souris.

**Figure 5.** Organisation de la muqueuse olfactive.

**Figure 6.** Organe voméronasal, organe septal et ganglion de Grüneberg de souris.

**Figure 7.** Projections nerveuses des organes olfactifs vers les bulbes olfactifs du système nerveux central.

**Figure 8.** Convergence glomérulaire des neurones sensoriels olfactifs.

**Figure 9.** Réseau neuronal du bulbe olfactif.

**Figure 10.** Codage de l'information olfactive.

**Figure 11.** Projection centrale du message olfactif chez la souris.

**Figure 12.** Récepteurs gustatifs et transduction gustative intracellulaire.

**Figure 13.** Evolution phylogénétique des classes de récepteurs olfactifs de mammifères.

**Figure 14.** Structure protéique des récepteurs olfactifs.

**Figure 15.** Transduction intracellulaire olfactive canonique.

**Figure 16.** Structure et partenaires de signalisation intracellulaire des récepteurs phéromonaux.

**Figure 17.** Implications des récepteurs gustatifs de type 1 dans l'architecture cellulaire et le métabolisme glucidique.

**Figure 18.** Expression «ectopique» de récepteurs gustatifs de type 2 dans le côlon.

**Figure 19.** Expression «ectopique» des récepteurs gustatifs de type 2 et de leurs partenaires canoniques de signalisation dans le système nerveux.

**Figure 20.** Expression des récepteurs olfactifs par les spermatozoïdes.

**Figure 21.** Rôles des récepteurs olfactifs sur la prolifération cellulaire et le métabolisme glucidique.

**Figure 22.** Expression «ectopique» et rôle métabolique du récepteur TAAR1.

**Figure 23.** Expression cérébrale de récepteurs olfactifs.

**Figure 24.** Expression et rôles cérébraux des récepteurs Taar.

**Figure 25.** Altération pathologique de l'expression cérébrale de récepteurs olfactifs.

**Tableau 1.** Récepteurs gustatifs exprimés dans le système nerveux central.

**Tableau 2.** Récepteurs olfactifs exprimés dans le système nerveux central.

**Tableau 3.** Récepteurs phéromonaux exprimés dans le système nerveux central.

# Sommaire

<b>Avant-propos .....</b>	<b>16</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>17</b>
<b>1. Perceptions gustative et olfactive .....</b>	<b>17</b>
1.1. Gustation .....	17
1.1.1. Traitement périphérique .....	18
1.1.1.1. Anatomie des bourgeons gustatifs.....	18
1.1.1.2. Les cellules gustatives.....	19
1.1.2. Projections centrales .....	21
1.2. Olfaction .....	22
1.2.1. Systèmes olfactifs.....	22
1.2.1.1. Système olfactif principal .....	23
1.2.1.1.1. <i>Lamina propria</i> .....	23
1.2.1.1.2. Neuroépithélium olfactif .....	24
1.2.1.2. Système olfactif accessoire .....	25
1.2.1.2.1. Organe voméronasal .....	26
1.2.1.2.2. Organe septal (de Maserà) .....	27
1.2.1.2.3. Ganglion de Grùneberg .....	28
1.2.2. Traitement central de l'olfaction .....	29
1.2.2.1. Bulbe olfactif.....	29
1.2.2.1.1. Afférences.....	29
1.2.2.1.2. Architecture cellulaire .....	30
1.2.2.1.3. Codage de l'information.....	30
1.2.2.2. Projections cérébrales .....	31

<b>2. Les chimiorécepteurs rhino-laryngés .....</b>	<b>32</b>
2.1. Les récepteurs gustatifs.....	33
2.1.1. Récepteurs gustatifs de type 1.....	33
2.1.2. Récepteurs gustatifs de type 2.....	34
2.1.3. Récepteurs gustatifs à l'acide et au sel.....	35
2.1.4. Transduction du signal gustatif .....	35
2.2. Les récepteurs olfactifs.....	36
2.2.1. Généralités .....	36
2.2.2. Évolution phylogénétique.....	36
2.2.3. Structure protéique.....	38
2.2.4. Transduction olfactive canonique.....	39
2.2.5. Transduction olfactive non-canonique .....	40
2.3. Les récepteurs aux phéromones .....	41
2.3.1. Récepteurs voméronasaux de type 1.....	41
2.3.1.1. Evolution phylogénétique.....	42
2.3.1.2. Structure, réceptivité et fonction .....	42
2.3.2. Récepteurs voméronasaux de type 2.....	43
2.3.2.1. Evolution phylogénétique.....	43
2.3.2.2. Structure, ligands et fonction .....	44
2.3.3. Récepteurs aux peptides formylés.....	45
2.3.3.1. Évolution phylogénétique.....	45
2.3.3.2. Structure, localisation, ligands et fonction .....	45
2.4. Autres chimiorécepteurs de l'épithélium olfactif principal .....	46
2.4.1. Récepteurs associés aux amines traces.....	46
2.4.1.1. Evolution phylogénétique.....	47
2.4.1.2. Structure, ligands et fonction .....	47
2.4.2. Récepteurs guanylate-cyclase D .....	48

2.5.	Conclusion.....	48
<b>3.</b>	<b>Les chimiorécepteurs rhino-laryngés «ectopiques» .....</b>	<b>49</b>
3.1.	Récepteurs gustatifs.....	51
3.1.1.	Organes reproducteurs et système uro-génital.....	51
3.1.2.	Os, muscles et tissu adipeux.....	53
3.1.3.	Tractus gastro-intestinal.....	53
3.1.4.	Système cardiovasculaire.....	54
3.1.5.	Sang et système immunitaire.....	54
3.1.6.	Voies respiratoires .....	55
3.1.7.	Cellules cancéreuses .....	55
3.1.8.	Système nerveux .....	56
3.1.8.1.	Contexte physiologique.....	56
3.1.8.2.	Troubles mentaux.....	57
3.1.8.3.	Maladies neurodégénératives .....	57
3.1.8.3.1.	Maladie de Parkinson et paralysie supranucléaire progressive .....	57
3.1.8.3.2.	Maladie de Creutzfeldt-Jakob .....	58
3.1.8.3.3.	Maladie d'Alzheimer.....	59
3.2.	Conclusion sur l'expression des récepteurs gustatifs «ectopiques» .....	60
3.3.	Expression des récepteurs olfactifs et phéromonaux «ectopiques» .....	61
3.3.1.	Système uro-génital .....	61
3.3.1.1.	Rein et tractus urinaire .....	61
3.3.1.2.	Système reproducteur et glande mammaire.....	62
3.3.2.	Peau, poils, muscles squelettiques et tissu adipeux .....	63
3.3.3.	Tractus gastro-intestinal.....	64
3.3.4.	Système cardiovasculaire.....	65
3.3.5.	Sang et système immunitaire.....	66
3.3.6.	Voies respiratoires .....	67

3.3.7.	Cellules cancéreuses .....	67
3.3.8.	Système nerveux .....	69
3.3.8.1.	Contexte physiologique.....	69
3.3.8.2.	Traumatismes et lésions du système nerveux.....	71
3.3.8.3.	Troubles mentaux.....	71
3.3.8.3.1.	Autisme .....	71
3.3.8.3.2.	Schizophrénie .....	72
3.3.8.4.	Maladies neurodégénératives .....	72
3.3.8.4.1.	Maladie de Parkinson et paralysie supranucléaire progressive .....	72
3.3.8.4.2.	Maladie de Creutzfeldt-Jakob .....	73
3.3.8.4.3.	Maladie d'Alzheimer .....	73
3.3.9.	Conclusion sur les récepteurs olfactifs et phéromonaux «ectopiques» .....	74
<b>Problématique</b>	.....	<b>75</b>
<b>1. Récepteurs rhino-laryngés et cerveau humain</b>	.....	<b>76</b>
1.1.	Familles de chimiorécepteurs cérébraux.....	76
1.2.	Expression régionale des chimiorécepteurs rhino-laryngés.....	77
1.3.	Variation liée à l'âge, aux troubles mentaux, ou aux lésions .....	77
<b>2. Les récepteurs olfactifs cérébraux en conditions physiologiques et pathologiques</b>	.....	<b>78</b>
2.1.	Expression génétique .....	78
2.2.	Expression protéique .....	79
2.2.1.	Expression neuronale.....	80
2.2.2.	Expression astrocytaire .....	80
2.2.3.	Expression microgliale.....	81
2.2.4.	Expression oligodendrocytaire .....	81
2.2.5.	Expression endothéliale.....	81

<b>Publications .....</b>	<b>82</b>
<b>Article 1 .....</b>	<b>82</b>
<b>The Brain Smells and Tastes the Self: Lessons from the Allen Brain Atlas .....</b>	<b>82</b>
1. <b>Contexte et objectifs .....</b>	82
2. <b>Méthodes.....</b>	84
3. <b>Résultats et conclusion.....</b>	85
<b>Article 2 .....</b>	<b>86</b>
<b>Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice .....</b>	<b>86</b>
1. <b>Contexte et objectifs .....</b>	86
2. <b>Méthodes.....</b>	87
3. <b>Résultats et conclusion.....</b>	88
<b>Discussion .....</b>	<b>92</b>
<b>1. Le cerveau humain pourrait « se sentir » et « se goûter » .....</b>	<b>92</b>
1.1. Expression cérébrale des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée .....	93
1.1.1. Régionalisation cérébrale des chimiorécepteurs.....	93
1.1.2. Partenaires de signalisation des chimiorécepteurs .....	94
1.1.3. Expression de pseudogènes.....	95
1.1.4. Niveaux d'expression .....	96
<b>2. Récepteurs olfactifs cérébraux physiologiques et pathologiques .....</b>	<b>97</b>
2.1. Expression neuronale majeure des récepteurs olfactifs.....	97
2.2. Olfr110/111 et Olfr544 sont potentiellement fonctionnels au niveau cérébral.....	98
2.3. Potentielle implication des récepteurs olfactifs en tant que sentinelles de neuropathologies.....	99
2.4. Expression dépendante de l'âge et de la pathologie .....	99
2.5. Conclusions .....	101

<b>3. Fonctions cérébrales potentielles des chimiorécepteurs rhino-laryngés.....</b>	<b>101</b>
3.1. Embryogenèse, maturation cellulaire et des réseaux neuronaux.....	102
3.1.1. Embryogenèse.....	102
3.1.2. Prolifération, migration et différenciation cellulaire .....	103
3.1.3. Maturation des réseaux neuronaux .....	104
3.1.4. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans l'embryogenèse, la maturation cellulaire et neuronale .....	104
3.2. Régulation du métabolisme cérébral et du comportement alimentaire .....	106
3.3. Communication cellulaire et humorale, modulation de la neurotransmission....	108
3.3.1. Communication intercellulaire et humorale .....	108
3.3.2. Modulation de la neurotransmission .....	109
3.3.3. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans la communication cellulaire et la modulation de la neurotransmission.....	110
3.4. Immunité et processus inflammatoires .....	111
3.4.1. Chimio-vigilance .....	111
3.4.2. Traumatismes et neuropathologies.....	112
3.4.3. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans la neuro- immunité et les processus de neuroinflammation .....	114
3.5. Conclusion.....	117
<b>Conclusions générales.....</b>	<b>118</b>
<b>Perspectives.....</b>	<b>120</b>
<b>1. Etude de l'expression des TaLIN, PheLIN et OLIN au niveau cérébral humain .....</b>	<b>120</b>
<b>2. Caractérisation de la fonction des OLIN.....</b>	<b>120</b>
2.1. Désorphanisation .....	120
2.2. Voies de signalisation.....	123
2.3. Fonctions cellulaires.....	123

<b>Annexes.....</b>	<b>126</b>
<b>1. Liste des publications .....</b>	<b>126</b>
• Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer’s Disease-Like Mice.....	126
• The Brain Smells and Tastes the Self : Lessons from the Allen Brain Atlas .....	126
<b>2. Liste des communications scientifiques.....</b>	<b>126</b>
• Welcome Day – 14 janvier 2016 – PhD program, Marseille .....	126
• Réunion annuelle du groupement de recherche O3 (odorant-odeur-olfaction) – du 6 au 7 octobre 2016 – GdR O3, Lyon .....	126
• PhD day – 18 novembre 2016 – PhD program, Marseille.....	126
• NeuroFrance 2017 – International Meeting – du 17 au 19 mai 2017 – Société française des Neurosciences, Bordeaux .....	126
• 25th Meeting of Doctoral School (1 <sup>er</sup> juin 2017) – Campus Luminy, Marseille...	126
 <b>Bibliographie.....</b>	 <b>127</b>

## Avant-propos

Longtemps considérés comme exprimés de façon restreinte au niveau des organes sensoriels de la face, les **chimiorécepteurs (récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs)**, sous-tendant les perceptions gustative et olfactive, ont été mis en évidence dans de nombreux tissus et organes comme la peau, le pancréas, les muscles, les poumons ou le cerveau. Au sein de ces structures, leur étude a permis à la communauté scientifique de découvrir qu'ils y jouent des rôles variés. En effet, différents récepteurs gustatifs, olfactifs ou phéromonaux ont été identifiés comme impliqués dans des phénomènes tels que la régulation du métabolisme, la détection de composés nocifs ou encore le recrutement du système immunitaire.

Au niveau du **système nerveux central**, bien que leur expression génétique accompagnée de certaines de leurs protéines soit avérée, **leur fonction demeure énigmatique**. Dans l'objectif d'obtenir plus d'informations sur les chimiorécepteurs cérébraux et sur leurs fonctions potentielles à ce niveau, mon travail de thèse s'est focalisé sur deux points majeurs :

- La description systématique de l'expression génétique de tous les types de chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée au niveau du cerveau humain ;
- La caractérisation de l'expression cérébrale de deux récepteurs olfactifs chez des souris sauvages ou transgéniques, mimant la maladie d'Alzheimer.

Les résultats de mes travaux de thèse suggèrent que les chimiorécepteurs cérébraux ont la capacité d'être fonctionnels. Leur expression implique également la capacité du cerveau à sentir et goûter « son » monde intérieur, en conditions physiologiques ou même pathologiques, et, éventuellement, à y réagir, grâce à leur activation. Si tel est le cas, ces chimiorécepteurs représenteraient des cibles thérapeutiques d'intérêt dans le traitement de diverses affections du système nerveux central ou de neuropathologies.

## **Introduction**

La perception du monde environnant est cruciale chez les êtres vivants et dépend de cinq modalités sensorielles : la vision, le toucher, l'ouïe, le goût et l'odorat, nécessitant chacune un organe sensoriel adapté. Ainsi, ces différents types de perception reposent sur un dialogue permanent entre les êtres vivants et leurs environnements. Retrouvée chez les organismes unicellulaires primordiaux des règnes végétal et animal, la communication chimique (ou chimioréception) est la forme la plus ancienne de dialogue sensoriel. Essentielle à la survie des espèces, elle dépend des caractéristiques physicochimiques des différents types de molécules perçues par les systèmes olfactifs et gustatifs (Kikut-Ligaj et Trzcielińska-Lorych, 2015; Wackermannová et al., 2016).

### **1. Perceptions gustative et olfactive**

#### 1.1. Gustation

Chez les mammifères, le système gustatif fournit une entrée sensorielle critique pour la régulation du comportement d'ingestion, engendrant le renforcement de la consommation d'aliments «goûteux» ou de valeur nutritionnelle élevée, ou l'évitement de substances toxiques. Cinq goûts basiques sont reconnus par l'humain et la plupart des animaux : le sucré, le salé, l'acide, l'amer et l'umami. L'anatomie sous-tendant ce sens reflète le rôle binaire du goût comme système (i) discriminatoire, permettant de déterminer des différences subtiles dans la qualité et l'intensité d'un goût, et (ii) motivationnel, responsable de l'acceptation ou du rejet d'aliments potentiels. En plus des cinq goûts canoniques, de nombreux vertébrés et invertébrés utilisent leur système gustatif pour détecter la présence d'autres composés, comme les ions calciques, le dioxyde de carbone, l'eau et les graisses (Fischler et al., 2007; Inoshita et Tanimura, 2006; Masek et Keene, 2013).

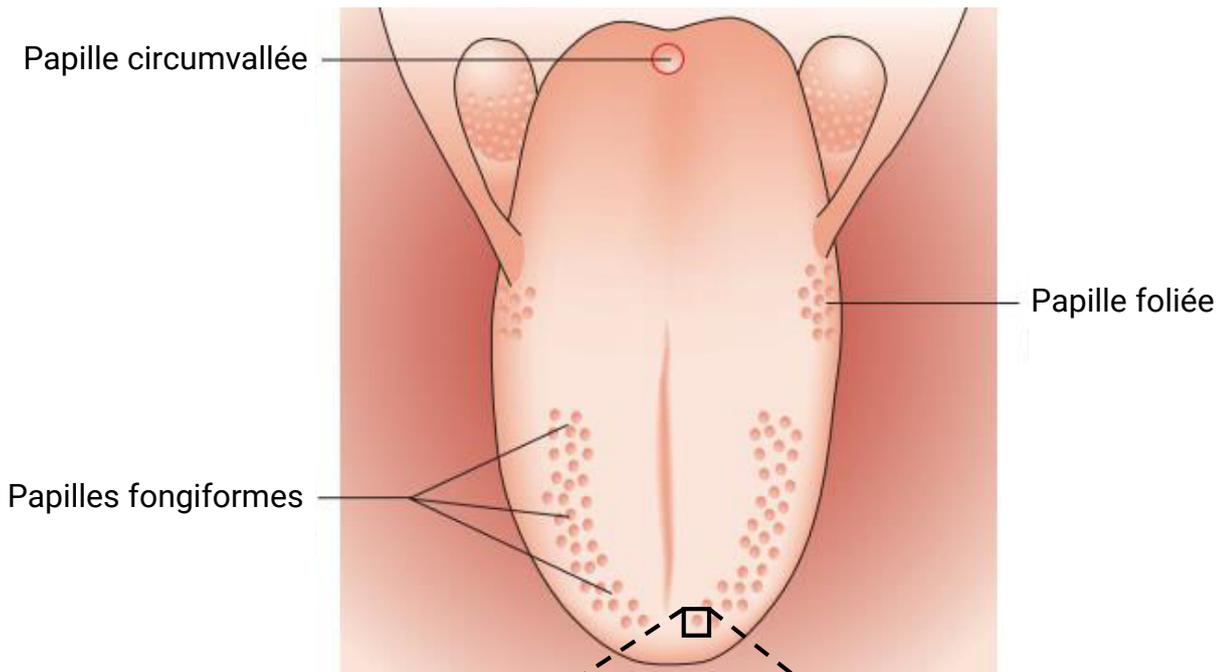
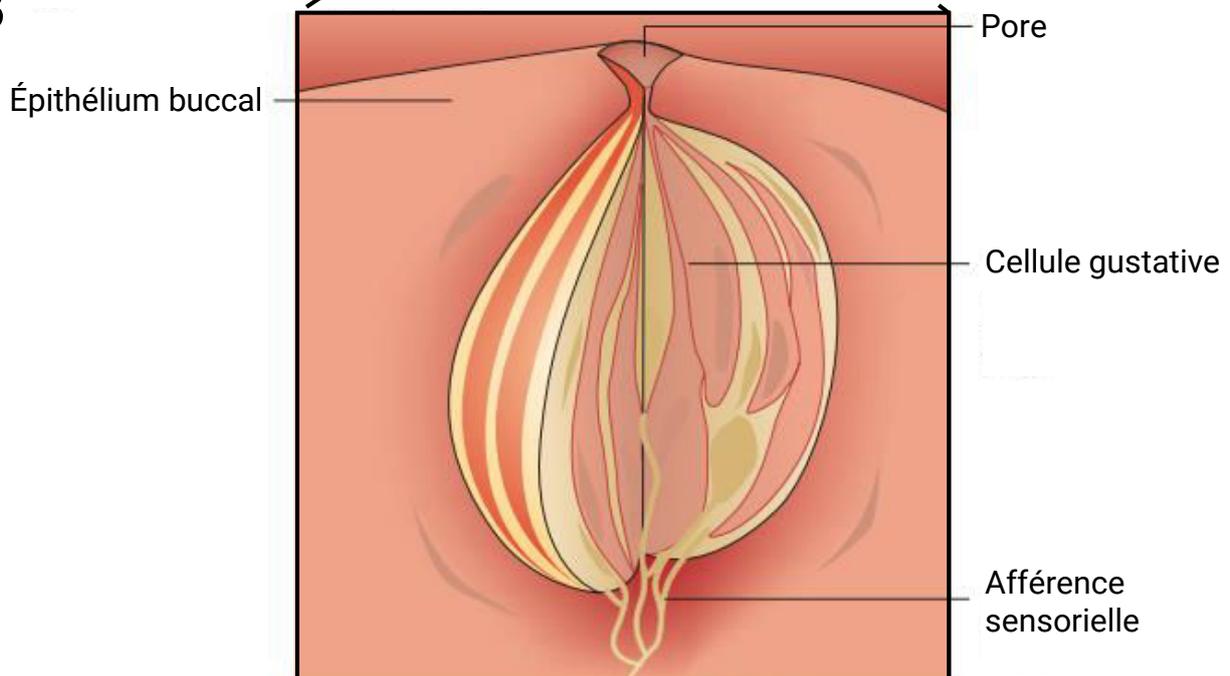
### 1.1.1. Traitement périphérique

Chez les vertébrés, la sensation gustative est assurée par les cellules gustatives organisées au sein de structures spécialisées, appelées bourgeons gustatifs, qui se situent sur la langue mais également à la surface des *epithelia* du palais, du pharynx, de l'épiglotte et du tiers supérieur de l'œsophage.

#### 1.1.1.1. Anatomie des bourgeons gustatifs

Trois types morphologiques de papilles sont présents sur la langue humaine. Sur les deux tiers antérieurs, on observe de nombreuses papilles fongiformes contenant de 0 à 5 bourgeons gustatifs sur leur partie dorsale, contre un seul chez les rongeurs. Le tiers postérieur contient deux types de papilles : les circumvallées (ou caliciformes) le long de la bordure postérieure et les foliées (ou coralliformes) sur les côtés. L'homme possède environ 12 papilles circumvallées, contenant chacune plusieurs milliers de bourgeons gustatifs, alors que les rongeurs n'en ont qu'une seule au milieu de la langue, contenant quelques centaines de bourgeons gustatifs. Les papilles foliées humaines comprennent entre 12 et 100 bourgeons gustatifs (Chandrashekar et al., 2006). Enfin, un grand nombre de papilles filiformes tapissent les côtés du sillon médian. Au total, environ 7 000 à 8 000 bourgeons gustatifs sont disséminés dans la cavité buccale humaine et leurs fonctions et sensibilités sont similaires, ce qui a discrédité le concept de «carte du goût» (Lindemann, 1999) (**Figure 1A**).

Les bourgeons gustatifs sont des structures en forme de rosette, contenant environ 100 cellules neuroépithéliales et formant des îlots pseudostratifiés dans l'épithélium buccal. Les cellules gustatives sont en contact direct avec la cavité orale grâce à un pore au sommet de chaque bourgeon gustatif (Smith et Margolskee, 2001) (**Figure 1B**). Des jonctions serrées lient ces cellules aux pores, empêchant le passage de composés plus volumineux que des petits ions (Michlig et al., 2007). Les bourgeons gustatifs contiennent quatre types cellulaires : des

**A****B**

**Figure 1. Anatomie de la perception gustative périphérique.**

A : Types morphologiques de papilles de la langue humaine. Chaque type de papille contient un nombre variable de bourgeons gustatifs : de 0 à 5 pour les fongiformes, de 12 à 100 pour les foliées et plusieurs milliers pour les circumvallées (Mombaerts, 2004).

B : Représentation schématique d'un bourgeon gustatif. Ce sont des structures en forme de rosettes, formant des îlots dans l'épithélium buccal. Les cellules gustatives sont en contact avec la cavité orale, grâce à un pore, et reliées au système nerveux central par des afférences nerveuses sensorielles (Mombaerts, 2004).

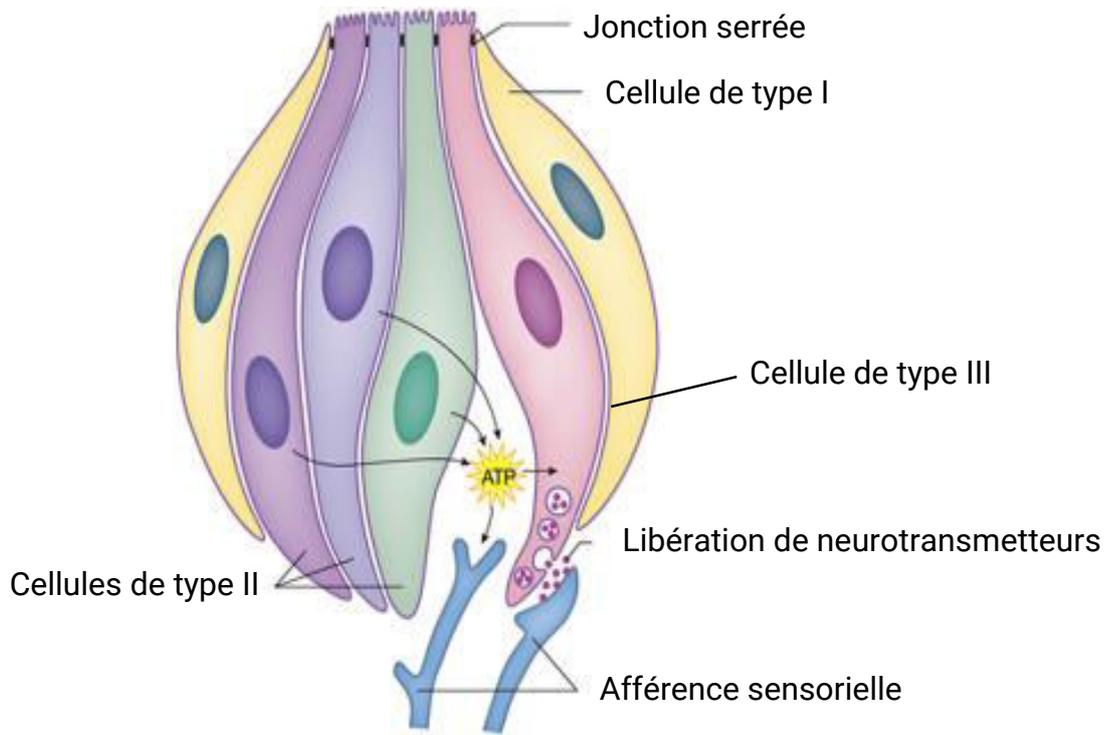
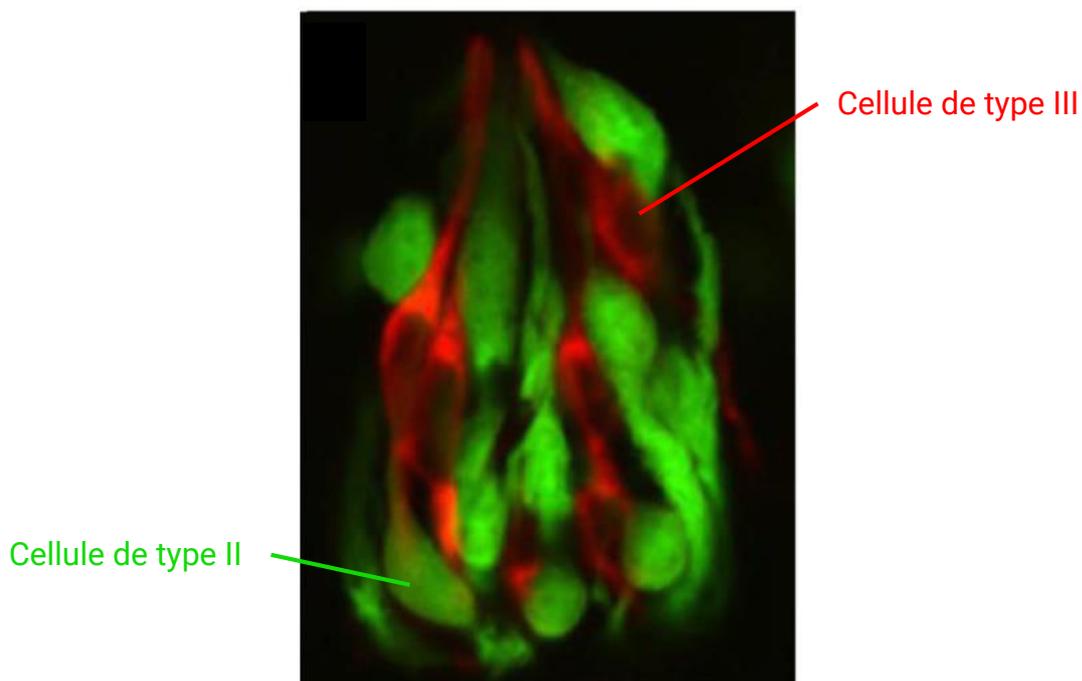
cellules basales, rondes et situées à la base du bourgeon, ainsi que trois types de cellules (I, II, et III), allongées de la base à la partie apicale du bourgeon (Kinnamon et al., 1993).

#### 1.1.1.2. Les cellules gustatives

Les cellules gustatives ont une courte durée de vie estimée à une dizaine de jours et sont remplacées continuellement (Farbman, 1980). Ce renouvellement est assuré par les cellules basales, qui peuvent se différencier vers les trois types de cellules gustatives, mais également par des cellules souches situées dans le *stratum germinativum*, près de la base du bourgeon gustatif, et qui y migrent continuellement pour générer de nouvelles cellules (Yee et al., 2013).

Les cellules de type I synthétisent et sécrètent une adénosinetriphosphatase (ATPase) dégradant les neurotransmetteurs relâchés par les cellules voisines (Bartel et al., 2006). Elles étendent des processus lamellaires entourant les autres cellules gustatives, limitant la propagation des neurotransmetteurs et régulant les changements locaux de concentrations ioniques, jouant ainsi un rôle assimilable aux cellules gliales cérébrales dans le fonctionnement du bourgeon gustatif (Dvoryanchikov et al., 2009; Pumplin et al., 1997).

La plupart des partenaires de transduction du signal gustatif sont retrouvés dans les cellules de type II, ce qui a mené à la conclusion que ces cellules représentent les cellules gustatives canoniques (Chaudhari et Roper, 2010). Elles expriment également les récepteurs gustatifs responsables des sensations sucrée, amère et umami (Tomchik et al., 2007; Yoshida et al., 2006). Elles ne possèdent pas de synapses mais sécrètent de l'adénosine triphosphate (ATP) via des canaux présents sur leur membrane, qui agit sur les fibres sensorielles afférentes et les cellules de type III (Clapp et al., 2004; Dando et Roper, 2009). Les synapses avec les afférences primaires se situent au niveau des cellules gustatives de type III, aussi nommées cellules présynaptiques. Ces dernières libèrent de la sérotonine, de la noradrénaline et de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) (Dvoryanchikov et al., 2009; Huang et al., 2008a, 2011, 2007). Isolées, elles répondent aux stimuli acides (Huang et al., 2008b). Elles expriment des

**A****B**

**Figure 2. Types cellulaires des bourgeons gustatifs.**

A : Représentation des types cellulaires composant les bourgeons gustatifs. Les cellules de type I, dites de soutien, participent à certains processus cellulaires au sein des cellules voisines et jouent un rôle similaire aux cellules gliales cérébrales dans le fonctionnement du bourgeon. Les cellules de type II, dites réceptrices, expriment les récepteurs gustatifs et sécrètent de l'ATP. Les synapses avec les afférences primaires se situent au niveau des cellules de type III, dites présynaptiques, qui libèrent divers neurotransmetteurs (adapté de Tomchik et al., 2007).

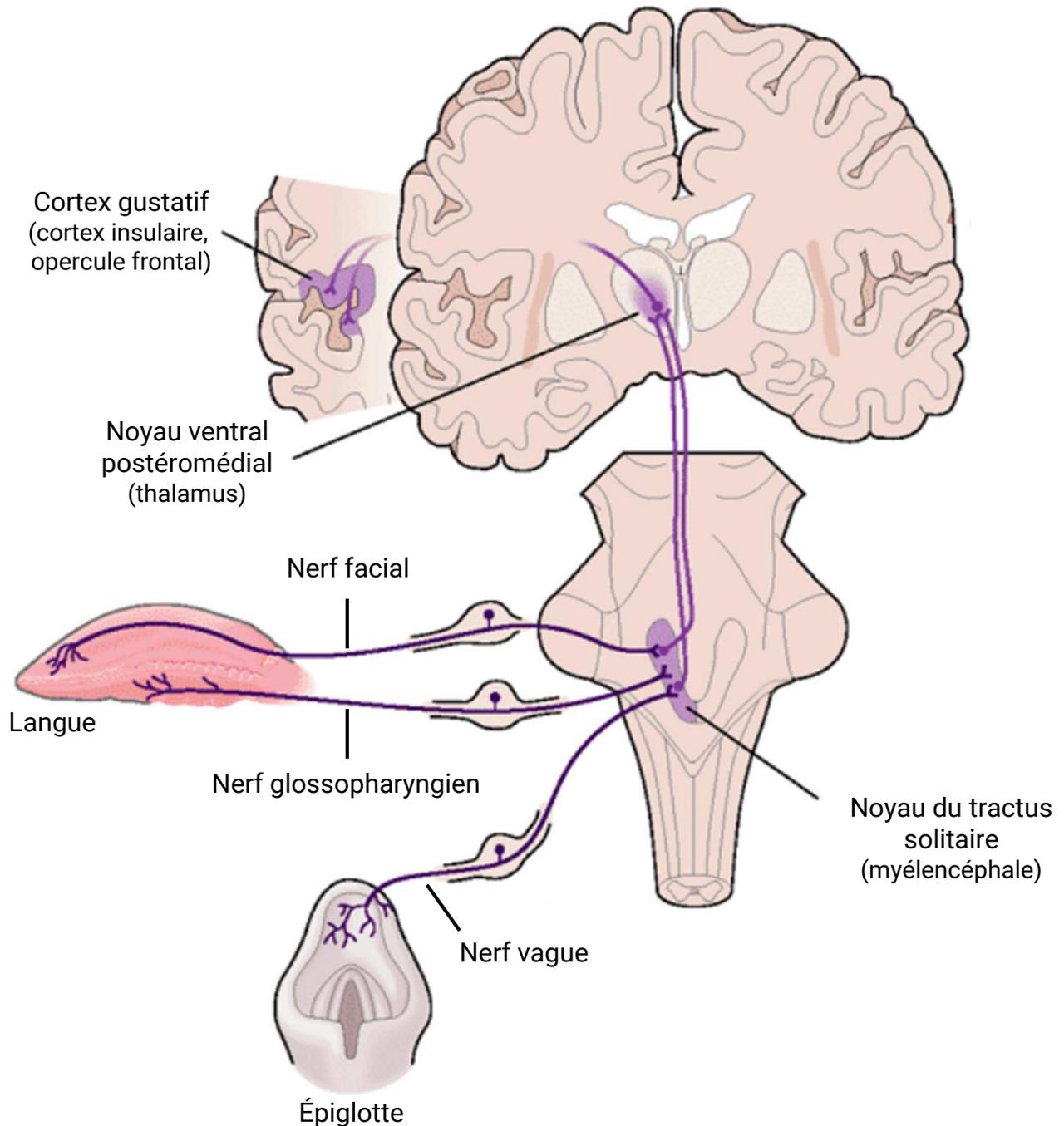
B : Marquage immunohistochimique d'un bourgeon gustatif de souris illustrant les cellules réceptrices de type II exprimant la GFP (en vert), et les cellules présynaptiques de type III, dans lesquelles la décarboxylase d'acides aminés aromatiques (enzyme de synthèse de neurotransmetteurs) est marquée en rouge (DeFazio et al., 2006).

récepteurs purinergiques et sont donc activées indirectement, *via* la libération d'ATP par les cellules de type II, par les stimuli sucré, amer et umami (Huang et al., 2009) (**Figure 2**).

Le mécanisme par lequel le message gustatif passe de la cellule de type II à la cellule de type III reste mal connu. Il a été fait l'hypothèse d'une communication chimique entre les deux cellules par l'intermédiaire de neurotransmetteurs tels que la sérotonine (*via* les récepteurs sérotoninergiques), l'ATP et l'adénosine diphosphate (ADP) (*via* les récepteurs purinergiques), le glutamate (*via* les récepteurs ionotropiques ou métabotropiques au glutamate mGluR1 et mGluR4), ou l'oxyde nitrique (Finger et al., 2005; Roper, 2013). Ainsi, puisque différentes cellules réceptrices détectent différents types de substances au sein d'un même bourgeon gustatif, les neurotransmetteurs sus-cités pourraient correspondre à une sensation gustative particulière : le glutamate pour l'amer ou la sérotonine pour le sucré, par exemple (Herness et al., 2005). Cette signalisation paracrine pourrait moduler l'activité de ces cellules ou déclencher la libération de neurotransmetteurs au niveau des afférences sensorielles.

D'autre part, les cellules gustatives sont connues pour avoir des propriétés d'excitabilité puisque, chez plusieurs espèces, des potentiels d'action ont été observés en réponse à divers stimuli gustatifs (Avenet et Lindemann, 1991; Chen et al., 1996; Cummings et al., 1993; Gilbertson et al., 1992; Lindemann, 1996). Cependant, leur rôle exact dans la transmission des signaux gustatifs est encore énigmatique, car les potentiels d'action sont généralement utilisés par les neurones pour la propagation à longue distance des signaux électriques. Or, les cellules des bourgeons gustatifs sont de petite taille (environ 100  $\mu\text{m}$  chez les rongeurs) et les potentiels récepteurs seraient suffisants au déclenchement de la transmission du signal.

Des changements de la concentration intracellulaire de calcium ont également été observés dans les cellules gustatives exposées à des stimuli gustatifs. Cependant, ces modulations pourraient davantage relever d'un effet intermédiaire de la transduction gustative que d'un mécanisme de signalisation gustative à part entière. Il est envisagé qu'elles permettent la



**Figure 3. Projection centrale du message gustatif chez l'homme.**

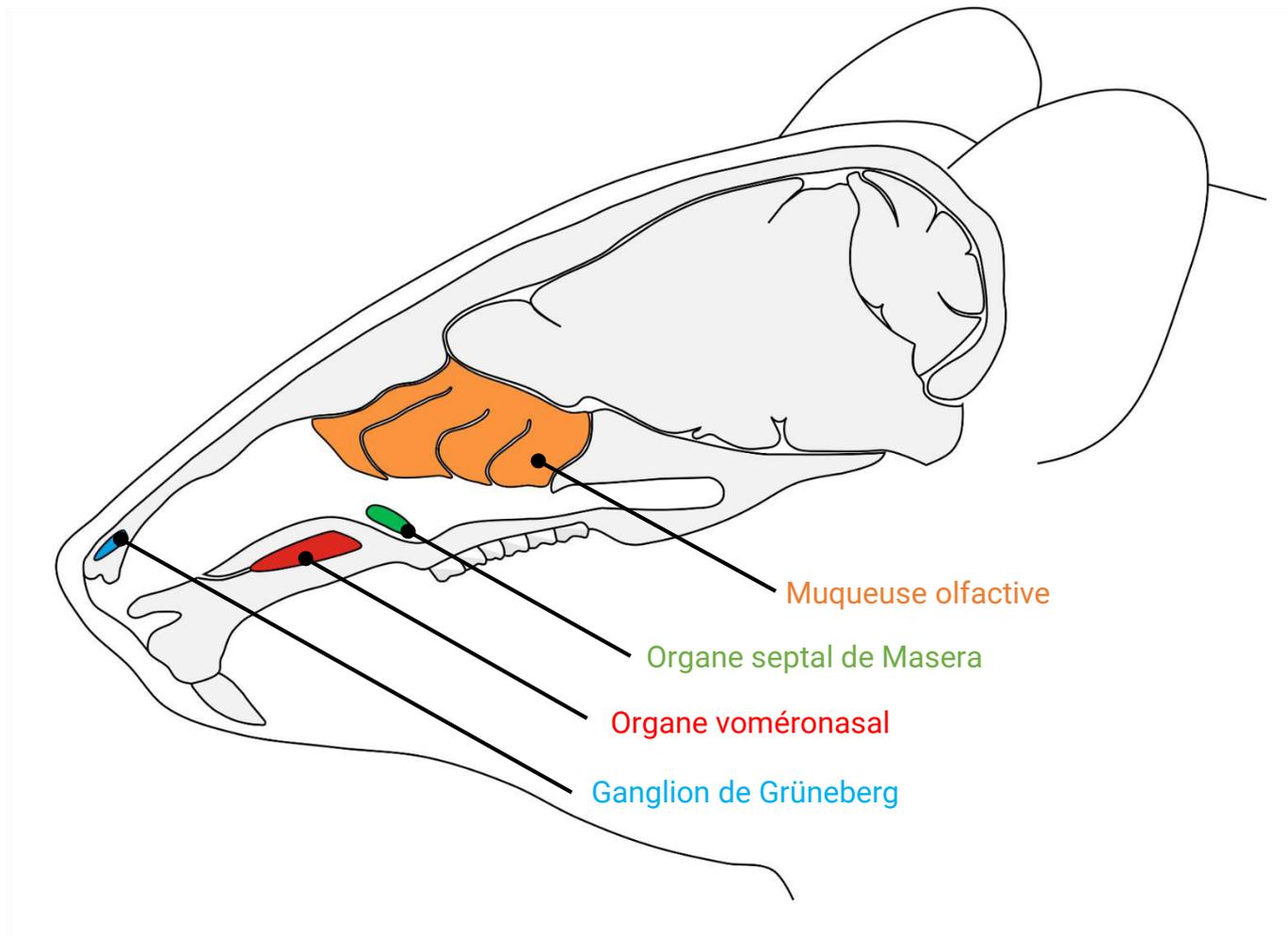
Les cellules gustatives transmettent l'information chimique aux neurones gustatifs périphériques dont les corps cellulaires sont situés dans les ganglions sensoriels des nerfs : facial pour les bourgeons gustatifs de la partie antérieure de la langue, glossopharyngien pour les bourgeons gustatifs de la partie postérieure de la langue et vague pour les bourgeons gustatifs de l'épiglotte. Ces neurones gustatifs innervent des neurones gustatifs de relai, situés dans le noyau du tractus solitaire de la moelle allongée (myélocéphale). L'information gustative est ensuite transmise au noyau ventral postéromédial du thalamus puis au cortex gustatif, situé au niveau du cortex insulaire et de l'opercule frontal (Buck et Bargmann, 2001).

synchronisation des différentes cellules gustatives ou leur réinitialisation en vue d'un prochain stimulus (Huang et al., 2005).

#### 1.1.2. Projections centrales

Les cellules gustatives transmettent l'information chimique à des neurones sensoriels périphériques, appelés neurones gustatifs, dont les corps cellulaires sont situés dans les ganglions sensoriels des nerfs : facial pour les bourgeons gustatifs de la partie antérieure de la langue, glossopharyngien pour les bourgeons gustatifs de la partie postérieure de la langue et vague pour les bourgeons gustatifs de l'épiglotte (Buck et Bargmann, 2000; Lundy et Norgren, 2004).

Ces neurones gustatifs innervent des neurones gustatifs de relai, situés dans le noyau du tractus solitaire de la moelle allongée (myélocéphale). L'information gustative est ensuite transmise aux neurones du noyau parabrachial (sauf chez les primates, chez lesquels cette étape n'existe pas), puis au noyau ventral postéromédial du thalamus et, enfin, au cortex gustatif, situé au niveau du cortex insulaire et de l'opercule frontal (Matsumoto, 2013; Ogawa et al., 1985) (**Figure 3**).



**Figure 4. Représentation schématique en coupe des organes olfactifs chez la souris.**

En orange, la muqueuse olfactive, en rouge, l'organe voméronasal, en vert l'organe septal de Masera, et en bleu le ganglion de Grüneberg.

## 1.2. Olfaction

L'olfaction, ou sens de l'odorat, est critique pour la survie de nombreuses espèces, leur permettant de détecter et de discriminer la multitude de signaux chimiques présents dans leur environnement. Ce sens leur est indispensable pour localiser de la nourriture, établir ou respecter un territoire, identifier un membre du groupe ou un prédateur, choisir un partenaire de reproduction, reconnaître leur progéniture et éviter des substances éventuellement toxiques (Doty, 2003; Wyatt, 2003). Chez les mammifères, l'air inspiré et expiré circule dans la cavité nasale, permettant l'interaction entre les systèmes olfactifs qu'elle contient et des molécules environnementales pouvant être distinguées en deux catégories : les molécules odorantes et les phéromones.

### 1.2.1. Systèmes olfactifs

Afin de mieux comprendre l'olfaction, il est nécessaire de connaître les organes sensoriels autorisant la chimioréception des molécules olfactives, qu'elles soient odorantes ou phéromonales, volatiles ou aqueuses. Chez la majorité des mammifères, deux systèmes périphériques de perception olfactive sont décrits : le système olfactif principal, représenté par la muqueuse olfactive, et le système olfactif accessoire, représenté par l'organe voméronasal. Par ailleurs, on trouve aussi chez les rongeurs l'organe septal et le ganglion de Grüneberg (Munger et al., 2009) (**Figure 4**). Il a également été démontré qu'à haute concentration, presque tous les odorants peuvent activer des fibres trigéminales intranasales situées dans la muqueuse respiratoire (Doerfler et al., 2006; Doty et al., 1978).

Classiquement, il est admis que le système olfactif principal est impliqué dans la détection des molécules odorantes provenant de l'environnement, alors que le système olfactif accessoire est spécialisé dans la détection des phéromones, autrement dit odeurs sociales, associées aux comportements sociaux et reproducteurs (Firestein, 2001; Tirindelli et al., 1998). Cependant, cette dichotomie entre ces deux systèmes olfactifs a ensuite été remise en

cause par plusieurs études démontrant que systèmes olfactifs principal et accessoire sont tous deux sensibles aux odeurs et aux phéromones et projettent des afférences vers des zones corticales communes (Brennan et Zufall, 2006; Suárez et al., 2012). Ces observations ont permis à la communauté scientifique d'émettre l'hypothèse que ces systèmes olfactifs pourraient travailler en synergie (Baum, 2012; Suárez et al., 2012).

#### 1.2.1.1. Système olfactif principal

Le système olfactif principal est constitué par la muqueuse olfactive, un tissu composé d'une *lamina propria*, d'origine mésenchymateuse, et d'un neuroépithélium pseudostratifié, d'origine ectodermique, spécialisé dans la détection des molécules odorantes provenant de l'environnement. Elle doit être distinguée de la muqueuse respiratoire, qui conditionne l'air inspiré et protège les voies respiratoires. Toutefois, toutes deux agissent comme une barrière contre les pathogènes potentiels et les particules étrangères, prévenant les infections et lésions grâce au phénomène de clairance muco-ciliaire (Antunes et Cohen, 2007; Stanke, 2015).

Chez l'homme, la muqueuse olfactive se situe au niveau de la partie haute des cornets et du septum nasal, à proximité de la lame criblée de l'os ethmoïde. Elle couvre une surface d'environ 2 cm<sup>2</sup>, soit moins de 8% de la surface totale de la cavité nasale (Jafek, 1983). Chez d'autres espèces pour lesquelles l'olfaction joue un rôle plus important, le rat notamment, ce tissu peut occuper jusqu'à la moitié de la surface des cavités nasales (**Figure 5A**). L'épithélium olfactif est constitué de trois types cellulaires : les cellules basales, les cellules de soutien et les neurones (Moran et al., 1982).

##### 1.2.1.1.1. *Lamina propria*

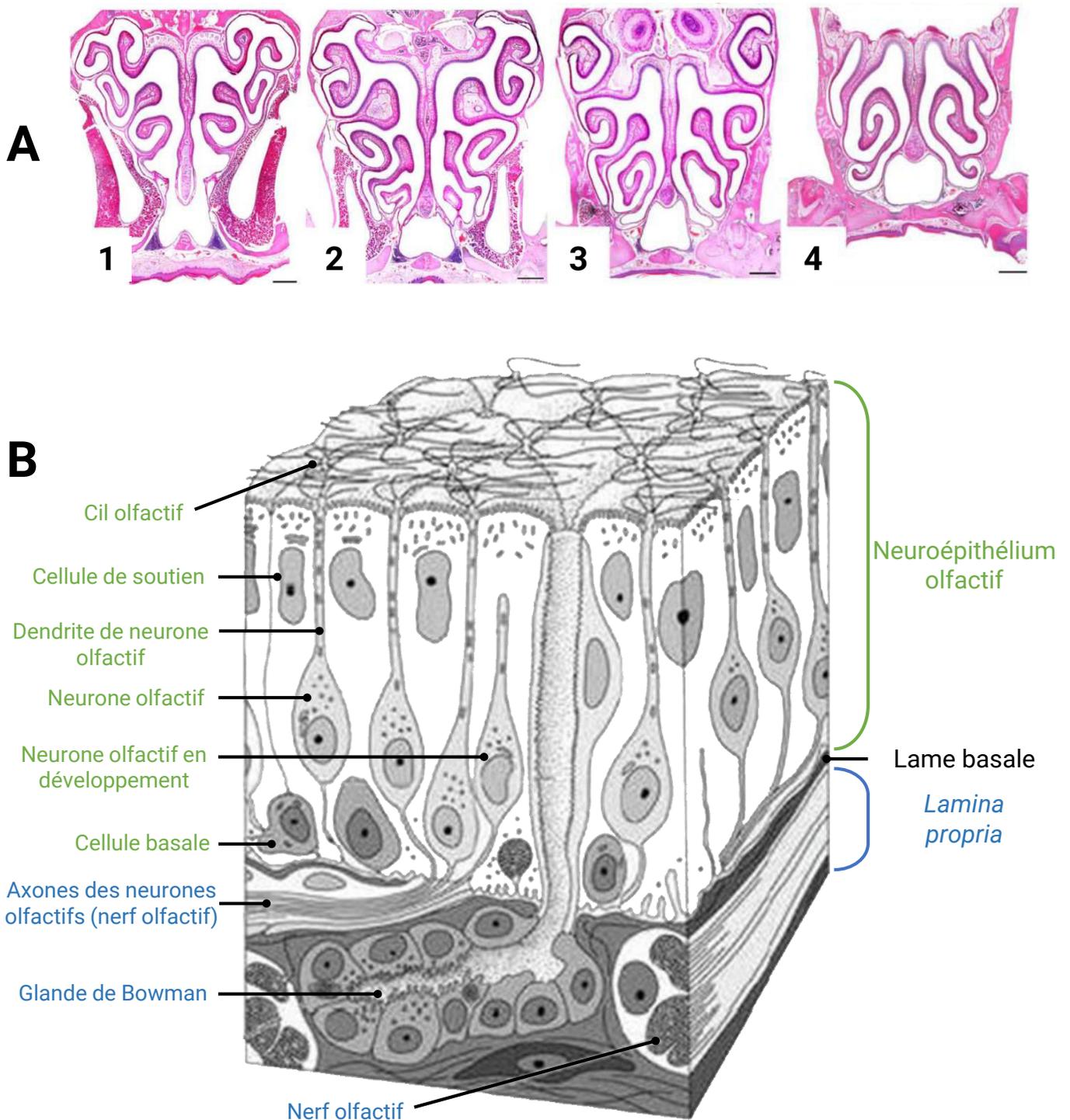
La *lamina propria* est un tissu conjonctif richement vascularisé, sous-jacent au neuroépithélium, lui-même avasculaire. Il abrite les faisceaux d'axones des neurones olfactifs, gainés par des cellules engainantes non-myélinisantes, des cellules de Schwann, des cellules

endothéliales formant les vaisseaux sanguins, des fibroblastes, des cellules souches, des cellules immunitaires, des fibres du nerf trijumeau et des cellules glandulaires formant les glandes de Bowman (Chen et al., 2014; Doty, 2003; Mellert et al., 1992; Murrell et al., 2005). Ces dernières sont des structures tubulo-alvéolaires, responsables de la production du mucus qui tapisse la surface de la muqueuse et de protéines de liaison des odorants (*Odorant Binding Protein*, OBP), qui piègent et solubilisent les molécules odorantes hydrophobes en s'y liant (Bignetti et al., 1985; Dal Monte et al., 1991; Guiraudie et al., 2003; Pevsner et al., 1986, 1988). La sécrétion de mucus est constante, ce qui permet de préserver la muqueuse d'un assèchement délétère (Ross et Pawlina, 2006) (**Figure 5B, bleu**).

#### 1.2.1.1.2. Neuroépithélium olfactif

On distingue deux types de cellules basales : les horizontales et les globulaires. Elles participent à la régénération de la population neuronale de la muqueuse. En effet, à l'image des cellules gustatives, les neurones ont une durée de vie estimée entre 30 et 60 jours et les cellules mortes sont remplacées suite à la différenciation de cellules basales globulaires en progéniteurs puis en neurones (Beites et al., 2005; Féron et al., 2013; Murrell et al., 2005; Schwob, 2002).

Les cellules de soutien ont un rôle comparable aux cellules gliales cérébrales. Elles s'étendent de la lame basale jusqu'à la lumière nasale, où elles forment des microvillosités. Elles forment des structures en piliers le long desquels s'étagent les neurones olfactifs. Les cellules de soutien ont un rôle de support physique, assurant la cohésion cellulaire de l'épithélium et donc son intégrité morphologique et fonctionnelle grâce à des jonctions serrées au niveau de leurs pôles apicaux (Steinke et al., 2008). Elles assurent également un rôle métabolique, régulant et maintenant un environnement ionique approprié au fonctionnement des neurones (Doty, 2003).



**Figure 5. Organisation de la muqueuse olfactive.**

A : Coupes transversales de la muqueuse olfactive, colorée à l'hémaloxiline-éosine, rangées en ordre antéro-postérieur (1-4). On distingue le septum central ainsi que les quatre cornets. Barres d'échelle : 500 µm (Barrios et al., 2014).

B : Schéma de l'organisation cellulaire de la muqueuse olfactive. Le neuroépithélium olfactif est composé de cellules basales (assurant le renouvellement des neurones olfactifs), de neurones olfactifs et de cellules de soutien (vert). La lame basale le sépare de la *lamina propria*, qui contient les glandes de Bowman (qui sécrètent le mucus) et le nerf olfactif formé par les faisceaux d'axones des neurones olfactifs projetant jusqu'au bulbe olfactif (bleu) (adapté de Buron, 2009).

L'épithélium olfactif humain contiendrait plusieurs millions de neurones bipolaires, possédant une dendrite apicale qui se ramifie en cils olfactifs baignant dans le mucus, et un axone basal. Chaque neurone exprime un seul récepteur olfactif et le millier (environ) de neurones exprimant le même récepteur olfactif est réparti sur une grande partie de la muqueuse olfactive (Ressler et al., 1994). Par ailleurs, tous les axones des neurones exprimant le même récepteur s'assemblent en faisceaux dans la *lamina propria* et convergent au niveau d'un seul glomérule au sein de chaque bulbe olfactif, comme nous le verrons plus tard (Mombaerts et al., 1996) (**Figure 5B, vert**).

#### 1.2.1.2. Système olfactif accessoire

L'établissement d'une hiérarchie, la rencontre de membres du sexe opposé et l'estimation de leur potentiel reproducteur pour maintenir une diversité génétique, ou encore le signalement d'une menace, sont des activités essentielles à la survie des animaux. Pour ce faire, les individus déploient une vaste gamme de signaux sensoriels, parmi lesquels les signaux chimiques jouent un rôle primordial. Quand un message chimique déclenche un effet spécifique chez l'animal qui le perçoit (receveur), la substance est dite «phéromonale». On distingue deux catégories : les phéromones ayant un effet rapide et non permanent sur le comportement du receveur, et celles occasionnant une modification profonde et permanente de la physiologie hormonale et des comportements associés du receveur. La nature moléculaire des phéromones reste largement méconnue chez les mammifères. Cependant, des études chez les rongeurs ont montré que de petites molécules aériennes ainsi que des substances non volatiles telles que des stéroïdes, des peptides et des protéines, sont impliquées dans la physiologie phéromonale (Haga et al., 2010; Leinders-Zufall et al., 2009; Nodari et al., 2008; Touhara, 2008; Zhang et al., 2008). La détection de ces substances non volatiles est permise par des organes spécialisés : l'organe voméronasal et chez les rongeurs, l'organe de Masera et le ganglion de Grüneberg (**Figure 4**).

#### 1.2.1.2.1. Organe voméronasal

L'organe voméronasal, ou organe de Jacobson, est une structure chimioréceptrice paire, située à la base et de chaque côté du septum nasal, initialement décrite par Jacobson en 1813. Cet organe est séparé de la muqueuse olfactive par une enveloppe cartilagineuse de forme tubulaire et renferme une lumière en forme de croissant (**Figure 6, n°1**). Il accueille sur sa partie concave médiane un neuroépithélium pseudostratifié similaire à celui de l'épithélium olfactif, comportant des neurones, des cellules de soutien et des cellules basales. Sur sa partie convexe latérale, on retrouve des cellules non sensorielles ciliées et sécrétrices (Døving et Trotier, 1998) (**Figure 6, encadré 1**). L'organe voméronasal est relié à la cavité buccale par le canal incisif et à la cavité nasale par le canal nasopalatin (Keverne, 1999). Chez l'homme, l'organe voméronasal se développe *in utero* au moment d'une étape cruciale pour le développement du système reproductif. En effet, le fonctionnement des gonades repose sur la sécrétion hormonale hypophysaire de FSH (*Folliculo-Stimulating Hormone*) et de LH (*Luteinizing Hormone*), dépendant elle-même de la sécrétion de GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) par des cellules du noyau arqué de l'hypothalamus. Or, ces cellules hypothalamiques, comme le système olfactif principal et l'organe voméronasal, dérivent de la placode olfactive embryonnaire et migrent lors du développement le long d'un rail nommé nerf terminal (*nervus terminalis*, ou nerf crânien zéro) et atteignent l'hypothalamus en formation. Le nerf terminal, le long duquel les cellules migrent, est formé par les axones des neurones voméronasaux (Wray, 2010). Cependant, par la suite l'organe voméronasal régresse, ne laissant que quelques vestiges non fonctionnels chez l'homme adulte (Bhatnagar et Smith, 2001; Trotier et al., 2000).

Traditionnellement, l'organe voméronasal est considéré comme étant spécialisé dans la détection des signaux sociaux (phéromones, souvent non volatiles) et participe à la modulation de comportements tels que l'accouplement et l'agressivité. La détection de substances non volatiles (ou de substances volatiles en solution) est uniquement permise par

cet organe car le transport aérien permet aux phéromones volatiles d'atteindre l'épithélium olfactif principal. Par exemple, l'aphrodisine, protéine présente dans les sécrétions vaginales du hamster femelle, déclenche la séquence comportementale de reproduction chez les jeunes mâles par activation de leur organe voméronasal (Briand et al., 2004). Des résultats récents indiquent que cet organe perçoit aussi les odeurs volatiles, connues pour provoquer des réponses dans la muqueuse olfactive, ce qui suggère un chevauchement des ligands entre les deux systèmes olfactifs principal et accessoire (Brennan et Zufall, 2006; Dulac et Wagner, 2006; Spehr et al., 2006).

#### 1.2.1.2.2. Organe septal (de Masera)

L'organe septal, ou organe de Masera, est un îlot de neuroépithélium olfactif séparé de la muqueuse olfactive par de la muqueuse respiratoire, et situé de chaque côté de la base ventrale du septum nasal, près du nasopharynx (**Figure 6, n°2**). Découvert en 1921 par Broman et décrit par Rodolfo-Masera en 1943, il a été observé chez de nombreux rongeurs (Adams et McFarland, 1971; Bojsen-Moller, 1975; Katz et Merzel, 1977; Taniguchi et al., 1993). Cet organe a une composition cellulaire similaire à la muqueuse olfactive et à l'organe voméronasal. Il comporte des neurones ciliés, des cellules microvillaires, des cellules de soutien et des glandes de Bowman (Taniguchi et al., 1993). Cependant, l'organe septal diffère de la muqueuse olfactive car il contient un nombre inférieur de couches de neurones (2 ou 3), contre 6 à 8 dans la plupart des régions de l'épithélium principal (Ma et al., 2003; Weiler et Farbman, 2003). De plus, les neurones de l'organe de Masera ont un corps cellulaire aplati et des dendrites plus courtes et plus larges que les neurones de l'épithélium olfactif (Ma et al., 2003) (**Figure 6, encadré 2**).

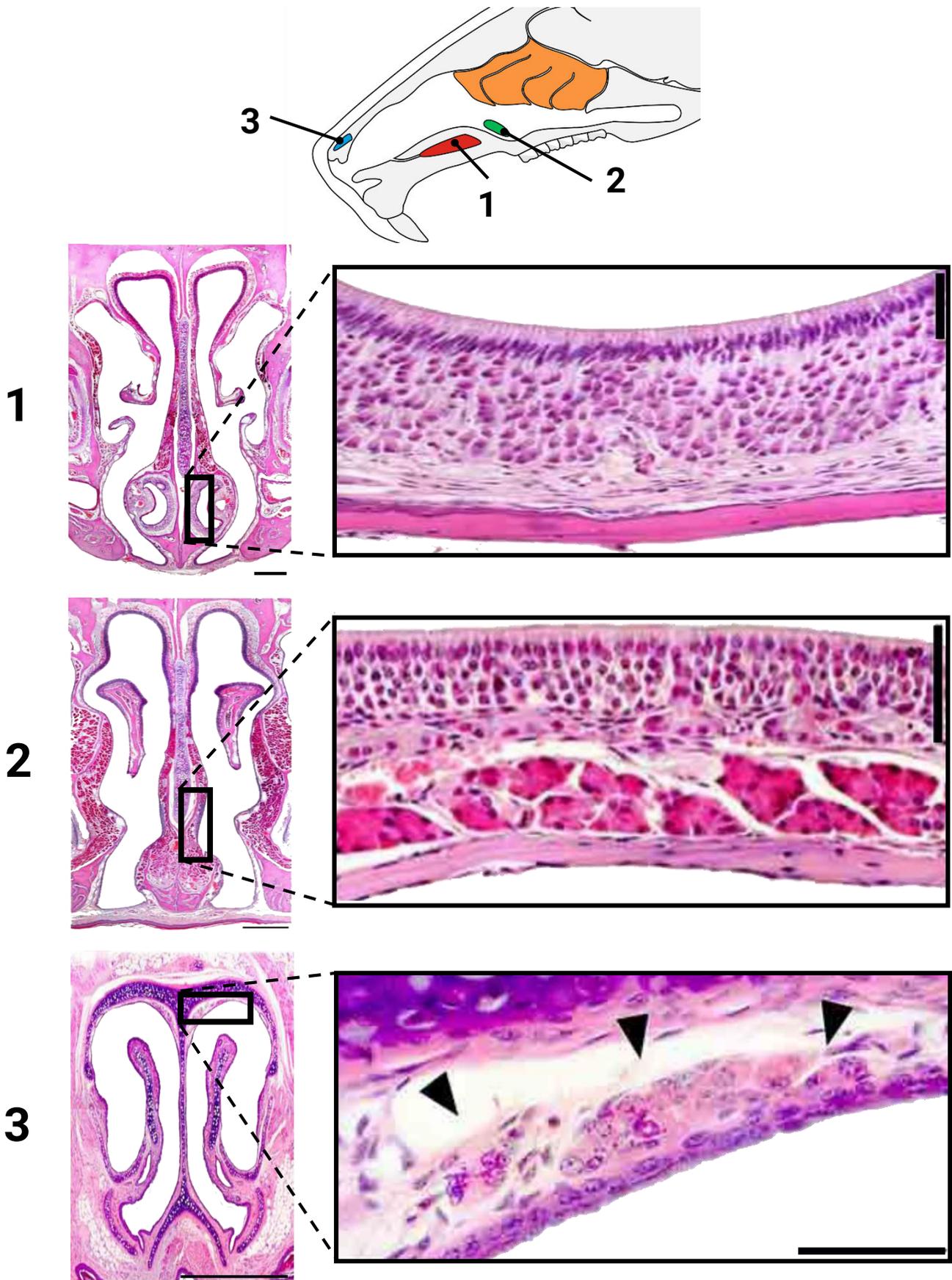
L'organe septal est un système chimiosensoriel répondant à diverses molécules chimiques, dont des odorants (Marshall et Maruniak, 1986). En effet, cet organe exprime entre 50 et 80 récepteurs olfactifs, exclusivement de classe II, qui ne sont pas spécifiques à ce tissu (Kaluza et al., 2004; Tian et Ma, 2004). En raison de son positionnement à l'entrée du canal nasopalatin,

l'organe septal est parfaitement adapté à la détection de composés odorants volatiles ou encore aqueux, en provenance de la cavité buccale. Il est donc envisageable que l'organe septal ait un double rôle fonctionnel, à savoir l'examen des odeurs alimentaires et l'identification des signaux socio-sexuels (Breer et al., 2006). Il a par ailleurs été démontré que les neurones de l'organe septal répondent également à des stimuli mécaniques. Cette mécanosensibilité augmente l'activité de neurones individuels lorsqu'ils sont faiblement stimulés par des odorants et pourrait fournir une aide périphérique permettant la synchronisation de l'activité du bulbe olfactif (oscillation thêta) avec le rythme respiratoire (Grosmaître et al., 2007).

#### 1.2.1.2.3. Ganglion de Grüneberg

Le ganglion de Grüneberg est situé de chaque côté de l'extrémité antérieure du septum nasal (**Figure 6, n°3**). À l'origine, il était supposé non sensoriel et appartenant au nerf terminal (Grüneberg, 1973). Cependant, des études ont révélé que le ganglion de Grüneberg consiste en un amas de 300 à 500 neurones exprimant l'OMP (*Olfactory Marker Protein*), un marqueur des neurones chimiosensoriels matures, bien qu'ils ne possèdent pas les cils ou les dendrites caractéristiques des neurones olfactifs. Le ganglion de Grüneberg possède également une structure cellulaire différente des *epithelia* pseudostratifiés de la muqueuse olfactive, de l'organe voméronasal et de l'organe septal. Il forme une flèche d'environ 1 millimètre de longueur, composée de neurones et de fibroblastes enfermés dans une capsule d'épithélium kératinisé (**Figure 6, encadré 3**). Cependant, à l'image des neurones olfactifs des systèmes décrits précédemment, chaque neurone du ganglion de Grüneberg étend un axone unique (Brechtbühl et al., 2008).

Le ganglion de Grüneberg agit, chez les souris nouvelles-nées et adultes, comme un sous-système olfactif d'alerte primordial, dédié à la reconnaissance des molécules d'alarme et requérant une attention immédiate. Les neurones du ganglion de Grüneberg répondent également au froid (Mamasuew et al., 2008). Son emplacement inhabituel, à l'extrémité du nez,



**Figure 6. Organe voméronasal, organe septal et ganglion de Grüneberg de souris.**

A gauche, coupes transversales colorées à l'hématoxyline-éosine indiquant la localisation de l'organe voméronasal (1, rouge), de l'organe septal (2, vert) et du ganglion de Grüneberg (3, bleu), et vues agrandies de chacun dans les encadrés à droite. Les capsules d'épithélium kératinisé contenant les neurones sensoriels du ganglion de Grüneberg sont fléchées en 3. Barres d'échelle : 500 µm (coupes) ; 50 µm (encadrés) (Barrios et al., 2014).

loin du système olfactif principal, lui permet de détecter rapidement les stimuli. Le ganglion de Grüneberg a été identifié chez toutes les espèces de mammifères étudiées jusqu'à présent, y compris chez l'embryon humain (Brecht et al., 2008; Fleischer et al., 2006; Storan et Key, 2006).

Chacun des systèmes chimiosensoriels décrits précédemment est hautement spécialisé dans la détection de composés odorants et/ou phéromonaux et organisé spécifiquement afin d'assurer l'interaction et le dialogue avec l'environnement. Une fois perçues par ces capteurs sensoriels périphériques, les informations chimiques sont ensuite transmises à des structures cérébrales centrales qui les analysent.

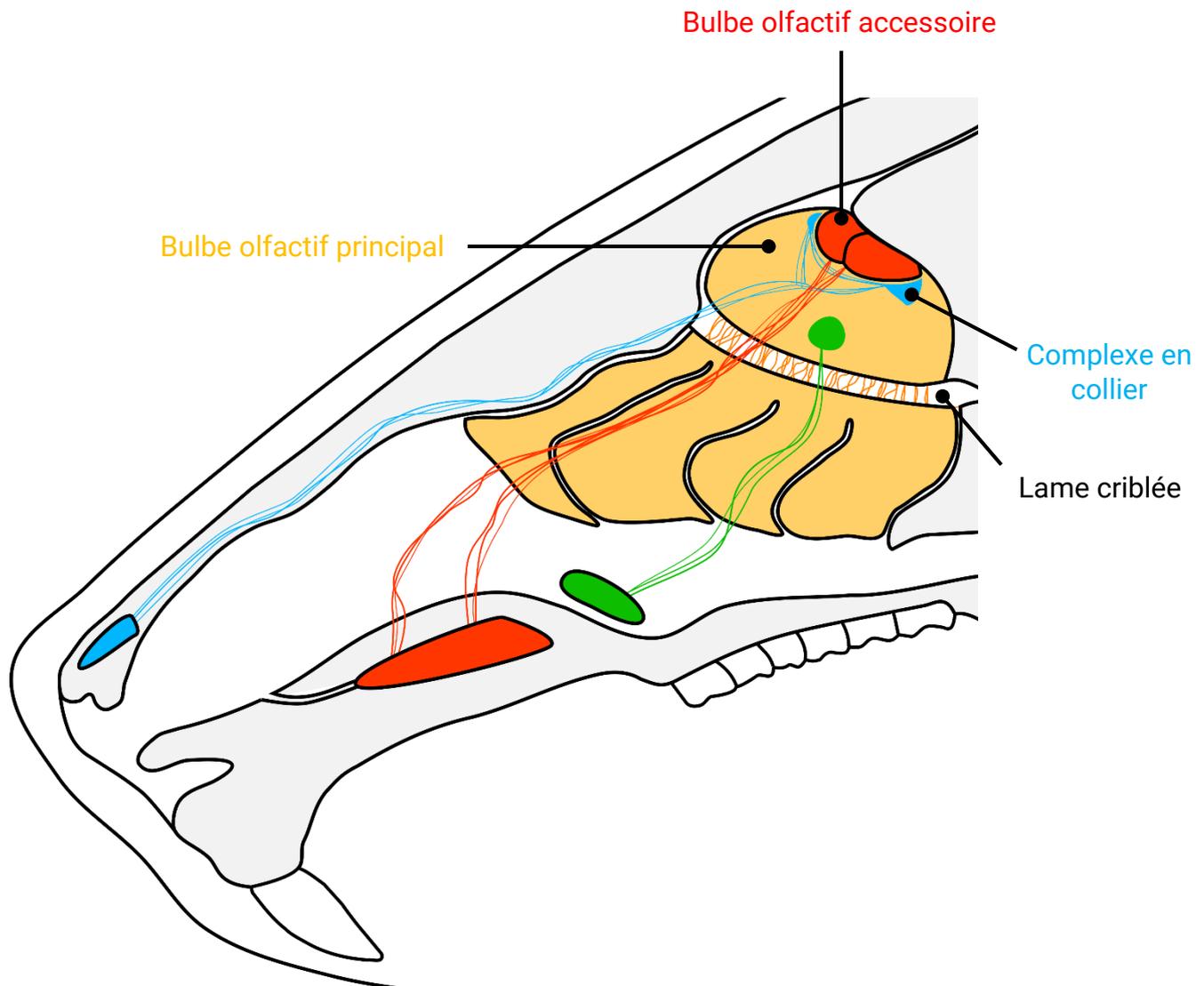
## 1.2.2. Traitement central de l'olfaction

### 1.2.2.1. Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif est une structure cérébrale paire, proche de la cavité nasale dont elle est séparée par la lame criblée de l'os éthmoïde. La fonction principale du bulbe olfactif est d'intégrer l'information olfactive en provenance des différents organes sensoriels olfactifs périphériques, avant de la relayer vers différentes structures cérébrales qui seront responsables du traitement plus avancé de cette information.

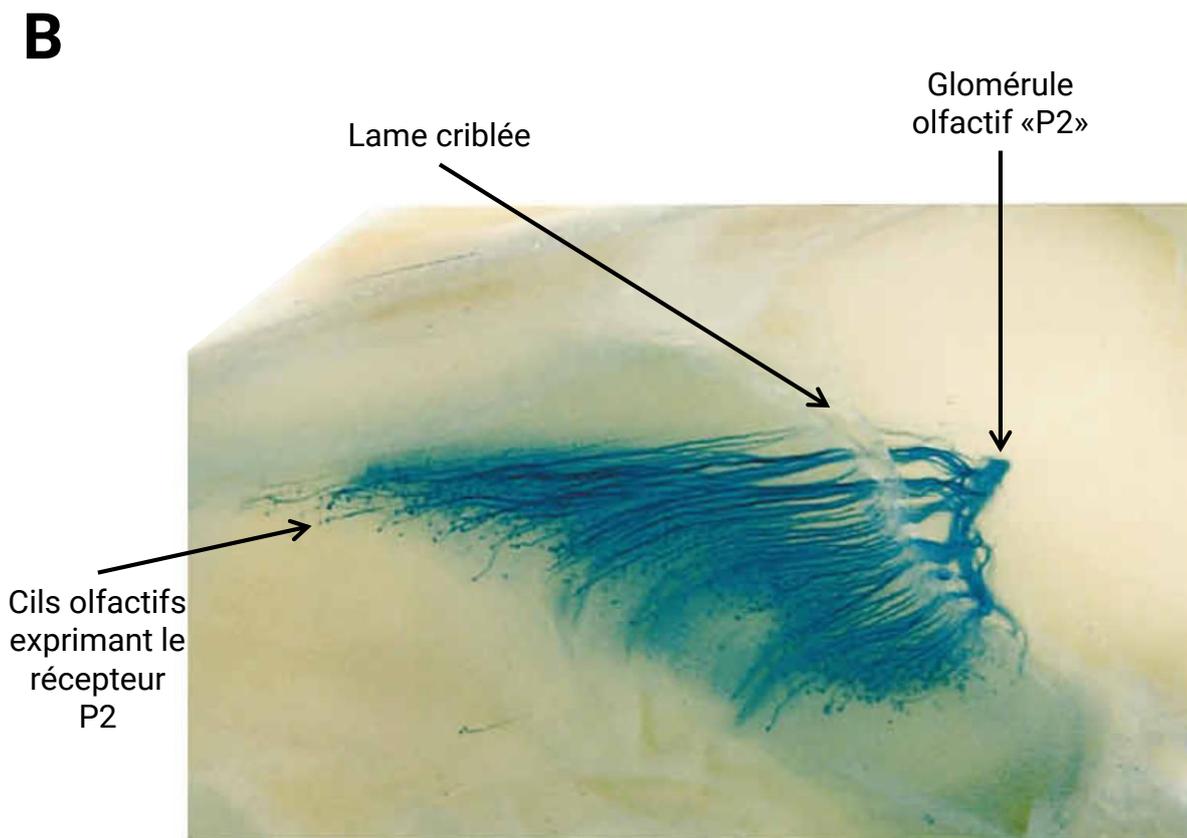
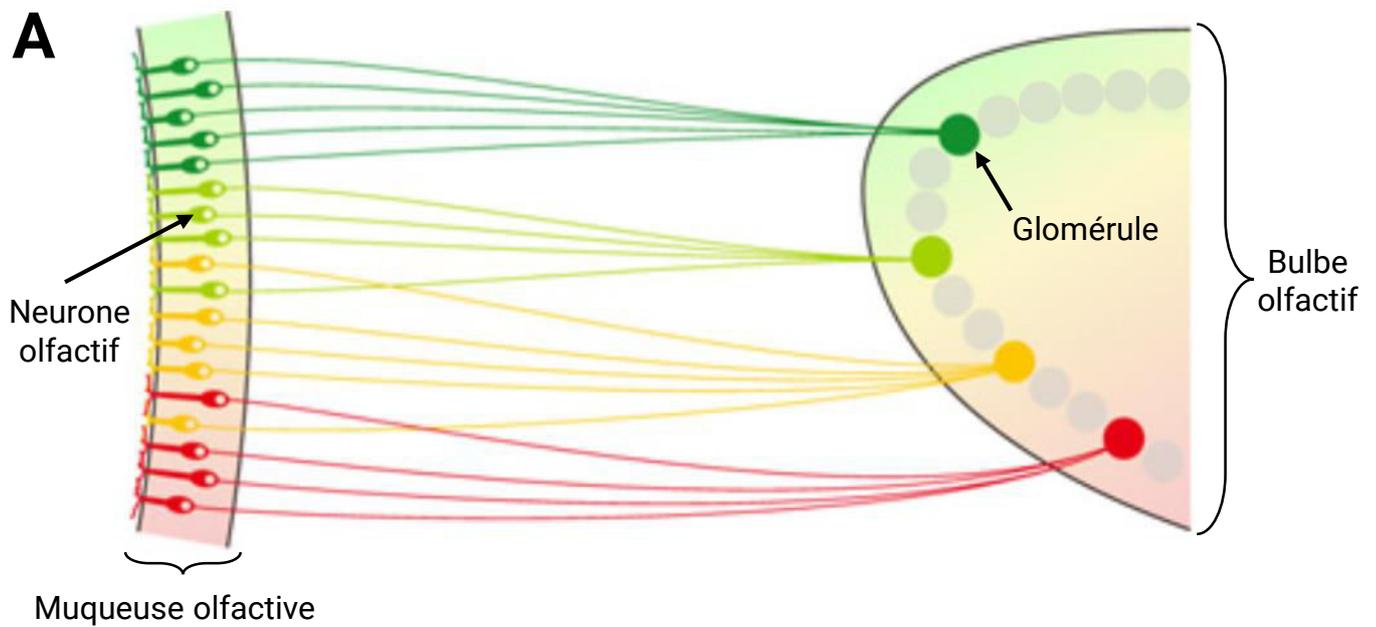
#### 1.2.2.1.1. Afférences

La plus grande partie du bulbe olfactif reçoit des projections en provenance des neurones de la muqueuse. Les axones des neurones de l'organe septal forment un ou deux faisceaux qui projettent sur environ 15 glomérules de la partie ventromédiale du bulbe olfactif postérieur (Ma et al., 2003). L'ensemble des axones des neurones du ganglion de Grüneberg fait, lui, synapse au niveau du complexe en collier du bulbe olfactif. En revanche, les axones issus des neurones de l'organe voméronasal aboutissent au niveau du bulbe olfactif accessoire, qui est une structure distincte située dans la région dorsale du bulbe olfactif principal (Tirindelli et al., 2009) (**Figure 7**).



**Figure 7. Projections nerveuses des organes olfactifs vers les bulbes olfactifs du système nerveux central.**

Les axones des neurones olfactifs de l'épithélium olfactif principal innervent la plus grande partie des bulbes olfactifs principaux (orange). Les axones des neurones olfactifs de l'organe voméronasal se projettent dans les bulbes olfactifs accessoires (rouge). Les axones des neurones olfactifs du ganglion de Grüneberg font synapse au niveau du complexe en collier des bulbes olfactifs principaux (bleu) tandis que les axones des neurones olfactifs de l'organe septal projettent sur des glomérules de la partie ventro-médiane des bulbes olfactifs principaux (vert) (adapté de Munger et al., 2009).



**Figure 8. Convergence glomérulaire des neurones sensoriels olfactifs.**

A : Schéma de la convergence glomérulaire des neurones olfactifs exprimant les mêmes récepteurs olfactifs vers le même glomérule du bulbe olfactif (Sakano, 2010).

B : Septum nasal et partie médiane du bulbe olfactif d'une souris P2-IRES-tau-lacZ de 4 mois, marquée à l'X-Gal. Les axones des neurones olfactifs exprimant le récepteur P2 convergent, traversent la lame criblée pour atteindre le même glomérule olfactif (Mombaerts et al., 1996).

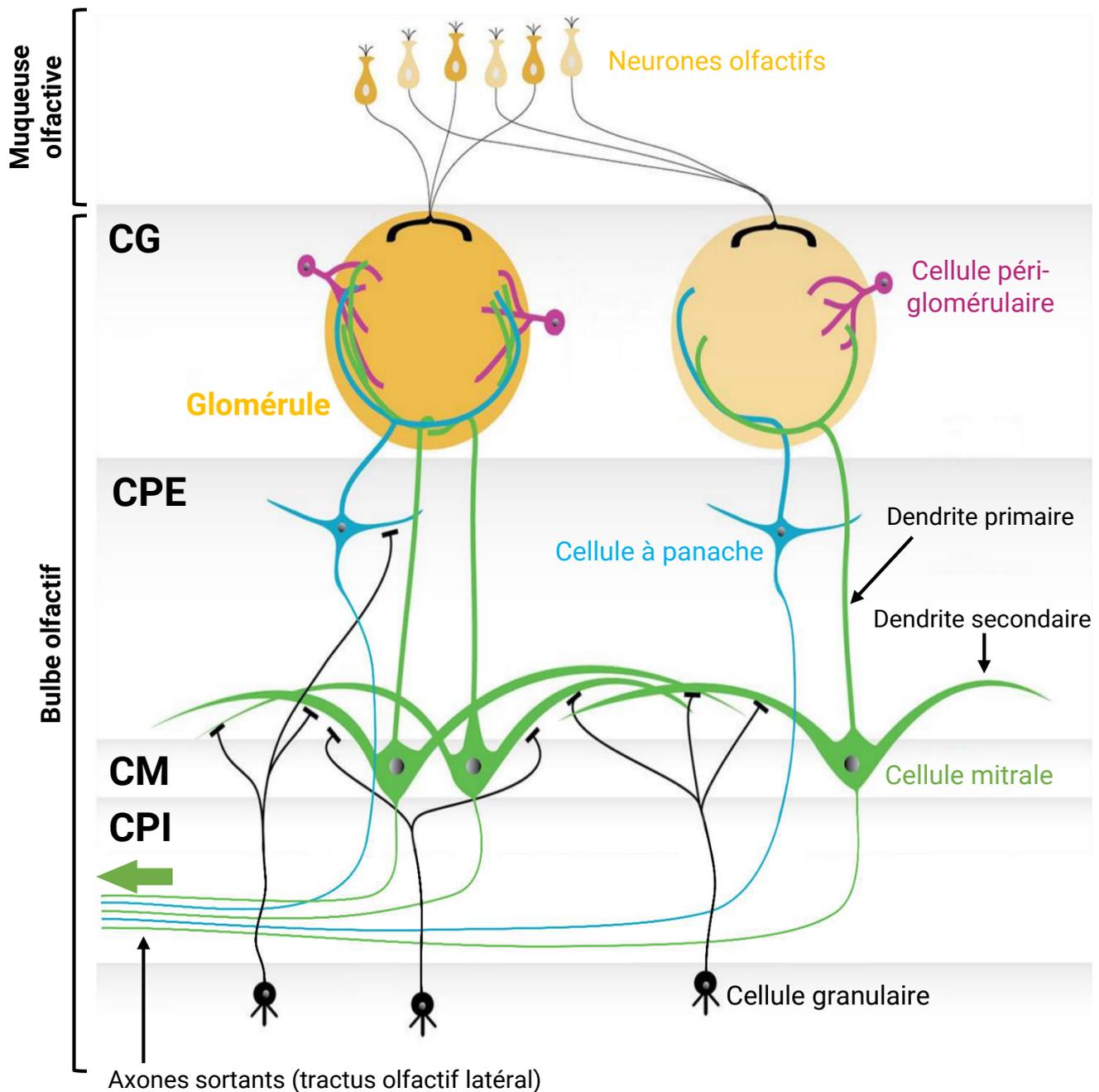
Par ailleurs, les axones des neurones de la muqueuse olfactive exprimant un même type de récepteur olfactif se regroupent en faisceaux et contactent un glomérule unique au niveau du bulbe olfactif. C'est ce qu'on appelle la convergence glomérulaire des neurones sensoriels olfactifs (Mombaerts et al., 1996) (**Figure 8**).

#### 1.2.2.1.2. Architecture cellulaire

Les axones des neurones olfactifs font donc synapse, au sein des glomérules du bulbe olfactif, avec deux types de neurones de projection : les cellules mitrales et les cellules à panache, qui étendent une unique dendrite primaire par glomérule. Les dendrites secondaires des cellules mitrales et des cellules à panache rejoignent la couche plexiforme externe où elles forment des synapses réciproques avec les dendrites des cellules périglomérulaires. À l'opposé, les axones des cellules mitrales et des cellules à panache traversent la couche plexiforme interne pour rejoindre la couche des cellules granulaires, interneurons sans axone dont les dendrites s'étendent apicalement jusqu'aux cellules mitrales (Nagayama et al., 2014) (**Figure 9**).

#### 1.2.2.1.3. Codage de l'information

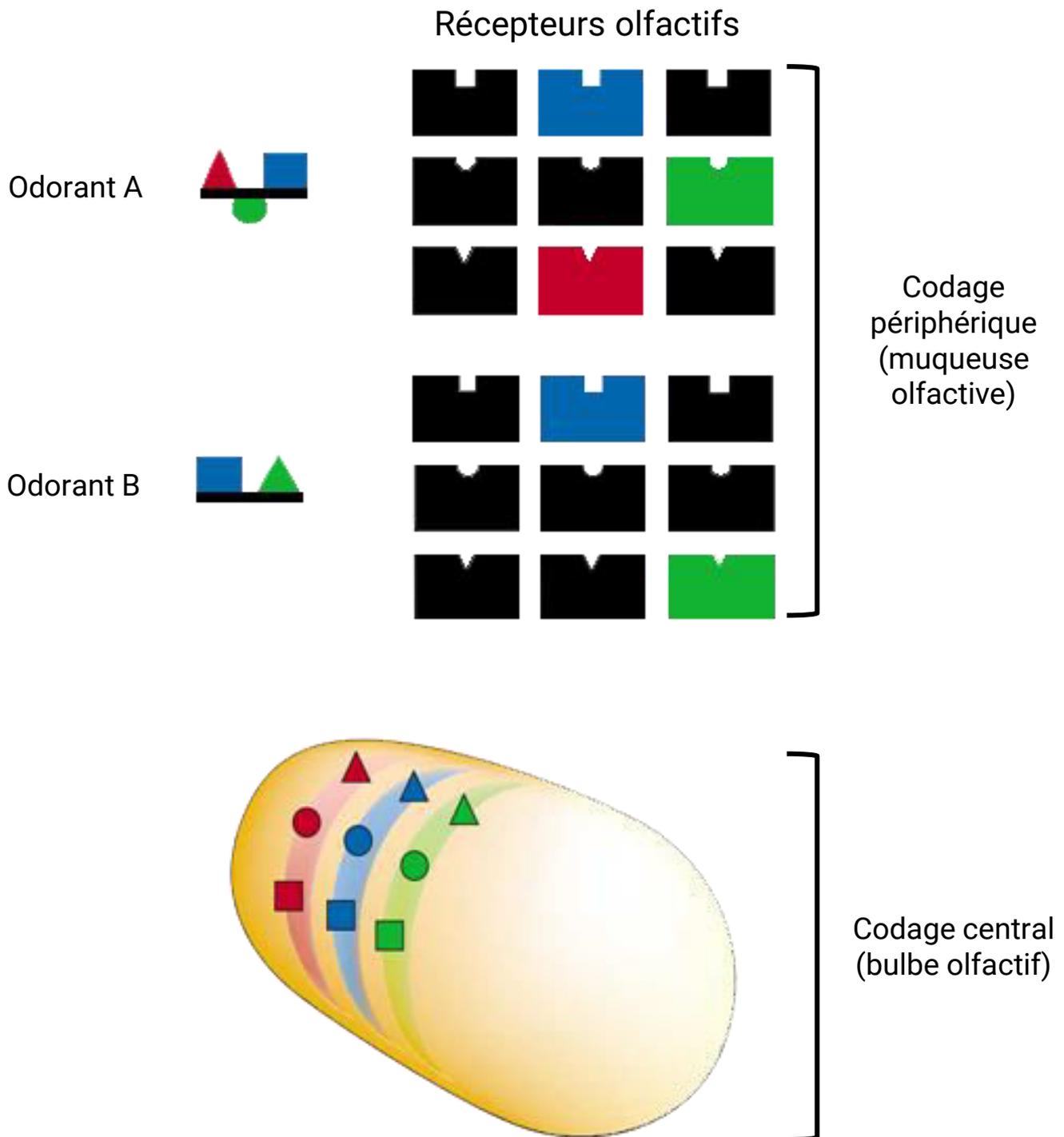
Un odorant peut activer plusieurs récepteurs olfactifs et un récepteur olfactif reconnaît plusieurs odorants : l'information olfactive est donc encodée de façon périphérique par des motifs de localisation de récepteurs répondant à une substance (Malnic et al., 1999). Par ailleurs, du fait de la convergence glomérulaire, chaque glomérule représente un seul récepteur olfactif et la localisation de chacun d'eux a été conservée au cours de l'évolution, représentant un second codage spatial de l'information olfactive (Mombaerts et al., 1996) (**Figure 10**). De plus, les odeurs peuvent induire une activité oscillatoire dans les gammes de fréquences thêta (4.5 – 8 Hz), bêta (12 – 45 Hz) et gamma (35 – 80 Hz), ce qui reflète une synchronisation rythmique d'ensembles neuronaux spécifiques d'un stimulus. Ces motifs d'activité olfactive sont très dynamiques, évoluant parfois sur des centaines de millisecondes, voire des secondes. Des travaux chez les insectes et les vertébrés indiquent que cette dynamique peut



**Figure 9. Réseau neuronal du bulbe olfactif.**

Les axones des neurones sensoriels olfactifs forment des synapses dans la couche glomérulaire (CG), constituée de glomérules (orange) représentant chacun un type de récepteur olfactif. Les cellules mitrales (vert) et les cellules à panache (bleu) y projettent une dendrite primaire par laquelle elles reçoivent les apports synaptiques des axones des neurones sensoriels olfactifs. Elles forment également des synapses réciproques avec les dendrites des cellules péri-glomérulaires (violet). Leurs axones sortent du bulbe olfactif en formant le tractus olfactif latéral au niveau de la couche plexiforme interne (CPI) et projettent dans le cortex olfactif.

Le soma des cellules mitrales se situe dans la couche mitrale (CM), tandis que les cellules à panache sont disséminées dans la couche plexiforme externe (CPE). Les dendrites secondaires des cellules mitrales et touffetées sont allongées dans la CPE, où elles forment des synapses réciproques avec les dendrites des cellules granulaires, qui sont des interneurons sans axone (adapté de Nagayama et al., 2014).



**Figure 10. Codage de l'information olfactive.**

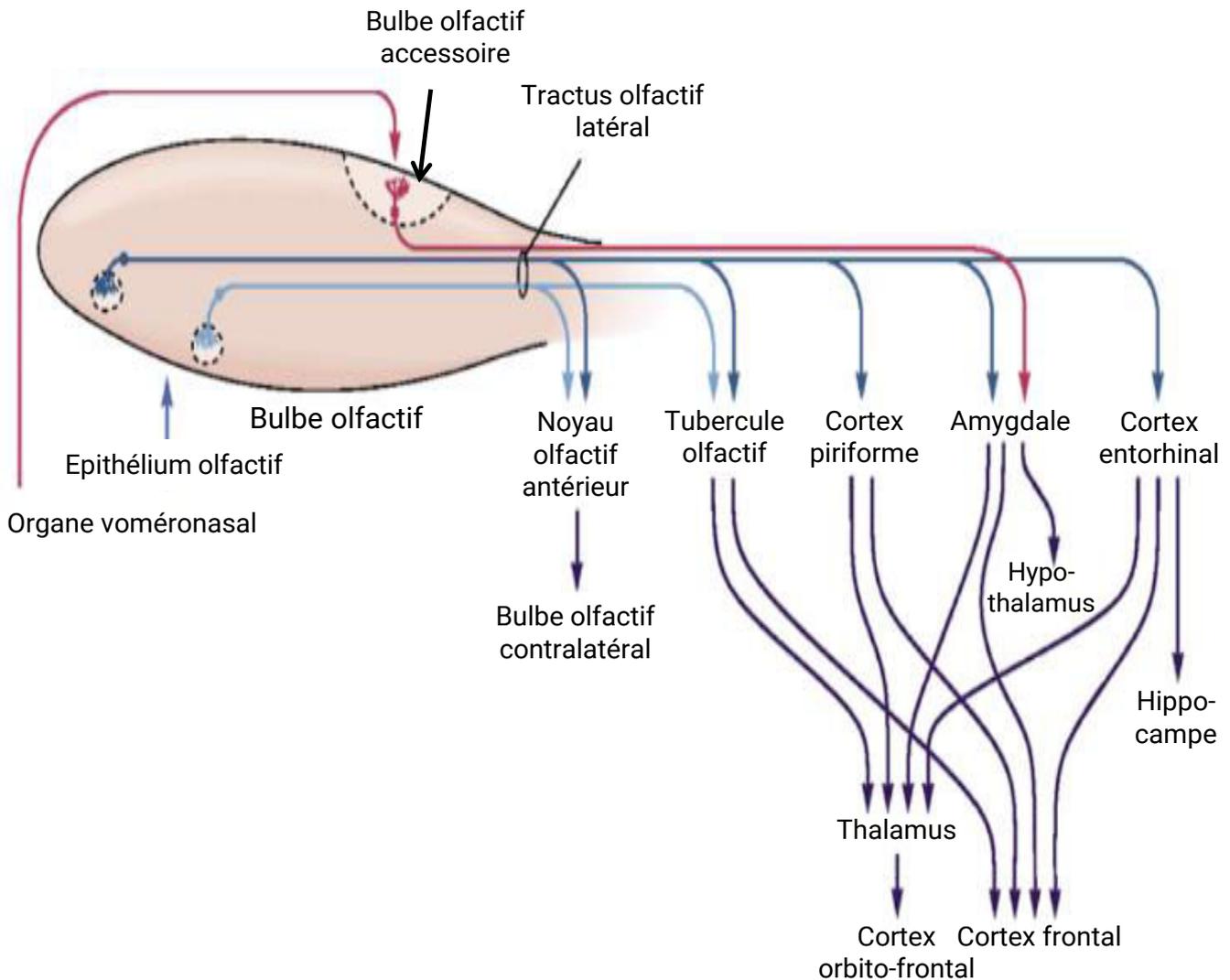
Au niveau de la muqueuse olfactive, différentes parties colorées d'un même odorant peuvent activer des récepteurs différents : l'identité d'un odorant est donc codée par la combinaison de récepteurs qu'il sera capable d'activer simultanément. Par ailleurs, un même récepteur peut répondre à une variété d'odorants. Au niveau central, la position des glomérules activés constitue un second niveau de codage. La combinaison du codage périphérique et central crée ce que l'on appelle le codage combinatoire de l'information olfactive. Compte tenu du très grand nombre de combinaisons possibles, ce système permettrait de discriminer une variété presque illimitée d'odorants différents (adapté de Firestein, 2001).

transmettre des informations supplémentaires sur le stimulus et jouer un rôle important dans le traitement des représentations odorantes (Laurent, 2002). Par ailleurs, le réseau glomérulaire représenté par les cellules mitrales, à panache, périglomérulaires et granulaires effectuerait différentes tâches, comme normaliser l'intensité de la réponse, dé-corréler les motifs d'activités superposés et extraire les caractéristiques du message (Spors et al., 2012).

#### 1.2.2.2. Projections cérébrales

Les axones des cellules mitrales et à panache sortent du bulbe olfactif en formant le tractus olfactif latéral avant de rejoindre le cortex olfactif, divisé en cinq aires principales : le noyau olfactif antérieur (qui connecte les deux bulbes olfactifs par une portion de la commissure antérieure), le tubercule olfactif, le cortex piriforme, l'amygdale et le cortex entorhinal. À partir des quatre dernières aires, l'information est relayée au cortex orbitofrontal *via* le thalamus. Cependant, le cortex olfactif établit également des contacts directs avec le cortex frontal. De plus, l'information olfactive est transmise de l'amygdale à l'hypothalamus et de la zone entorhinale à l'hippocampe (**Figure 11**). Les voies afférentes du thalamus jusqu'au cortex orbitofrontal sont responsables de la perception et de la discrimination des odeurs car cette capacité est abolie chez des personnes présentant des lésions du cortex orbitofrontal. En revanche, les voies olfactives menant à l'amygdale et à l'hypothalamus, appartenant toutes deux au système limbique, relaient les aspects émotionnels et motivationnels de l'odorat ainsi que de nombreux effets comportementaux et physiologiques liés à la perception des odeurs (Buck et Bargmann, 2000).

Les cellules mitrales du bulbe olfactif accessoire, qui reçoivent les projections des neurones de l'organe voméronasal, projettent leurs axones vers différents noyaux du système limbique (amygdaloïde médial, cortical amygdaloïde postéromédial, lit de la strie terminale et tractus olfactif accessoire). Ces structures sont, à leur tour, reliées à plusieurs noyaux hypothalamiques, comme la zone préoptique médiane, l'hypothalamus ventromédial et les noyaux prémamillaire et supraoptique (Dulac et Wagner, 2006; Meredith, 1998). Ces régions



**Figure 11. Projection centrale du message olfactif chez la souris.**

Les axones des cellules mitrales et à panache (bleu) sortent du bulbe olfactif en formant le tractus olfactif latéral avant de rejoindre le cortex olfactif, divisé en cinq aires principales : le noyau olfactif antérieur (qui connecte les deux bulbes olfactifs par une portion de la commissure antérieure), le tubercule olfactif, le cortex piriforme, l'amygdale et le cortex entorhinal. À partir des quatre dernières aires, l'information est relayée au cortex orbitofrontal via le thalamus. Le cortex olfactif établit également des contacts directs avec le cortex frontal. De plus, l'information olfactive est transmise de l'amygdale à l'hypothalamus et de la zone entorhinale à l'hippocampe. Les cellules mitrales du bulbe olfactif accessoire, qui reçoivent les projections des neurones voméronasaux (rose), projettent leurs axones vers différents noyaux de l'amygdale. Ces derniers sont reliés à plusieurs noyaux hypothalamiques (Buck et Bargmann, 2000).

sont interconnectées et des décennies d'études de lésion ou de stimulation de ces zones ont révélé leur importance dans le contrôle des comportements sociaux d'accouplement et d'agression chez les deux sexes (Colpaert et Wiepkema, 1976; Emery et Sachs, 1976; Erb et Stewart, 1999; Goy et Phoenix, 1963; Kondo et al., 1998). Par exemple, des rats ayant subi une lésion bilatérale du noyau postéromédial de l'amygdale présentent des troubles de l'érection et du comportement copulatoire (Kondo et al., 1998).

## **2. Les chimiorécepteurs rhino-laryngés**

Les sensations olfactives et gustatives sont permises par la présence de tissus hautement spécialisés, présentés et décrits dans les parties précédentes. Cependant, l'immense diversité de composés chimiques pouvant être détectés par les animaux exige la présence d'entités moléculaires capables de les percevoir correctement. Cette partie du manuscrit présente les premiers acteurs des perceptions gustative et olfactive : les chimiorécepteurs gustatifs, olfactifs, phéromonaux, ainsi que leurs partenaires de signalisation cellulaire. Ces acteurs sont présents dans la région rhino-laryngée chez l'homme comme chez les autres vertébrés et appartiennent tous, à l'exception des récepteurs guanylate cyclase-D, à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Les RCPG s'associent à une protéine G, responsable de l'initiation de la transduction du signal chimique après activation du récepteur par la fixation d'un ligand extracellulaire. Les RCPG ont une structure commune du fait de leurs sept domaines transmembranaires en hélice  $\alpha$ . Ils peuvent être classés en cinq classes basées sur des similarités de séquences protéiques.

## 2.1. Les récepteurs gustatifs

Le rôle physiologique du goût est de fournir la capacité de détecter les nutriments clés avant l'ingestion et d'éviter les molécules potentiellement nocives, généralement au goût amer, comme les alcaloïdes végétaux.

### 2.1.1. Récepteurs gustatifs de type 1

Chez l'homme, les goûts sucrés et umami sont détectés par les récepteurs codés par trois gènes de la famille des récepteurs gustatifs de type 1 (T1R : les gènes sont désignés comme *TAS1Rx* chez l'homme et *Tas1rx* chez la souris, et les protéines T1Rx), RCPG de classe C (Li et al., 2002; Nelson et al., 2001, 2002) (**Figure 12 A**). De façon intéressante, les 3 gènes de la famille T1R sont conservés chez les vertébrés terrestres à l'exception des chats, pour lesquels *TAS1R2* est un pseudogène (Li et al., 2005). La perte de ce dernier et donc de la perception du goût sucré est conforme à la diète de ces animaux, qui sont en effet des carnivores (Liman, 2006). Bien que la plupart des espèces conservent des T1R fonctionnels, la spécificité de leurs ligands peut varier pour permettre la détection d'éléments nutritifs naturels propres aux espèces. Par exemple, les récepteurs sucrés de l'homme et de la souris diffèrent par leur sensibilité à la brazéine, qui a un goût très sucré pour l'homme, alors que les souris y sont indifférentes. L'origine structurelle de cette différence a été cartographiée à une région riche en cystéine dans le récepteur T1R3 (Jiang et al., 2004).

Au niveau des cellules gustatives de type II, les sucres et autres substances sucrées se lient à des dimères de récepteurs T1R2/T1R3, bien que d'autres récepteurs au sucré sont suspectés (Cui et al., 2006; Morini et al., 2005; Nelson et al., 2001). Le glutamate monosodique, goût umami typique, se lie au dimère T1R1/T1R3 ainsi qu'à des formes de récepteurs métabotropiques au glutamate telles que mGluR1 et une forme tronquée de mGluR4 (Chaudhari et al., 2000; Nakashima et al., 2012).

### 2.1.2. Récepteurs gustatifs de type 2

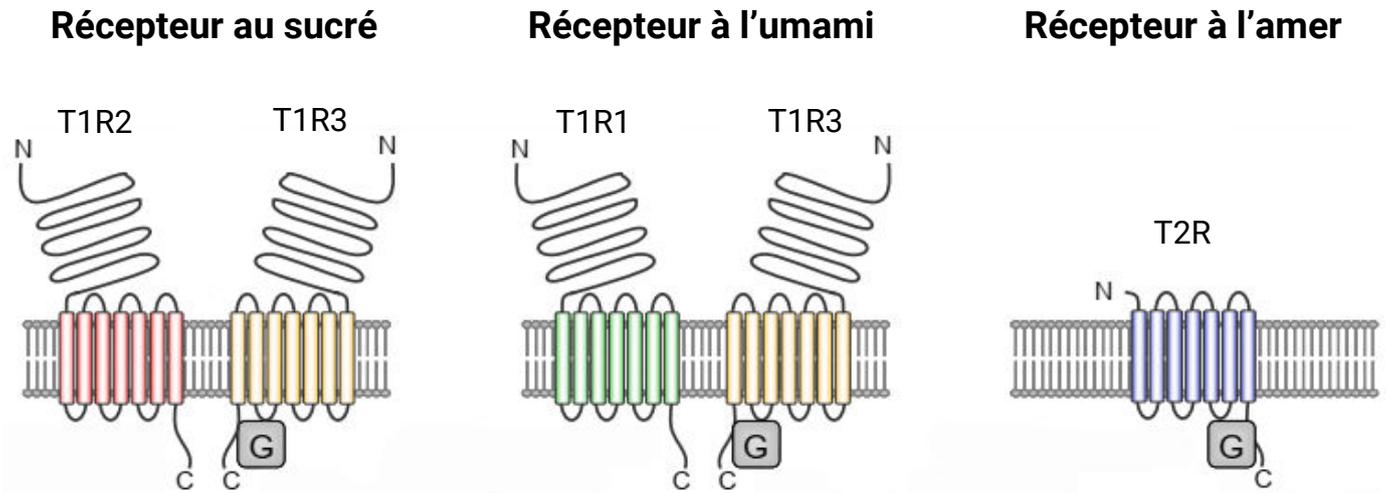
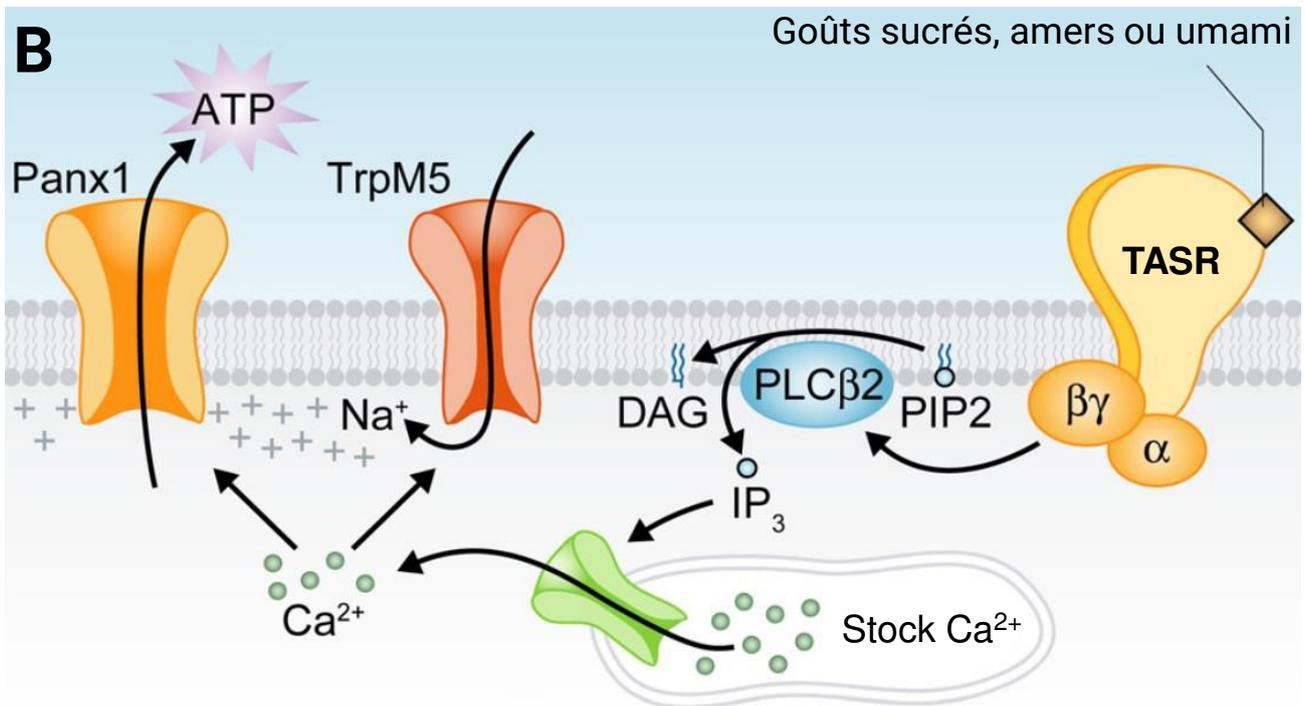
Les stimuli au goût amer, eux, activent les récepteurs gustatifs de type 2 (T2R : les gènes sont désignés comme TAS2Rx chez l'homme et Tas2rx chez la souris, et les protéines T2Rx) appartenant à la classe A de la famille des RCPG (Di Pizio et al., 2016; Risso et al., 2014; Zhao et al., 2003) (**Figure 12 A**). Les gènes des T2R sont présents en nombre variable parmi les différentes espèces, ayant subi une expansion rapide et une pseudogénéisation (Niimura et Nei, 2006). Chez l'homme, 25 gènes de la famille T2R sont fonctionnels contre 35 chez la souris (Fischer et al., 2005; Go et al., 2005; Niimura et Nei, 2006). Comparé au génome murin contenant trois pseudogènes, le génome humain en contient huit. Ceci représente un haut taux de pseudogénéisation, par ailleurs supérieur à celui observé chez d'autres primates (Go et al., 2005). L'hypothèse a été avancée qu'une perte de pression sélective sur les gènes T2R dans l'évolution humaine pourrait résulter d'une diminution de la dépendance aux nutriments des plantes contenant des toxines, dont le goût est classiquement amer (Antinucci et Risso, 2017; Shi et Zhang, 2006). Par ailleurs, la sélection a également entraîné la modification de la spécificité des T2R à leurs ligands, à l'image de la famille T1R. Ceci peut être illustré avec l'exemple de *TAS2R38*, encodant un récepteur sensible au phénylthiocarbamide, molécule pouvant être perçue comme très amère ou sans goût selon les personnes. La sensibilité à cette molécule est parfaitement corrélée à celle à la L-5-vinyl-2-thio-oxazolidone, produite par les Brassicacées comme le chou et le brocoli. La capacité individuelle à percevoir le goût du phénylthiocarbamide ou celui de la L-5-vinyl-2-thio-oxazolidone varie du fait d'un polymorphisme des allèles de ce gène. La stabilité et la prévalence de ce polymorphisme en ont fait un exemple de sélection positive, où deux ou plusieurs formes du gène sont maintenues dans la population en raison de l'avantage qu'elles procurent (Roper et Chaudhari, 2017).

### 2.1.3. Récepteurs gustatifs à l'acide et au sel

Les stimuli acides activent les cellules de type III dites présynaptiques. Cependant, les canaux ou récepteurs sous-tendant cette sensation demeurent mal connus (Huang et al., 2006, 2008b). L'acidification du cytosol de la cellule présynaptique pourrait constituer un stimulus entraînant l'ouverture de canaux cationiques ou la fermeture de canaux potassiques sensibles aux protons tels que les canaux *Acid-Sensing Ion Channel 2* (ASIC2), *Potassium Channel K3* (KCNK3), *Polycystic kidney disease 2-like 1* (PKD2L1), ou encore *Otopetrin 1* (OTOP1), permettant la dépolarisation de la membrane (Desimone et al., 2012; Horio et al., 2011; Huang et al., 2008b; Lin et al., 2004; Lyall et al., 2001; Richter et al., 2004; Shimada et al., 2006; Tu et al., 2018). Les cellules et détecteurs sensibles aux stimuli salés sont encore méconnus. Cependant chez les rongeurs, les cellules gustatives de type I expriment les canaux sodiques épithéliaux (*Epithelial Sodium Channel*, ENaC), à la base de la détection du sel (Chandrashekar et al., 2010; Heck et al., 1984; Vandenbeuch et al., 2008). En effet, les animaux ayant subi un KO du gène ENaC ne présentent pas de réponse aux stimuli salés (Chandrashekar et al., 2010).

### 2.1.4. Transduction du signal gustatif

La transduction des stimuli sucrés, amers et umami est assurée par la sous-unité protéique  $G\alpha_{t3}$  (aussi connue sous le nom de gustducine ou *GNAT3*), spécifique du goût, ainsi que par les sous-unités  $G\beta_3$  et  $G\gamma_{13}$ . L'activation de ce trimère de protéines G entraîne l'activation de la phospholipase  $\beta 2$  (PLC $\beta 2$ ) qui clive le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP $_2$ ) en inositol triphosphate (IP $_3$ ) et diacylglycérol (DAG), à l'origine de la voie de signalisation IP $_3$ /DAG (Chaudhari et Roper, 2010; McLaughlin et al., 1992). L'augmentation de la concentration de calcium (Ca $^{2+}$ ) intracellulaire induite par cette voie entraîne l'ouverture des canaux TRPM5 (*Transient Receptor Potential M5*), permettant l'entrée d'ions sodium (Na $^+$ ) et la dépolarisation de la membrane de la cellule gustative (Liu et Liman, 2003). D'autre part, le Ca $^{2+}$  et la dépolarisation seraient à l'origine de l'ouverture d'hémicanaux membranaires pannexine 1,

**A****B**

**Figure 12. Récepteurs gustatifs et transduction gustative intracellulaire.**

A : Chez l'homme, les goûts sucrés et umami sont détectés par des récepteurs codés par 3 gènes de la famille des récepteurs gustatifs de type 1, RCPG de classe C. Les substances sucrées se lient à des dimères des récepteurs T1R2/T1R3. Les substances umami se lient au dimère T1R1/T1R3. Les stimuli amers activent les récepteurs gustatifs de type 2 (T2R) appartenant à la classe A de la famille des RCPG. La transduction intracellulaire des stimuli sucrés, amers et umami est assurée par la protéine  $G_{\alpha_{\text{gus}}}$  (notée G) spécifique du goût, ainsi que par les sous-unités  $G\beta$  et  $\gamma$  (Kobayashi et al., 2010).

B : La transduction gustative dépend de l'activation de la voie  $IP_3/DAG$  par l'intermédiaire de la phospholipase  $\beta 2$  ( $PLC\beta 2$ ), permettant la libération des stocks de calcium intracellulaire. Ceci entraîne l'ouverture des canaux  $TrpM5$ , permettant l'entrée d'ions  $Na^+$ , la dépolarisation de la membrane de la cellule gustative et la libération d'ATP via les canaux Pannexine 1 ( $Panx1$ ) (Chaudhari et Roper, 2010).

permettant la sortie de l'ATP et la stimulation des fibres sensorielles afférentes (Dando et Roper, 2009; Huang et Roper, 2010; Huang et al., 2007) (**Figure 12 B**).

## 2.2. Les récepteurs olfactifs

### 2.2.1. Généralités

Parmi les cinq sens, l'olfaction est parfois considérée comme le moins important chez l'homme, mais elle est essentielle à la survie de nombreux animaux. Les récepteurs olfactifs, découverts chez le rat par Linda Buck et Richard Axel en 1991, sont les premiers acteurs de la physiologie olfactive. Ils composent une très grande famille multigénique de RCPG dont l'expression a longtemps été considérée comme restreinte à l'épithélium olfactif (Buck et Axel, 1991). La publication de cet article fondateur, récompensé par un prix Nobel en 2004, a ouvert la voie à de nombreuses études sur la chimioréception, permettant l'identification dans les décennies suivantes de nombreux autres gènes codant pour des récepteurs chimiosensoriels.

Au sein de l'épithélium olfactif, l'expression des récepteurs olfactifs est monogénique, c'est-à-dire que chaque neurone exprime un seul type de récepteur olfactif, et différents neurones exprimant le même récepteur sont disséminés dans l'épithélium (Vassar et al., 1993). Ainsi, la gamme d'odorants pouvant être perçue par un individu dépend du patron d'expression des récepteurs olfactifs et de la structure protéique encodée par chacun de leurs gènes. Par ailleurs, les récepteurs olfactifs ont été décrits comme capables de s'homo-dimériser *in vitro*, ce qui pourrait favoriser le contrôle cellulaire de leur qualité, leur trafic jusqu'à la membrane cellulaire ou leur signalisation intracellulaire (Belloir et al., 2017; Wade et al., 2011).

### 2.2.2. Évolution phylogénétique

Au moment de leur découverte, Buck et Axel estiment à un millier le nombre de gènes codant pour les récepteurs olfactifs chez les mammifères, un nombre validé par les différents séquençages génomiques effectués au début des années 2000. Le génome des mammifères

comptant de 20 000 à 25 000 gènes, les membres de la famille des récepteurs olfactifs représenteraient donc 2% du génome et leurs protéines 4 à 5% du protéome.

D'un point de vue évolutif, le répertoire des gènes codant pour ces récepteurs a connu une grande diversification et expansion : 32 gènes codent pour des récepteurs olfactifs chez la lamproie, contre plus de 1000 chez la souris. Les récepteurs olfactifs ont la particularité de ne pas contenir d'introns dans leur partie codante (Buck et Axel, 1991; Nef et al., 1992). Selon les espèces, ce répertoire contient un nombre variable de pseudogènes (gènes ayant perdu leur fonctionnalité, leur transcription étant empêchée par la présence d'un codon stop dans leur séquence). Chez l'homme, le répertoire des récepteurs olfactifs est pseudogénisé à 51,8%. Son génome contient 396 gènes fonctionnels et 425 pseudogènes (Matsui et al., 2010). Au sein des génomes mammifères, les récepteurs olfactifs sont regroupés en clusters composés de familles différentes (Ben-Arie et al., 1994; Rouquier et al., 1998; Sullivan et al., 1996). Chez l'homme, ces clusters sont répartis sur tous les chromosomes, à l'exception des chromosomes 20 et Y. Le chromosome 11 abrite plus de 40% de la totalité des gènes codant pour ces récepteurs (Niimura et Nei, 2003).

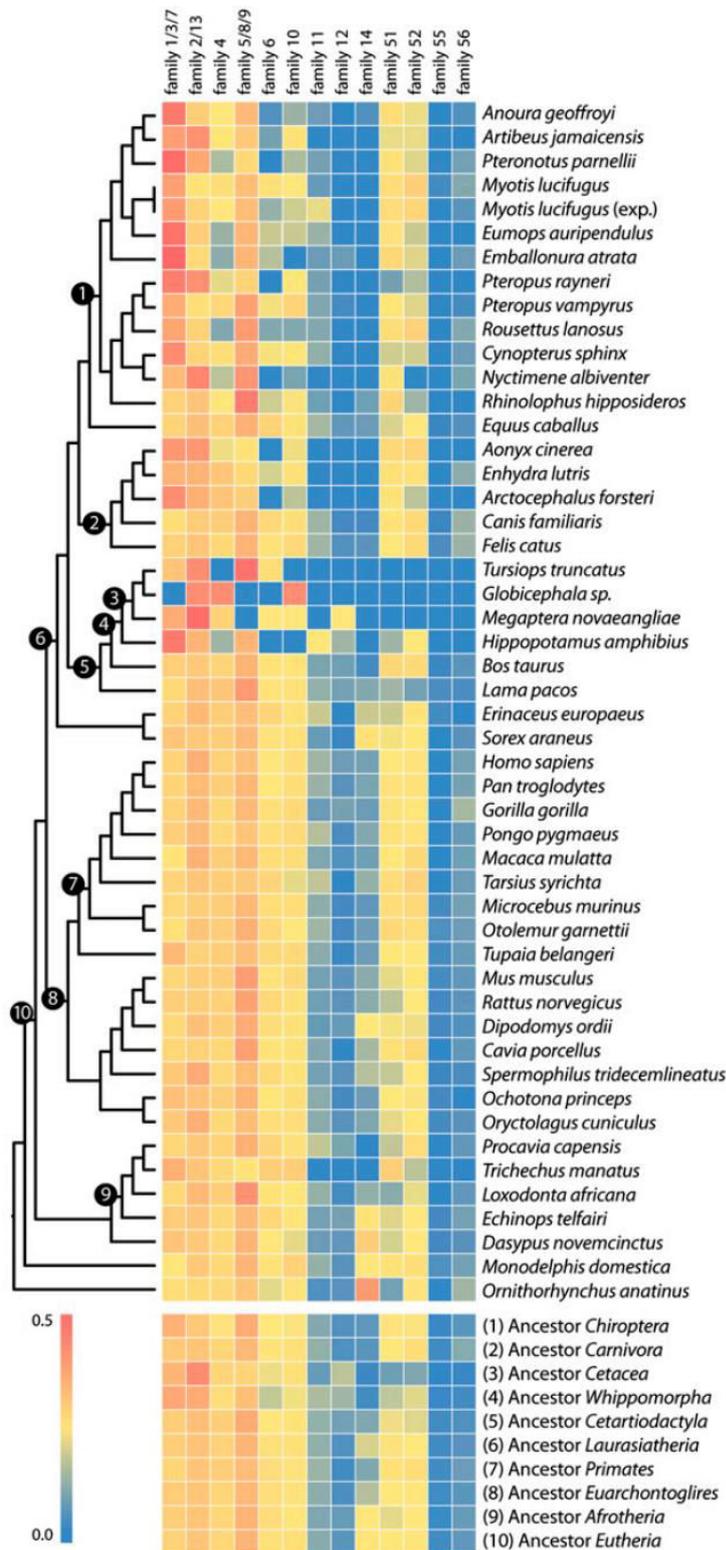
Des analyses phylogénétiques ont démontré que, chez les vertébrés, tous les gènes codant pour des récepteurs olfactifs appartiennent à neuf groupes dérivant de neuf gènes ancestraux communs. Huit de ces groupes existent encore chez les poissons actuels mais seulement deux (désignés groupes  $\alpha$  et  $\gamma$ ) chez les mammifères, chez lesquels le groupe  $\gamma$  s'est énormément diversifié pour contenir environ 90% de la totalité des récepteurs connus (Niimura et Nei, 2005). Ces deux groupes phylogénétiques correspondent aux deux classes de récepteurs mises en évidence chez la grenouille *Xenopus laevis* : (i) les récepteurs de classe I, dits «*fish-like*», correspondant au groupe  $\alpha$ , et (ii) les récepteurs de classe II, dits «*tetrapod-like*» ou «*mammalian-like*», correspondant au groupe  $\gamma$  (Freitag et al., 1995). La classe I est ainsi la plus ancienne et domine le répertoire des récepteurs olfactifs chez les poissons, ce qui amène à la déduction qu'elle est spécialisée dans la détection de composés odorants

solubles (Freitag et al., 1998). Chez les mammifères, la classe I est représentée par les familles numérotées 51, 52, 55 et 56. Sa fonction est énigmatique : chez ces espèces, pour l'essentiel terrestres, les récepteurs de classe I pourraient remplir d'autres fonctions que l'olfaction (Glusman et al., 2000; Hayden et al., 2010). Les récepteurs de classe II dominent le génome mammifère et sont donc considérés comme spécialisés dans la détection de composés odorants volatiles et insolubles présents dans l'air. Chez les mammifères, la classe II a été initialement décrite comme composée de 14 familles annotées de 1 à 14 (Glusman et al., 2000). Cependant, sur la base de similarités structurales ou d'affinités pour des ligands, des analyses phylogénétiques ont réduit ce nombre à 9 familles, dénommées (1, 3, 7), (2, 13), 4, (5, 8, 9), 6, 10, 11, 12, et 14 (Hayden et al., 2010). De façon intéressante, les récepteurs de classe II composent également la plus grande partie du répertoire des mammifères marins, suggérant que cette classe possède aussi un rôle important pour la survie dans un milieu aquatique (Hayden et al., 2010; Meredith et al., 2011) et qu'ils pourraient percevoir des composés non volatiles (**Figure 13**).

### 2.2.3. Structure protéique

Les récepteurs olfactifs appartiennent à la classe A, dite «*Rhodopsin-like*», de la superfamille des RCPG. Cette dernière inclut les récepteurs aux opsines pour la détection de la lumière, ainsi que les récepteurs aux neurotransmetteurs, aux hormones peptidiques, aux chimiokines, aux lipides et aux nucléotides (pour revue, Fredriksson et al., 2003).

En moyenne, les récepteurs olfactifs sont constitués de 310 acides aminés, et plusieurs motifs sont caractéristiques de cette famille. L'un des motifs conservés est le motif «MAY**DRY**VAIC», localisé à la jonction du 3<sup>ème</sup> domaine transmembranaire et de la boucle intracellulaire entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> domaine. La séquence d'acides aminés «DRY», hautement conservée parmi les RCPG de classe A, est probablement importante pour leur couplage aux protéines G, bien que le mécanisme précis d'activation de ces dernières demeure inconnu (Rovati et al., 2007). Au niveau du segment intracellulaire du 6<sup>ème</sup> domaine transmembranaire, qui s'incline vers



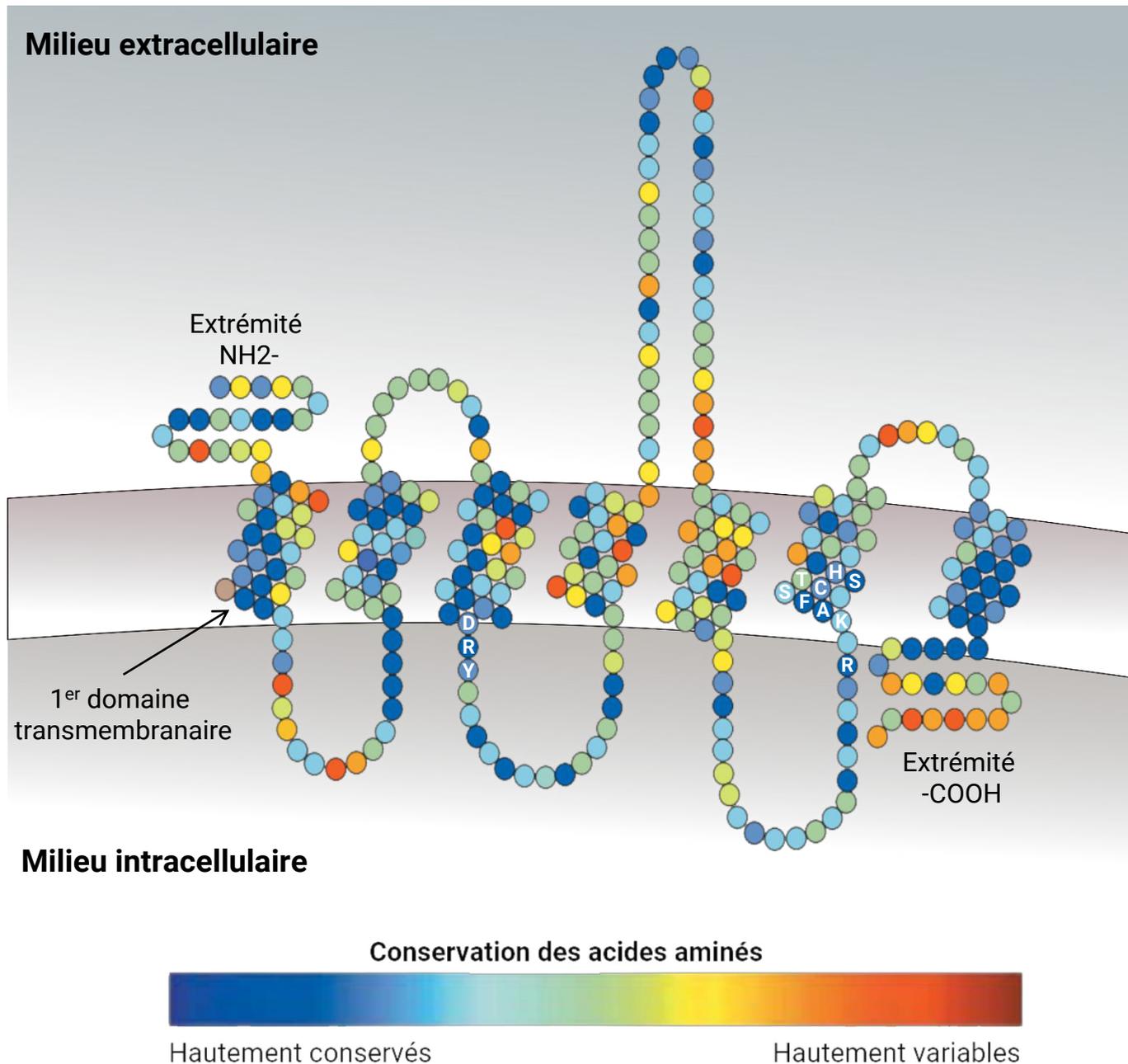
**Figure 13. Evolution phylogénétique des classes de récepteurs olfactifs de mammifères.**

D'un point de vue évolutif, le répertoire des gènes codant pour les récepteurs olfactifs a connu une grande diversification et expansion : plus de 1000 gènes codent ces récepteurs chez la souris et 396 chez l'homme. Des analyses phylogénétiques ont démontré que, chez les vertébrés, tous ces gènes appartiennent à neuf groupes dérivant de neuf gènes ancestraux communs. Seuls deux de ces groupes sont conservés chez les mammifères : la classe I est représentée par les familles numérotées 51, 52, 55 et 56 et la classe II a été décrite comme composée de neuf familles dénommées (1, 3, 7), (2, 13), 4, (5, 8, 9), 6, 10, 11, 12 et 14 (Hayden et al., 2010).

l'extérieur suite à la liaison du ligand, un motif «RxKAFSTCxSH» est hautement conservé parmi les récepteurs de mammifères, suggérant un rôle pour ce motif dans le contrôle de l'activation du récepteur (de March et al., 2018) (**Figure 14**). Par ailleurs, 22 positions d'acides aminés, réparties entre les domaines transmembranaires 3 et 6, sont supposées former la «poche» de liaison du ligand du fait de leur haute conservation entre récepteurs orthologues, mais haute variabilité entre paralogues (Man et al., 2004). Comme décrit précédemment, la perception des odeurs passe par un codage combinatoire où un récepteur olfactif peut reconnaître plusieurs odorants et, réciproquement, un odorant peut activer plusieurs récepteurs olfactifs (Malnic et al., 1999). Ainsi, il existe un nombre virtuellement infini d'odorants et donc de leurs sites de liaison sur les récepteurs. Par conséquent, la modélisation moléculaire offre l'occasion unique d'obtenir des détails au niveau atomique de ces récepteurs. Grâce aux progrès récents dans ce domaine, la simulation moléculaire des récepteurs olfactifs devient de plus en plus utilisée et a permis l'identification des résidus impliqués dans la liaison de l'odorant à son récepteur (Guo et al., 2015; Launay et al., 2012; de March et Golebiowski, 2014; de March et al., 2015).

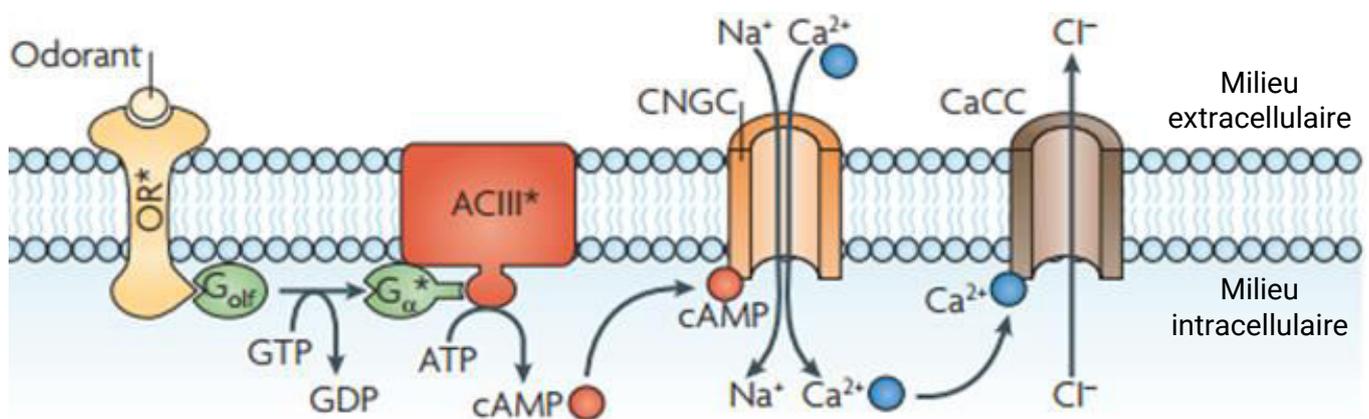
#### 2.2.4. Transduction olfactive canonique

L'olfaction débute quand, après son entrée dans la cavité nasale et sa solubilisation dans le mucus, la molécule odorante se lie à un récepteur présent à la surface des cils dendritiques des neurones (Niimura, 2012). L'activation de ce récepteur va transformer le signal extracellulaire, représenté par la molécule odorante, en signal intracellulaire par l'intermédiaire de la protéine hétérotrimérique  $G\alpha_{olf}$  (protéine G $\alpha$  spécifique de l'olfaction, aussi connue sous le nom de *GNAL*), à activité guanosine triphosphatase (GTPase) (Belluscio et al., 1998; Chan et al., 2011; Jones et Reed, 1989). Dans son état basal, la protéine G est un hétérotrimère composé de trois sous-unités protéiques  $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ . Sa conformation change au moment de la liaison du ligand au RCPG et se traduit par la dissociation de guanosine diphosphate (GDP) de la sous-unité  $\alpha$ , qui se réassocie avec le guanosine triphosphate (GTP). La protéine G est inactivée quand le GTP est hydrolysé en GDP. Ce processus peut être accéléré par un



**Figure 14. Structure protéique des récepteurs olfactifs.**

Les récepteurs olfactifs appartiennent à la classe A, dite «*Rhodopsin-like*», de la superfamille des RCPG à 7 domaines transmembranaires. L'extrémité -NH<sub>2</sub> est extracellulaire et l'extrémité -COOH intracellulaire. En moyenne, les récepteurs olfactifs sont constitués de 310 acides aminés, dont la conservation est variable. Certains sont hautement conservés et forment des motifs caractéristiques. L'un d'eux est le motif «DRY», localisé à la jonction du 3<sup>ème</sup> domaine transmembranaire et de la boucle intracellulaire entre le 3<sup>ème</sup> et le 4<sup>ème</sup> domaine, probablement important pour le couplage des récepteurs olfactifs aux protéines G. Au niveau du segment intracellulaire du 6<sup>ème</sup> domaine, qui s'incline vers l'extérieur suite à la liaison du ligand, un motif «RxKAFSTCxSH» est hautement conservé parmi les récepteurs de mammifères, suggérant son rôle dans le contrôle de l'activation du récepteur. Par ailleurs, 22 positions d'acides aminés, réparties entre les domaines 3 et 6, sont supposées former la poche de liaison du ligand, du fait de leur haute conservation entre récepteurs orthologues et de leur haute variabilité entre paralogues (adapté de Mombaerts, 2004).



**Figure 15. Transduction intracellulaire olfactive canonique.**

La liaison d'un odorant sur son récepteur olfactif (OR) active successivement la protéine G trimérique  $G_{olf}$  spécifique de l'olfaction (ici  $G_{olf}$ ), l'adénylate cyclase III (ACIII), le canal sensible aux nucléotides cycliques (CNGC) composé d'une sous-unité B1b, une A4 et deux A2 et un canal chlorure sensible au calcium (CaCC). L'activation des deux types de canaux conduit finalement à la dépolarisation de la membrane et à la transduction du signal odorant chimique en signal électrique, transmis au système nerveux central (Kaupp, 2010).

régulateur de l'activité des protéines G, la famille RGS (*Regulator of G protein Signaling*), à l'image de RGS-3, spécifiquement exprimée dans les neurones sensoriels de *Caenorhabditis elegans* (Ferkey et al., 2007; Norlin et Berghard, 2001). En revanche, la signalisation des protéines G peut également être augmentée par les facteurs d'échange des nucléotides guanine (*Guanosine nucleotide Exchange Factors*, GEFs), qui catalysent la dissociation du GDP ; la protéine Ric8b, une GEF, est exprimée dans les neurones olfactifs (Chan et al., 2011; Kerr et al., 2008). La principale cible de la forme activée de  $G_{\alpha_{olf}}$  est l'adénylate cyclase III (AC3 ou *ADCY3*), qui convertit l'ATP en adénosine cyclique monophosphate (AMPC) (Bakalyar et Reed, 1990; Chen et al., 2012). L'activation de l'AC3 augmente la concentration intracellulaire d'AMPC dans les cils olfactifs, engendrant l'ouverture de canaux sensibles aux nucléotides cycliques (*Cyclic Nucleotide-Gated channels*, CNG, composés des sous-unités A2, A4 et B1b). Ceci entraîne une augmentation de la concentration de divers cations intracellulaires, dont les ions calciques  $Ca^{2+}$ , et aboutit à la dépolarisation de la membrane du neurone (Kleene, 2008; Nakamura et Gold, 1987). En outre, la hausse de concentration des ions  $Ca^{2+}$  active les canaux chlorure sensibles au calcium qui promeuvent l'efflux d'anions chlorure  $Cl^-$  vers le milieu extracellulaire, ce qui amplifie la dépolarisation initiée par l'ouverture des canaux CNG et donne naissance à un potentiel d'action qui sera transmis le long de l'axone du neurone (Kleene, 1997; Stephan et al., 2009) (**Figure 15**).

#### 2.2.5. Transduction olfactive non-canonique

La voie canonique  $G_{\alpha_{olf}}$ /AC3 n'est pas la seule impliquée dans la transduction olfactive. La voie de signalisation dépendant de la protéine  $G_{\alpha_q}$  active la PLC $\beta$ 2 à l'origine de la voie IP $_3$ /DAG abordée précédemment et décrite comme une cascade de signalisation alternative dans les neurones (Ache, 2010; Restrepo et al., 1990; Spehr et al., 2002; Weber et al., 2017). En effet, la plupart des neurones expriment à la fois l'AC3 et la PLC $\beta$ 2, requises pour les cascades de signalisation liées à l'AMPC et à l'IP $_3$ /DAG, respectivement (Noé et Breer, 1998). Par ailleurs 5% des neurones de l'épithélium olfactif expriment uniquement la PLC $\beta$ 2 (Elsaesser et al.,

2005). Nonobstant, le blocage de cette voie IP<sub>3</sub>/DAG augmente le signal de transduction olfactive, ce qui suggère que cette voie module la voie de l'AMPC dans les neurones (Spehr et al., 2002).

Les récepteurs olfactifs peuvent également s'associer à d'autres protéines G, puisqu'il a été montré *in vitro* qu'ils se couplent indifféremment aux protéines G<sub>α<sub>olf</sub></sub>, G<sub>α<sub>s</sub></sub>, et G<sub>α<sub>15/16</sub></sub> (Kajiya et al., 2001). Récemment, une autre voie alternative de transduction olfactive a été démontrée chez la souris, coexistant avec les voies décrites précédemment, et activée sélectivement par l'intermédiaire du récepteur Olfr73 par les cétones de framboise. Cette voie repose sur l'activation de la protéine G<sub>α<sub>o</sub></sub>, n'interagit pas avec la voie de l'AMPC et entraîne l'efflux d'ions Cl<sup>-</sup> menant à la dépolarisation du neurone sans activation de l'AC3 (Scholz et al., 2016).

### 2.3. Les récepteurs aux phéromones

Chez la souris, 585 RCPG retrouvés dans l'organe voméronasal sont pour la plupart absents de l'épithélium olfactif (Ibarra-Soria et al., 2014). À l'inverse des neurones du neuroépithélium olfactif, les neurones de l'organe voméronasal sont capables d'exprimer de façon multigénique les récepteurs voméronasaux de type 1 et 2, ainsi que les récepteurs aux peptides formylés (Ishii et Mombaerts, 2011; Silvotti et al., 2011).

#### 2.3.1. Récepteurs voméronasaux de type 1

Les récepteurs voméronasaux de type 1 (V1R chez l'homme, V1r chez la souris) font partie de la superfamille de RCPG de classe A et, à l'image des récepteurs olfactifs, ne possèdent pas d'introns. Les V1R, localisés dans le compartiment apical de l'organe voméronasal, constituent la première famille identifiée chez le rat comme répondant aux phéromones (Dulac et Axel, 1995).

#### 2.3.1.1. Evolution phylogénétique

Cette famille était déjà présente chez les vertébrés inférieurs et s'est étendue chez les mammifères à partir d'un petit nombre de gènes ancestraux (Young et al., 2010). Des comparaisons du répertoire V1R complet de différentes espèces, incluant la souris, le rat, le chien et l'humain, indiquent que la taille et la composition de leurs répertoires V1R dépendent de l'espèce étudiée (Rodriguez et Mombaerts, 2002). Au sein de cette classe, le génome d'animaux possédant un organe voméronasal organisé comporte un grand nombre de V1R : par exemple, il en existe 239 chez la souris (Grus et al., 2007). Comme les récepteurs olfactifs, ils possèdent une expression monogénique : un neurone voméronasal exprime un seul type de V1R (Del Punta et al., 2000; Rodriguez et al., 2002). Cependant, cette famille est absente ou largement pseudogénisée chez les primates et les humains, lesquels possèdent un organe voméronasal vestigial et probablement non fonctionnel (Young et al., 2010). Le répertoire V1R humain, bien qu'étendu, est en effet presque entièrement pseudogénisé, comportant 200 pseudogènes pour seulement 5 gènes fonctionnels, dont certains seraient exprimés dans la muqueuse olfactive (Rodriguez et Mombaerts, 2002).

#### 2.3.1.2. Structure, réceptivité et fonction

Les V1R possèdent un court domaine N-terminal extracellulaire, et la région située entre le 2<sup>ème</sup> domaine transmembranaire et les boucles extracellulaires I et II est le site supposé de liaison des phéromones à ces RCPG car elle montre un haut degré de variabilité entre les V1R d'espèces différentes (Rodriguez, 2004). La signalisation intracellulaire dépendant des récepteurs V1R est basée sur leur couplage à la protéine  $G_{\alpha_{i2}}$ , qui augmente la concentration intracellulaire de  $Ca^{2+}$  via différents sous-types de phospholipases C activant un récepteur-canal dépendant du potentiel TRPC2, sensible au DAG et spécifique des récepteurs voméronasaux (Lucas et al., 2003; Zufall et al., 2005). Chez la souris, cette famille montre une haute sensibilité à des petites phéromones organiques volatiles présentes dans l'urine de congénères et aux stéroïdes sulfatés (Boschat et al., 2002; Isogai et al., 2011) (**Figure 16**). En

effet, la délétion des gènes V1r chez la souris entraîne une absence de réponse aux signaux phéromonaux et des altérations de leurs comportements sociaux. Ceci établit donc clairement les V1R comme récepteurs phéromonaux (Del Punta et al., 2002).

### 2.3.2. Récepteurs voméronasaux de type 2

Les récepteurs voméronasaux de type 2 (V2R chez l'homme, V2r chez la souris) sont des RCPG de classe C exprimés au niveau du compartiment basal de l'organe voméronasal (Dulac et Torello, 2003; Mombaerts, 2004; Tirindelli et al., 1998).

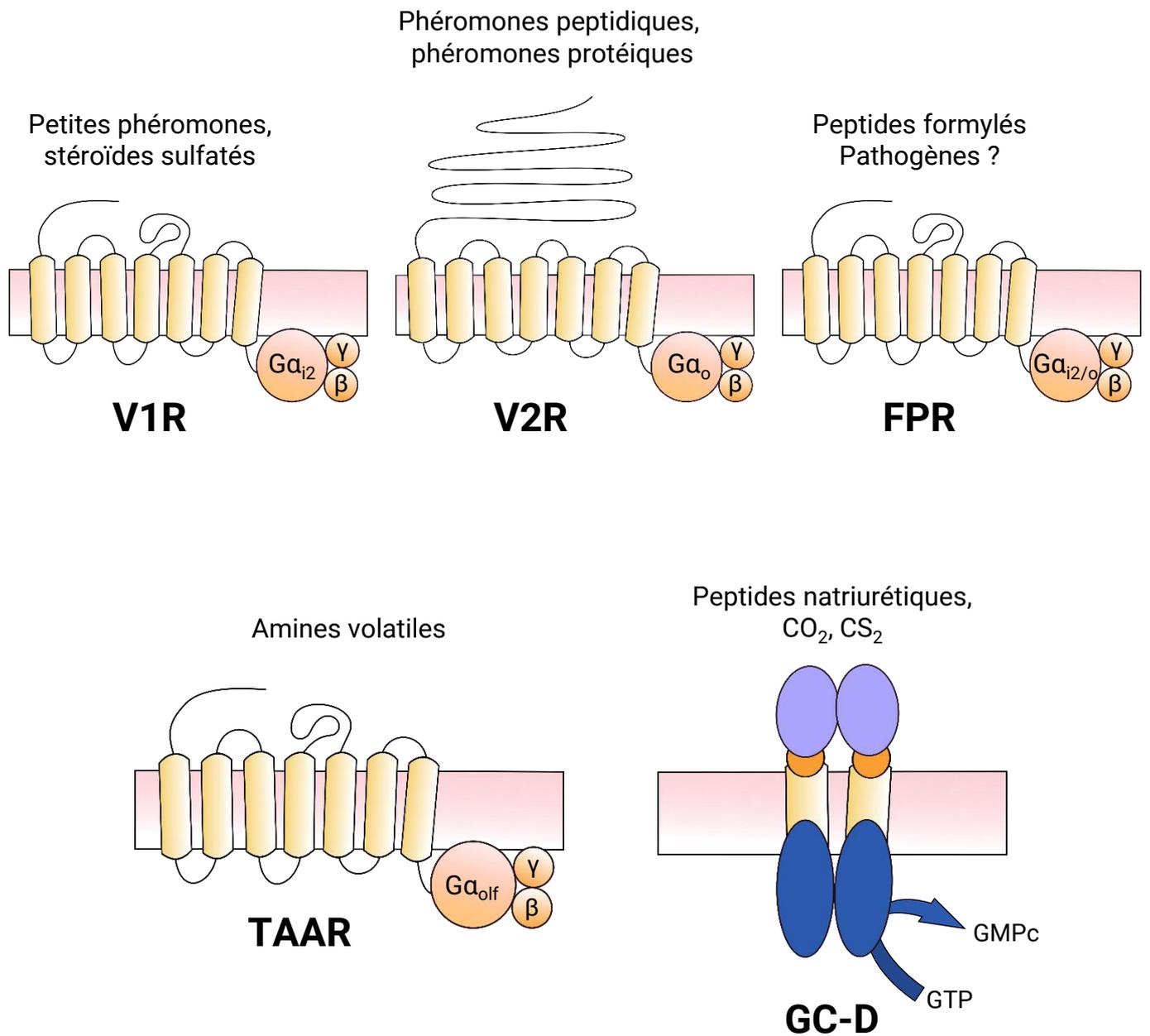
#### 2.3.2.1. Evolution phylogénétique

Les poissons et les grenouilles possèdent le plus large répertoire de gènes V2R, qui sont absents chez certaines autres espèces comme le chien, la vache et les primates (Dong et al., 2012; Young et Trask, 2007). Quelques gènes intacts sont retrouvés chez les prosimiens mais le répertoire humain est entièrement pseudogénisé (Hohenbrink et al., 2013; Martini et al., 2001). Les V2R mammifères sont classés en 5 familles de A à E. Les récepteurs de famille A représentent la majorité du répertoire (95% chez la souris) chez toutes les espèces et présentent une forte spécificité de lignée, signifiant que des orthologues ne peuvent être trouvés qu'entre deux espèces proches (Silvotti et al., 2007). Dans l'organe voméronasal, les V2R sont exprimés de façon monogénique mais quelques neurones basaux exhibent une expression multigénique de V2R de familles ABDE avec des V2R de famille C, ce qui démontre une exception à la règle un récepteur/un neurone (Belluscio et al., 1999; Bozza et al., 2002; Martini et al., 2001). De plus, les neurones V2R positifs co-expriment des gènes *H2-Mv*, qui appartiennent à une famille de 9 gènes non classiques du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. La fonction de la co-expression de ces gènes à ce niveau n'est pour l'instant pas élucidée mais pourrait jouer un rôle dans la sensibilisation des neurones voméronasaux à certains composés (Ishii et al., 2003; Leinders-Zufall et al., 2014; Loconto et al., 2003).

### 2.3.2.2. Structure, ligands et fonction

Les V2R sont caractérisés par leur longue extrémité N-terminale responsable de la liaison du ligand (Tirindelli et al., 1998). Leur mécanisme de signalisation intracellulaire dépend de la protéine  $G\alpha_o$  et du canal TRPC2 mais le reste des seconds messagers est mal connu (Liman et al., 1999) (**Figure 16**).

Les V2R répondent à différentes familles de phéromones non-volatiles protéiques et peptidiques qui requièrent un contact physique entre le nez et la source du stimulus (Chamero et al., 2007; Kimoto et al., 2005; Leinders-Zufall et al., 2004, 2014). Des peptides dérivés du CMH de classe I activent ces récepteurs. Par conséquent, leur détection pourrait potentiellement servir de mécanisme de reconnaissance génétique auto-référent par lequel les individus comparent leur propre type de CMH avec celui de leurs congénères (Villinger et Waldman, 2008). En effet, des études comportementales menées chez des souris femelles gestantes ont montré que la détection de peptides dérivés du CMH émis par des mâles d'une lignée différente du mâle fécondant entraîne un avortement spontané (effet Bruce). Cet effet chimiosensoriel des peptides dérivés du CMH I, transmis par les neurones voméronasaux, pourrait ainsi servir à convertir ces peptides en une information olfactive renseignant sur la qualité génotypique du CMH (Leinders-Zufall et al., 2004). Les neurones V2R positifs répondent aussi au peptide ESP1 (*Exocrine gland-Secreting Peptide 1*) sécrété par la glande lacrymale extra-orbitale, qui servirait à transmettre des informations spécifiques à l'espèce (Kimoto et al., 2007). Enfin, les V2R sont capables de détecter les protéines urinaires majeures (*Major Urinary Protein*, MUP), qui semblent être impliquées dans des phénomènes tels que la reconnaissance d'identité, l'induction de l'ovulation ou bien l'agression entre mâles (Chamero et al., 2007; Cheetham et al., 2007; Morè, 2006). Par exemple, les sécrétions vaginales de hamsters femelles contiennent de l'aphrodisine, une lipocaline induisant un comportement reproducteur chez les mâles (Briand et al., 2004).



**Figure 16. Structure et partenaires de signalisation intracellulaire des récepteurs phéromonaux.**

Les récepteurs voméronasaux V1R sont des RCPG de classe A répondant à des petites phéromones et des stéroïdes sulfatés. Ils sont associés à la protéine  $G\alpha_{i2}$ , qui augmente la concentration de calcium intracellulaire et active le canal TRPC2 dépendant du potentiel. Les récepteurs V2R sont des RCPG de classe C répondant à différentes familles de phéromones peptidiques et protéiques. Ils sont associés à la protéine  $G\alpha_o$  et, comme les V1R, au canal TRPC2. Les récepteurs aux peptides formylés FPR sont des RCPG de classe A couplés à différentes protéines  $G\alpha_{i2}$  au niveau des neurones apicaux de l'organe voméronasal et  $G\alpha_o$  au niveau des neurones basaux. Les TAAR appartiennent à la classe A des RCPG. Ils sont associés, comme les récepteurs olfactifs, à la protéine  $G\alpha_{olf}$ . Les récepteurs GC-D sont composés d'un domaine extracellulaire accepteur, un domaine intracellulaire régulateur et un domaine intracellulaire catalytique générant du GMPC, dont l'effet final est l'ouverture d'un canal CNG non canonique (CNGA3) et la dépolarisation du neurone.

### 2.3.3. Récepteurs aux peptides formylés

Les récepteurs aux peptides formylés (*Formyl Peptide Receptors*, FPR chez l'homme et Fpr chez la souris) sont des RCPG de classe A, exprimés dans des tissus et lignées cellulaires impliqués dans la réponse immunitaire, tels que les lymphocytes, les macrophages et la microglie de la plupart des mammifères (Le et al., 2002; Migeotte et al., 2006). Chez la souris, une sous-classe de Fpr est exprimée spécifiquement dans l'organe voméronasal (Liberles et al., 2009; Rivière et al., 2009). La famille des FPR comporte trois membres : *FPR1*, *FPR2* (ou *FPRL1*) et *FPR3* (ou *FPRL2*) (Yang et Shi, 2010).

#### 2.3.3.1. Évolution phylogénétique

*FPR1* est phylogénétiquement le membre le plus ancien et ses orthologues sont exprimés chez de nombreuses espèces de mammifères indépendamment du développement d'un organe voméronasal fonctionnel. *FPR2* est phylogénétiquement plus récent et représente une branche spécifique des rongeurs représentée par sept gènes (*Fpr-rs1*, *-rs2*, *-rs3*, *-rs4*, *-rs5*, *-rs6* et *-rs7*). *FPR3* serait issu d'une duplication du gène *FPR1* et est présent chez les primates avec une homologie de 85 à 99% entre espèces (Francia et al., 2014).

#### 2.3.3.2. Structure, localisation, ligands et fonction

Les FPR reconnaissent au niveau de leur extrémité N-terminale des peptides comportant un groupe formylé (Bufe et al., 2012; Rivière et al., 2009). Chez l'homme, les FPR sont exprimés au niveau des astrocytes, des cellules endothéliales et épithéliales, des fibroblastes, des hépatocytes, des cellules dendritiques, de la microglie, des monocytes, des macrophages, des neutrophiles, des cellules des muscles lisses et des lymphocytes B et T (Migeotte et al., 2006). Le rôle fonctionnel des FPR hors et au sein de l'organe voméronasal n'est pas encore clair, bien qu'un nombre important d'agonistes et d'antagonistes de ces récepteurs ait été identifié (Seifert et Wenzel-Seifert, 2003; Thorén et al., 2010). Les protéines Fpr-rs3, -rs4, -rs6 et -rs7 sont retrouvées au niveau des neurones apicaux de l'organe voméronasal où elles sont

couplées à la protéine  $G\alpha_{i2}$ , faisant ainsi intervenir une cascade de signalisation  $IP_3/DAG$ -dépendante (Francia et al., 2014). En revanche, le récepteur Fpr-rs1 est retrouvé au niveau des neurones basaux, où il est couplé à  $G\alpha_o$  (Liberles et al., 2009) (**Figure 16**). Au niveau des cellules immunitaires, les FPR auraient un rôle de stimulation de la chimiotaxie vers les sites d'infection ou de lésion par reconnaissance des peptides formylés émis par les bactéries ou les mitochondries (Migeotte et al., 2006). Au sein de l'organe voméronasal, les FPR pourraient détecter les composés synthétisés par la flore bactérienne excrétés par des animaux de même espèce ou d'espèces différentes, permettant leur identification individuelle (Rivière et al., 2009).

#### 2.4. Autres chimiorécepteurs de l'épithélium olfactif principal

Au sein de l'épithélium, d'autres récepteurs chimiosensoriels coexistent aux côtés des récepteurs olfactifs : les récepteurs associés aux amines traces. En outre, de rares neurones utilisent une voie non canonique médiée par le récepteur guanylate cyclase-D (Juilfs et al., 1997). Des substances dérivées de l'urine activent un petit pourcentage de neurones exprimant des récepteurs olfactifs, des récepteurs associés aux amines traces et des GC-D (Ferrero et al., 2011; Leinders-Zufall et al., 2007; Li et al., 2013a; Liberles et Buck, 2006; Yoshikawa et al., 2013).

##### 2.4.1. Récepteurs associés aux amines traces

Les récepteurs aux amines traces (*trace amine-associated receptors*, TAAR chez l'homme et Taar chez la souris), découverts en 2001, forment une petite famille de RCPG de classe A apparentée aux récepteurs des amines biogènes et ayant évolué distinctement des récepteurs olfactifs (Borowsky et al., 2001).

#### 2.4.1.1. Evolution phylogénétique

Les gènes codant pour les TAAR sont situés, chez l'homme, au sein d'un seul cluster sur le chromosome 6 (Borowsky et al., 2001). Cette famille est réduite chez les mammifères : 15 membres chez la souris et 6 chez l'homme (Grus et Zhang, 2008; Nei et al., 2008). En revanche, leur répertoire est beaucoup plus étendu chez les espèces aquatiques : par exemple, les saumons possèdent 27 TAAR et les poissons zèbres 112 (Hussain et al., 2009; Tessarolo et al., 2014). Les TAAR ancestraux étaient probablement des détecteurs d'amines, mais au fur et à mesure, la famille s'est agrandie et a muté. Certains TAAR semblent avoir acquis la capacité de reconnaître de nouvelles odeurs, procurant ainsi un avantage évolutif. En effet, la plupart des TAAR des poissons zèbres ont perdu les motifs de reconnaissance des monoamines pour répondre aux diamines telles que la cadavérine, qui résulte de la putréfaction et entraîne un comportement d'évitement chez ces animaux (Hussain et al., 2013).

#### 2.4.1.2. Structure, ligands et fonction

Les TAAR possèdent toutes les caractéristiques structurales de RCPG de classe A, avec des courts domaines N- et C-terminaux, mais ils présentent un motif peptidique caractéristique «NSxxNPx[Y/H]xxx[Y/F]xWF» au niveau de leur 7<sup>ème</sup> domaine transmembranaire (Lindemann et al., 2005). Chez les mammifères, tous les membres de cette famille (à l'exception de TAAR1) ont une fonction de récepteur olfactif dans environ 0.1% des neurones situés au niveau d'une zone réduite de l'épithélium (Christian et Berry, 2018; Liberles et Buck, 2006). On retrouve également une expression néonatale des TAAR au niveau du ganglion de Grüneberg (Fleischer et al., 2007). TAAR1, associé à la protéine G $\alpha_s$ , est exprimé dans le cerveau où il exerce une fonction de régulation de l'excitabilité neuronale et de libération de neurotransmetteurs (Borowsky et al., 2001; Lindemann et Hoener, 2005; Lindemann et al., 2008; Wolinsky et al., 2007). Les autres membres de la famille détectent des amines volatiles, dont certaines sont

des substances organiques urinaires évoquant des réponses comportementales chez les rongeurs. Ils sont associés à la protéine  $G\alpha_{olf}$  (Ferrero et al., 2011, 2012; Li et al., 2013a; Liberles et Buck, 2006) (**Figure 16**).

#### 2.4.2. Récepteurs guanylate-cyclase D

Moins de 0.1% des neurones expriment le récepteur guanylate-cyclase D (GC-D, ou Gucy2d) associé à la membrane, qui possède trois domaines fonctionnels : un domaine extracellulaire récepteur, un domaine intracellulaire régulateur et un domaine intracellulaire catalytique générant le GMP cyclique (Gibson et Garbers, 2000). Ce dernier entraîne l'activation de la phosphodiesterase 2 ainsi que l'ouverture d'une sous-unité non canonique des canaux CNG, la sous-unité CNGA3, qui mène à la dépolarisation du neurone et à la génération de potentiels d'action (Juilfs et al., 1997; Meyer et al., 2000). Ces récepteurs répondent à divers stimuli, comprenant les peptides natriurétiques uroguanyline et guanyline, des composés présents dans l'urine, ainsi que le  $CO_2$  environnemental (Forte, 2004; Hu et al., 2007; Leinders-Zufall et al., 2007). Ce dernier passe au travers de la membrane et réagit avec l'anhydrase carbonique intracellulaire pour former du bicarbonate, ce qui active de façon intracellulaire le récepteur GC-D et mène à la dépolarisation du neurone (Sun et al., 2009). Enfin, les neurones exprimant le GC-D détectent également le disulfure de carbone, gaz volatil substrat de l'anhydrase carbonique, qui a été impliqué dans les préférences alimentaires transmises socialement (Munger et al., 2010) (**Figure 16**).

#### 2.5. Conclusion

Comme nous l'avons vu dans les premières parties de ce manuscrit, les sensations gustatives et olfactives sont permises par l'organisation et la structure de tissus et organes sensoriels hautement spécialisés et renfermant des récepteurs chimiosensoriels. Ces chimiorécepteurs gustatifs, olfactifs et phéromonaux appartiennent tous – sauf les récepteurs GC-D – à diverses

classes de la superfamille des RCPG. Ils représentent le résultat d'adaptations et de raffinements évolutifs permettant la survie et le développement de leur hôte dans une niche écologique.

Cependant, la perception des goûts, odeurs et phéromones n'est pas la seule fonction des chimiorécepteurs rhino-laryngés. Ces derniers, comme nous nous apprêtons à le voir, sont retrouvés en dehors de la sphère bucco-nasale, c'est-à-dire au niveau de tissus et organes non-impliqués dans les perceptions gustative, olfactive et phéromonale. Tous ces récepteurs sont en effet capables d'être la source de réponses cellulaires complexes et sont impliqués dans divers processus physiologiques comme pathologiques.

### **3. Les chimiorécepteurs rhino-laryngés «ectopiques»**

La découverte des récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs, décrits précédemment et responsables des perceptions du goût, des phéromones et des odeurs, a révolutionné la notion de perception sensorielle dès le début des années 1990 (Adler et al., 2000; Buck et Axel, 1991; Dulac et Axel, 1995; Nelson et al., 2001). À ce moment, ces chimiorécepteurs ont été considérés comme exclusivement exprimés dans les organes sensoriels faciaux (sphère rhino-laryngée) et dédiés à la chimioperception environnementale. Cependant, ce dogme a été contrarié dès 1992 quand une étude a démontré que les récepteurs olfactifs sont exprimés au niveau des gonades mâles (Parmentier et al., 1992).

Depuis, un grand nombre de travaux rapportent régulièrement l'expression de récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs dans un grand nombre de tissus et organes sans rapport avec la perception sensorielle. Toutefois, cette expression demeure relativement faible en comparaison de celle mesurée au sein des *epithelia* buccal et olfactif (Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013; Kanageswaran et al., 2015; Zhang et al., 2007). La présence de ces différents récepteurs en dehors des organes sensoriels habituels est qualifiée d'«ectopique», signifiant

qu'ils ne sont pas localisés à une place canonique dans les sphères buccale et nasale. Il convient toutefois d'utiliser ce terme avec précaution.

Dans le cas des récepteurs olfactifs, certains chercheurs ont proposé l'hypothèse que l'expression «ectopique» est due à une «fuite» de la transcription des gènes de ces récepteurs suite à la mutation de leur région promotrice dans les tissus non-chimiosensoriels (Feldmesser et al., 2006). Cette hypothèse est toutefois peu probable étant donné que, d'une part, seule une fraction (environ 75%) du répertoire des récepteurs olfactifs est exprimée dans l'épithélium olfactif et d'autre part, il est démontré que certains récepteurs olfactifs «ectopiques» sont fonctionnels (Zhang et al., 2007). De plus, entre différentes espèces, des gènes de récepteurs orthologues sont exprimés dans les mêmes tissus, indiquant la conservation potentielle de leurs fonctions (De la Cruz et al., 2009).

Un grand nombre de récepteurs olfactifs sont cependant encore orphelins, c'est-à-dire sans agoniste identifié, ce qui empêche de déterminer les effets de leur activation et donc leur fonction cellulaire. Néanmoins certains RCPG, comme le récepteur à la sérotonine 5HT<sub>4</sub> (*5-Hydroxytryptamine receptor 4*) ou encore le récepteur GPR3 (*G-Protein coupled Receptor 3*), possèdent une activité intrinsèque par interaction physique avec des enzymes, ne nécessitant donc pas d'être activés par leur ligand (Cochet et al., 2013; Thathiah et De Strooper, 2009; Thathiah et al., 2009). Il est donc possible que les récepteurs gustatifs, olfactifs et phéromonaux «ectopiques» possèdent une activité sans avoir besoin d'être activés.

Cette partie s'attachera donc à décrire l'expression de ces différents chimiorécepteurs rhino-laryngés «ectopiques» au niveau des tissus et organes (chimiosensoriels ou non) où ils ont été identifiés.

### 3.1. Récepteurs gustatifs

La famille des récepteurs gustatifs de type 1 est composée de 3 membres : TAS1R1, TAS1R2 et TAS1R3 qui sont tous les trois présents en dehors de la face. Les sous-unités des T1R peuvent être exprimées isolément ou sous forme de dimères dans de nombreux organes de l'organisme. De même, la famille des récepteurs gustatifs de type 2 (T2R), composée chez l'homme de 25 membres, a été localisée dans de nombreux tissus et organes non-gustatifs détaillés ci-après.

#### 3.1.1. Organes reproducteurs et système uro-génital

Chez la souris, les ARNm *Tas1r3* et *Gnat3* (dénomination génétique de la gustducine) sont exprimés dans les spermatides haploïdes et *Tas1r2* et *Tas1r3* sont retrouvés au niveau des spermatozoïdes matures stockés dans l'épididyme (Mosinger et al., 2013). La protéine GNAT3 a été retrouvée au niveau des spermatides en différenciation et au niveau de l'axonème des flagelles des spermatozoïdes chez le rat, le taureau et l'homme (Fehr et al., 2007). Enfin, les protéines formant le dimère T1R1/T1R3 sont présentes au niveau de segments flagellaires et du capuchon acrosomique des spermatozoïdes chez l'homme et la souris (Meyer et al., 2012). Le récepteur T2R5 ainsi que des membres de la cascade de transduction canonique du goût ( $G\alpha_{t3}$ , PLC $\beta$ 2) ont été identifiés à différents stades de la spermatogenèse (Li et Zhou, 2012; Lu et al., 2017). De plus, les composés amers induisent une augmentation de la concentration de calcium intracellulaire dans les spermatides, qui présentent des profils d'activation par des ligands différents, ce qui indique que chacun exprime un sous-ensemble unique de T2R (Xu et al., 2013). Chez l'homme, une étude transcriptomique a permis la mise en évidence de l'expression de transcrits des familles T1R et T2R à différents niveaux. Douze récepteurs gustatifs (*TAS1R1*, *TAS1R3*, *TAS2R1*, *TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R14*, *TAS2R19*, *TAS2R20*, *TAS2R31*, *TAS2R43* et *TAS2R50*) ont été identifiés au niveau testiculaire. *TAS1R1*, *TAS2R5*, *TAS2R14*, *TAS2R19*, *TAS2R20* et *TAS2R43* sont exprimés au niveau de la prostate. Au niveau des ovaires, 17 récepteurs gustatifs (*TAS1R1*, *TAS1R3*, *TAS2R1*, *TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R5*,

*TAS2R7, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R50* et *TAS2R60*) sont exprimés. Enfin, 10 récepteurs gustatifs (*TAS1R1, TAS1R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20* et *TAS2R31*) sont retrouvés au niveau des glandes mammaires (Flegel et al., 2013). Le récepteur humain T2R38 est exprimé au niveau protéique dans l'épithélium amniotique, le syncytiotrophoblaste et les cellules déciduales du placenta (Wölfle et al., 2016).

Il a été démontré que les protéines T1R2 et T1R3 sont exprimées dans l'épithélium vésical chez l'homme et le rat (Elliott et al., 2011). Les transcrits *Tas1r1, Tas1r3* et *Tas2r108* ont aussi été détectés dans les cellules à panache chémosensorielles de l'urètre chez la souris (Deckmann et al., 2014). Les ARNm de 7 T2R et les protéines T2R105, T2R106 et  $G\alpha_{i3}$  sont exprimés au niveau du corpuscule rénal et des tubules proximaux et distaux murins (Liu et al., 2015). Au niveau du rein de souris, les ARNm des 3 membres de la famille T1R, de 7 membres de la famille T2R (*Tas2r108, Tas2r119, Tas2r135, Tas2r137, Tas2r138, Tas2r140* et *Tas2r143*) et de *Gnat3* sont retrouvés (Rajkumar et al., 2014). Chez l'homme, 17 membres de la famille T2R (*TAS2R1, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R7, TAS2R8, TAS2R9, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R38, TAS2R39, TAS2R40, TAS2R45* et *TAS2R50*) sont exprimés par les muscles lisses du détrusor, qui contrôle le remplissage de la vessie (Zhai et al., 2016). Au niveau du rein humain, 15 récepteurs gustatifs (*TAS1R1, TAS1R3, TAS2R1, TAS2R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R10, TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42, TAS2R43* et *TAS2R50*) sont exprimés ainsi que le même nombre (*TAS1R1, TAS1R3, TAS2R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R9, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R42* et *TAS2R50*) au niveau de la glande surrénale (Flegel et al., 2013).

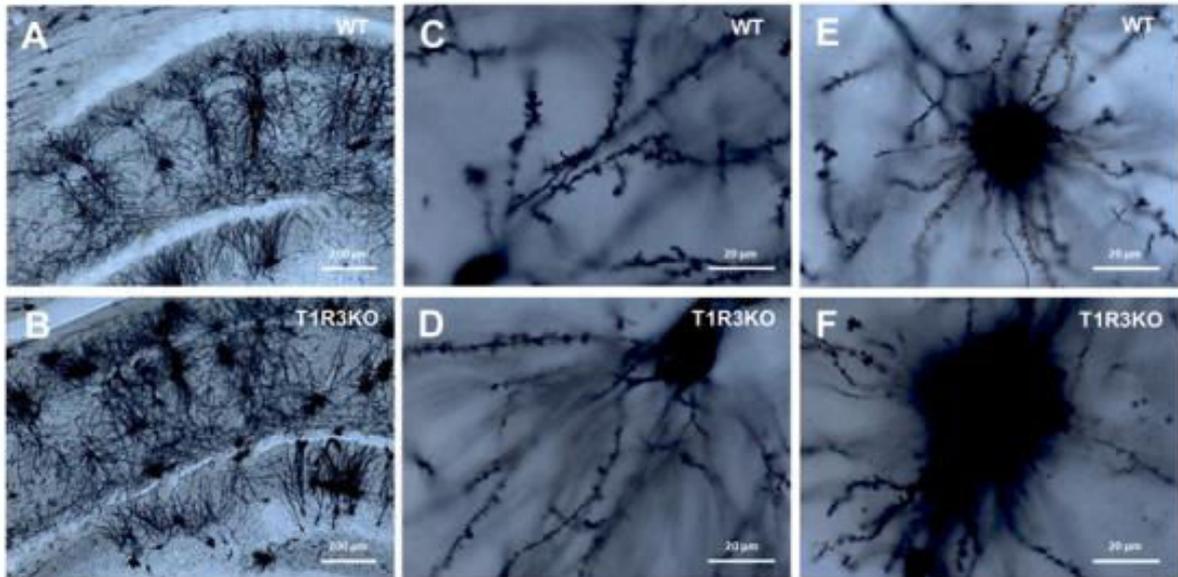
### 3.1.2. Os, muscles et tissu adipeux

On retrouve les transcrits *Tas1r2* et *Tas1r3* dans les précurseurs des ostéoclastes murins (Eaton et al., 2018). Chez la souris, les protéines T1R2 et T1R3 sont exprimées dans le tissu adipeux et probablement dans la moelle osseuse (Simon et al., 2013, 2014). De plus, au niveau des muscles squelettiques humains, on retrouve les ARNm des trois membres de la famille T1R ainsi que de deux membres de la famille T2R (*TASR14* et *TAS2R20*). Dans le tissu adipeux, au sein de la famille T1R seul *TAS1R3* est exprimé, mais 9 transcrits appartenant à la famille T2R (*TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R14*, *TAS2R19*, *TAS2R20*, *TAS2R31*, *TAS2R40* et *TAS2R42*) y sont retrouvés (Flegel et al., 2013).

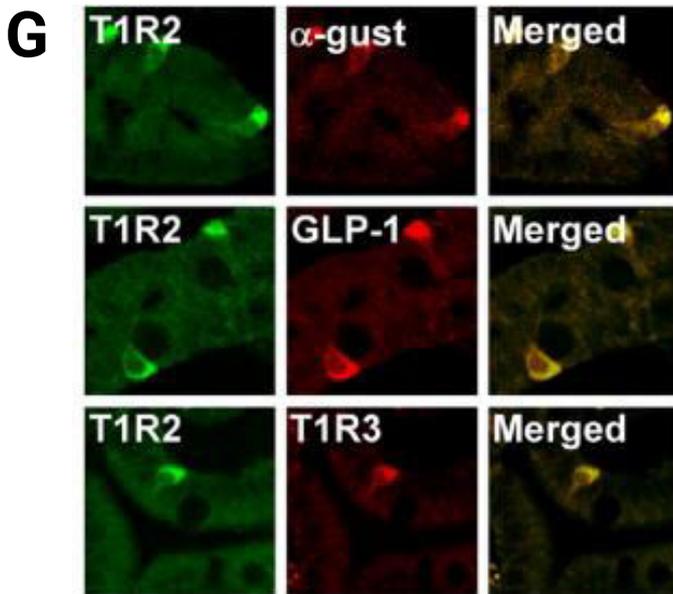
### 3.1.3. Tractus gastro-intestinal

Au niveau de l'estomac et du duodénum d'espèces murines, du cochon et de l'homme, les transcrits et/ou protéines de différents membres des familles T1R et T2R (*TAS2R105*, *TAS2R108*, *TAS2R134* et *TAS2R138*) accompagnés de leurs partenaires canoniques de transduction (*Gnat3*, *Gβ3*, *Gγ13*, *PLCβ2*, *TRPM5*) ont été retrouvés (Akiba et al., 2009; Bezençon et al., 2007; Colombo et al., 2012; Hass et al., 2010; Höfer et al., 1996; Jang et al., 2007; Swartz et al., 2012; Widmayer et al., 2012; Wu et al., 2005; Young et al., 2009) (**Figure 17 G-H**). La même constatation est faite au niveau de l'intestin et du côlon des mêmes espèces (Bezençon et al., 2007; Colombo et al., 2012; Dotson et al., 2008; Dyer et al., 2005; Jeon et al., 2008, 2011; Kaji et al., 2009; Mace et al., 2009; Margolskee et al., 2007; Moran et al., 2010; Swartz et al., 2012; Young et al., 2009) (**Figure 18**). Au niveau du foie et du pancréas humain, les protéines T1R2 et T1R3 sont retrouvées (Taniguchi, 2004; Toyono et al., 2007). Chez la souris, les mêmes protéines ont été localisées au niveau des îlots pancréatiques (Nakagawa et al., 2009). À ces niveaux, ils sont exprimés par exemple dans les cellules β-pancréatiques (Henquin, 2012), les cellules pariétales de l'estomac (Zopun et al., 2018) ou les cellules entéroendocrines ou épithéliales de l'intestin (Hass et al., 2010; Young et al., 2013). De plus, une étude du transcriptome humain a montré l'expression de 7 récepteurs gustatifs (*TAS1R3*, *TAS2R5*,

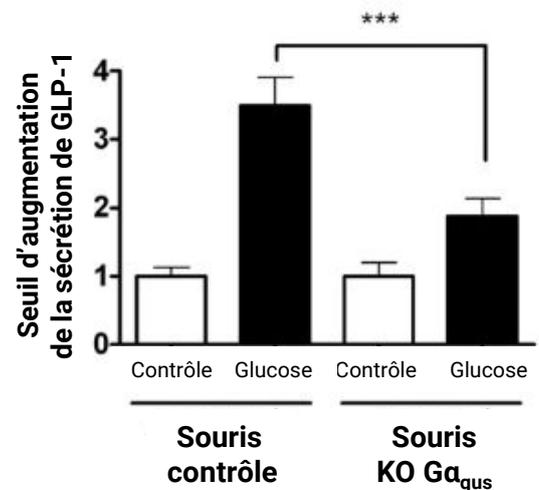
## A-F : Altérations de l'organisation et de la morphologie neuronales après KO de T1R3



## Expression de T1R2/T1R3 dans cellules entéroendocrines GLP-1 positives



## H Sécrétion de GLP-1 par les cellules entéroendocrines

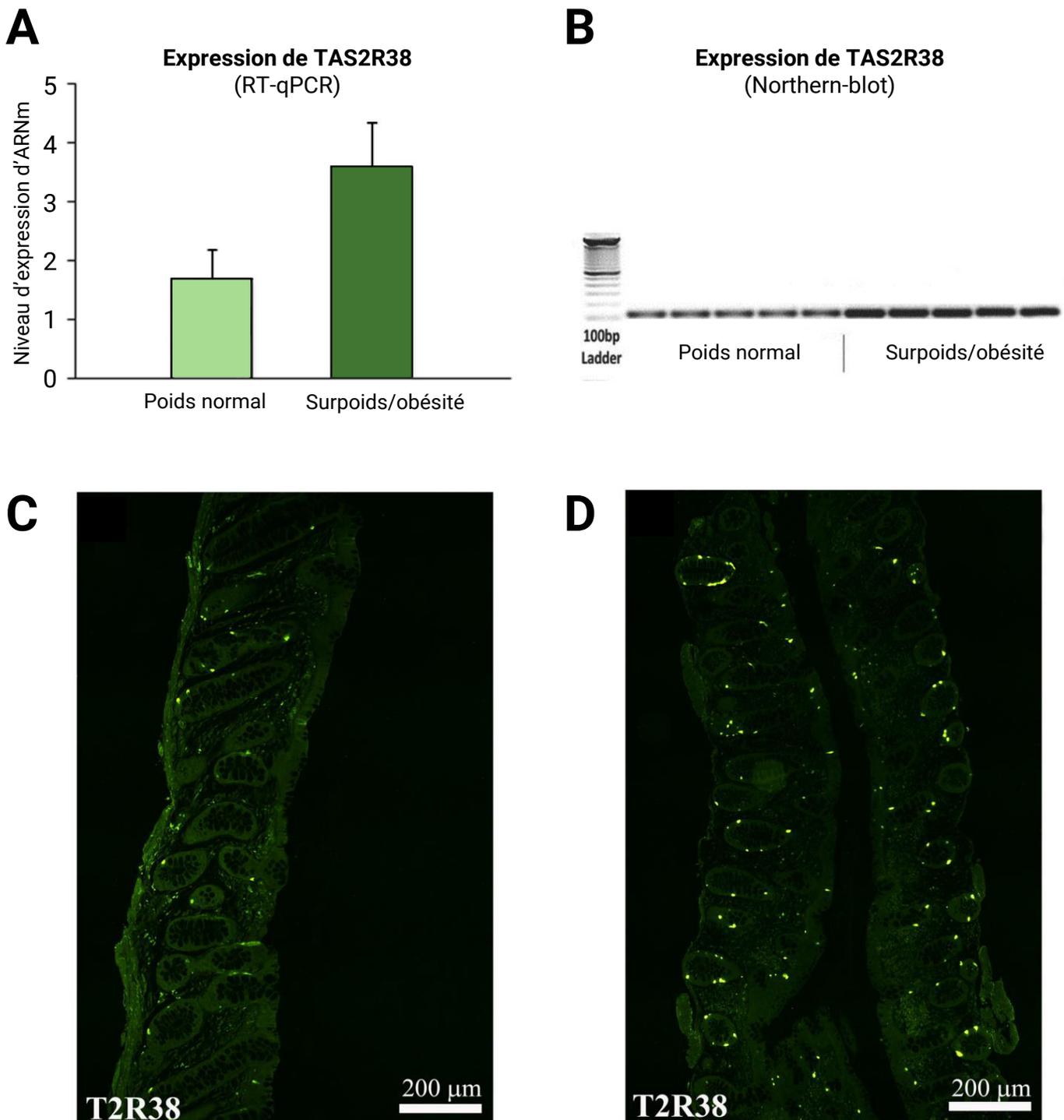


**Figure 17. Implications des récepteurs gustatifs de type 1 dans l'architecture cellulaire (A-F) et le métabolisme glucidique (G-H).**

A-F : Colorations de Golgi sur des sections de 100  $\mu\text{m}$  de cerveaux de souris sauvages (A, C, E) ou ayant subi un *knock-out* (KO) du récepteur T1R3 (B, D, F). On observe des altérations de l'architecture cellulaire chez les souris KO. Les photos A-B indiquent la région hippocampique CA1, C-D, des neurones hippocampiques et E-F leurs corps cellulaires (Martin et al., 2017).

G : Co-expression, dans les cellules entéroendocrines duodénales de la sous-unité T1R2 du récepteur du goût sucré (vert) avec, en rouge, la protéine  $G\alpha_{gus}$  ( $\alpha$ -gust), le glucagon-like peptide 1 (GLP-1) ou T1R3.

H : Sécrétion de GLP-1 par les cellules entéroendocrines duodénales en réponse à l'application de glucose chez des souris contrôles ou KO pour l'expression de la protéine  $G\alpha_{gus}$ . Le glucose active une voie de transduction couplant un récepteur au goût sucré à une protéine  $G\alpha_{gus}$  (Jang et al., 2007).



**Figure 18. Expression «ectopique» de récepteurs gustatifs de type 2 dans le côlon.**

A : Niveaux d'expression des ARNm codant pour TAS2R38 chez des sujets de poids normal, en surpoids ou obèses analysés par RT-qPCR. Les niveaux d'ARNm de TAS2R38 sont nettement, mais pas significativement ( $P=0,06$ ), plus élevés chez les sujets en surpoids ou obèses que chez les sujets de poids normal.

B : Northern blot de TAS2R38 dans des échantillons de côlon de sujets de poids normal ou en surpoids/obèses. Le premier puits correspond au dépôt du marqueur de taille (ladder).

C-D : Images confocales de l'immunoréactivité de T2R38 dans les glandes du côlon chez des sujets de poids normal (C) et en surpoids/obèses (D). La densité du marquage T2R38 est nettement plus élevée chez les sujets obèses par rapport aux sujets de poids normal. Barre d'échelle = 200 µm (Latorre et al., 2016).

*TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R30* et *TAS2R40*) au niveau du foie ainsi que de 7 autres (*TAS1R1, TAS1R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R14, TAS2R20* et *TAS2R43*) au niveau du côlon (Flegel et al., 2013).

#### 3.1.4. Système cardiovasculaire

Au niveau du tissu cardiaque humain, les récepteurs *TAS1R1* et *TAS1R3* ainsi que plusieurs récepteurs de la famille T2R (*TAS2R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R7, TAS2R9, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R16, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R39, TAS2R43, TAS2R45, TAS2R46* et *TAS2R50*) sont retrouvés (Flegel et al., 2013; Foster et al., 2013). Au sein des myocytes et des fibroblastes cardiaques murins, on retrouve les transcrits de 9 récepteurs gustatifs (*Tas1r1, Tas1r3, Tas2r108, Tas2r120, Tas2r121, Tas2r126, Tas2r135, Tas2r137* et *Tas2r143*) et de *Gnat3, Plcβ2* et *Trpm5* (Foster et al., 2013).

#### 3.1.5. Sang et système immunitaire

L'expression de *TAS1R3* a été faiblement détectée au niveau du thymus humain (Max et al., 2001). Les protéines composant le dimère T1R1/T1R3 sont exprimées par les granulocytes et les neutrophiles (Lee et al., 2014; Shi et al., 2017a). Par ailleurs, tous les membres des récepteurs gustatifs de type 1 et 2 (*TAS1R1, TAS1R2, TAS1R3, TAS2R1, TAS2R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R7, TAS2R8, TAS2R9, TAS2R10, TAS2R13, TAS2R14, TAS2R16, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R30, TAS2R31, TAS2R38, TAS2R39, TAS2R40, TAS2R41, TAS2R42, TAS2R43, TAS2R45, TAS2R46, TAS2R50* et *TAS2R60*) sont retrouvés au niveau des phagocytes, des leucocytes et des polynucléaires neutrophiles humains (Flegel et al., 2013; Gaida et al., 2016a; Malki et al., 2015; Maurer et al., 2015; Orsmark-Pietras et al., 2013). Enfin, toujours chez l'homme, 9 récepteurs gustatifs ont été trouvés au niveau des ganglions lymphatiques (*TAS1R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R14, TAS2R19, TAS2R20, TAS2R31, TAS2R40* et *TAS2R43*) et 9 autres (*TAS1R1, TAS1R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R8, TAS2R14, TAS2R20, TAS2R31* et *TAS2R43*) à celui de la thyroïde (Flegel et al., 2013).

### 3.1.6. Voies respiratoires

L'expression des ARNm *Tas2r105*, *Tas2r108* et *Tas2r119* ainsi que des protéines  $G\alpha_{t3}$  et  $Plc\beta 2$  a été identifiée au niveau de la cavité nasale et de la trachée de souris (Finger et al., 2003; Krasteva et al., 2011). *Tas2r107* et *Tas2r108* sont exprimés au niveau des muscles lisses des voies aériennes de souris et la protéine T2R107 y est également trouvée (Zhang et al., 2013). Chez le rat, 11 transcrits des familles T1R et T2R (*rTas1r1*, *rTas1r2*, *rTas1r3*, *rTas2r13*, *rTas2r105*, *rTas2r107*, *rTas2r119*, *rTas2r121*, *rTas2r123*, *rTas2r126* et *rTas2r134*), de *Gnat3*, *Plc\beta 2* et *Trpm5*, ainsi que les protéines  $G\alpha_{t3}$  et  $Plc\beta 2$ , ont été localisés au niveau des voies aériennes (Tizzano et al., 2011). Les transcrits *TAS2R1*, *TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R7*, *TAS2R8*, *TAS2R9*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R14*, *TAS2R16*, *GNAT3*, *PLC\beta 2* et *TRPM5* ont été identifiés au niveau des cils motiles de l'épithélium des voies aériennes humaines. Les protéines T2R4, T2R43, T2R46,  $G\alpha_{t3}$ ,  $PLC\beta 2$  et  $TRPM5$  y sont par ailleurs détectées (Shah et al., 2009). Plus tard, la protéine T2R38 a été identifiée au niveau de l'épithélium respiratoire supérieur humain (Lee et al., 2012). L'expression des ARNm *TAS1R1*, *TAS1R3* ainsi que de 7 transcrits de récepteurs de la famille T2R (*TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R14*, *TAS2R20*, *TAS2R31* et *TAS2R50*) ont été trouvés chez l'homme au niveau de la trachée et des cellules des muscles lisses des voies aériennes (Deshpande et al., 2010; Flegel et al., 2013). Chez l'homme et la souris, les cellules chimiosensorielles nasales solitaires expriment le récepteur au goût sucré T1R2/T1R3 (Lee et al., 2014).

### 3.1.7. Cellules cancéreuses

Au niveau des cellules tumorales entéroendocrines de souris STC-1, les transcrits et/ou les protéines *TAS1R2*, *TAS1R3*, plusieurs membres de la famille T2R (*Tas2r108*, *Tas2r135*, *Tas2r137*, *Tas2r138* et *Tas2r144*) ainsi que leurs partenaires canoniques de transduction ( $G\alpha_{t3}$ ,  $Plc\beta 2$  et  $Trpm5$ ) ont été retrouvés (Chen et al., 2006; Dyer et al., 2005; Jeon et al., 2008; Wu et al., 2002). Les transcrits et/ou les protéines des récepteurs gustatifs de type 1 sont retrouvés dans les cellules d'insulinome de souris MIN6 (Nakagawa et al., 2009; Wauson et al.,

2012). *TAS2R4* est sous-exprimé dans les cellules épithéliales cancéreuses du sein par rapport aux cellules contrôles chez l'homme (Singh et al., 2014). Par ailleurs, *TAS2R38* est exprimé dans les cellules tumorales de patients atteints de cancer du pancréas ainsi que dans les lignées cellulaires dérivées de ces tumeurs (Gaida et al., 2016b). Les cellules Hu-Tu 80 d'adénocarcinome duodénal humain expriment les transcrits et/ou les protéines *TAS1R3*, *TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R38*, *TAS2R39*, *TAS2R40*, *TAS2R42*, *TAS2R43*, *TAS2R44*, *TAS2R45*, *TAS2R46*, *TAS2R47*, *TAS2R49*, *TAS2R50* et *TAS2R60*, ainsi que  $G\alpha_{t3}$  (Rozengurt et al., 2006). Les cellules HuCCT1 de carcinome du canal biliaire hépatique humain expriment le transcrit *TAS1R1* et les protéines *T1R2* et *T1R3* (Toyono et al., 2007). Enfin, les cellules d'adénocarcinome colorectal humain NCI-H716 et Caco-2 expriment les transcrits et/ou les protéines *TAS1R2*, *TAS1R3*, plusieurs *T2R* (*TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R38*, *TAS2R39*, *TAS2R40*, *TAS2R42*, *TAS2R43*, *TAS2R44*, *TAS2R45*, *TAS2R46*, *TAS2R47*, *TAS2R49*, *TAS2R50* et *TAS2R60*),  $G\alpha_{t3}$ , *PLC $\beta$ 2* et *TRPM5* (Dotson et al., 2008; Jang et al., 2007; Jeon et al., 2011; Rozengurt et al., 2006).

### 3.1.8. Système nerveux

Au sein du système nerveux, l'expression de gènes et protéines des récepteurs gustatifs ainsi que de leurs partenaires canoniques de signalisation est bien décrite dans le contexte physiologique normal ou sain. Cependant, bien que leur présence soit avérée dans divers contextes pathologiques, aucune fonction n'a encore été suggérée pour justifier la présence de ces récepteurs à ce niveau.

#### 3.1.8.1. Contexte physiologique

Les protéines de la famille *T1R* sont exprimées dans le cortex et l'hypothalamus de souris (Martin et al., 2017; Ren et al., 2009) (**Figure 17 A-F**). De plus, les transcrits de *rTas2r4*, *rTas2r38* et *rTas2r108* ont été localisés au niveau du tronc cérébral, du cortex, du *nucleus accumbens* et du cervelet chez le rat. Chez ces animaux, la protéine *T2R4* est fortement

exprimée dans le tronc cérébral et en particulier au niveau du noyau du tractus solitaire (Singh et al., 2011). Une seconde étude a identifié l'expression des gènes *rTas2r1*, *Gnat3*, *Plcβ2* et *Trpm5* ainsi que des protéines  $G\alpha_{t3}$  et  $Plc\beta2$  au niveau des neurones de plusieurs noyaux du tronc cérébral de rats (Dehkordi et al., 2012) (**Figure 19 A**). Les transcrits des récepteurs *rTas2r109* et *rTas2r144* ainsi que leurs partenaires canoniques  $G\alpha_{t3}$ ,  $Plc\beta2$  et *Trpm5* ont été localisés au niveau des cellules épithéliales des plexus choroïdes de rat et leur expression protéique (sauf T2R109) y a été validée (Tomás et al., 2016) (**Figure 19 B**). Enfin, en dépit du fait que des transcrits des deux familles de récepteurs gustatifs (*TAS1R1*, *TAS1R3*, *TAS2R1*, *TAS2R3*, *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R7*, *TAS2R8*, *TAS2R9*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R14*, *TAS2R19*, *TAS2R20*, *TAS2R30*, *TAS2R31*, *TAS2R39*, *TAS2R40*, *TAS2R42*, *TAS2R46* et *TAS2R50*) aient été retrouvés au niveau du cerveau, des ganglions trigéminaux et des racines dorsales chez l'homme, ils n'auraient pas de rôle spécifique dans ces structures (Flegel et al., 2013, 2015) (**Tableau 1**).

#### 3.1.8.2. Troubles mentaux

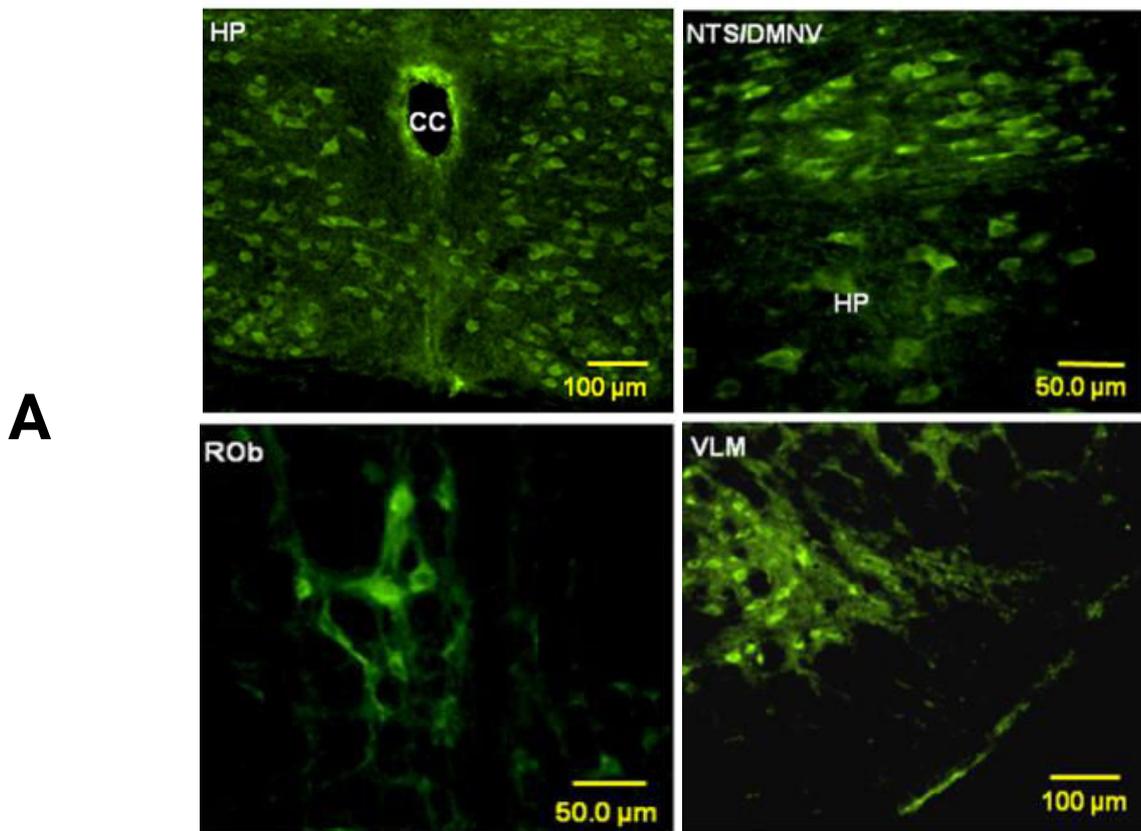
La schizophrénie est un trouble mental sévère et chronique faisant partie des troubles psychotiques. Ses symptômes les plus fréquents sont une altération du processus sensoriel et du fonctionnement cognitif. Il est intéressant de noter que les ARNm *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R13* et *TAS2R50* sont sous-exprimés dans le cortex préfrontal de patients schizophrènes. Cependant, l'expression de ces gènes est inversement proportionnelle à la dose de médicaments antipsychotiques absorbée, suggérant qu'ils ne participeraient pas aux processus pathologiques impliqués dans ce trouble (Ansoleaga et al., 2015).

#### 3.1.8.3. Maladies neurodégénératives

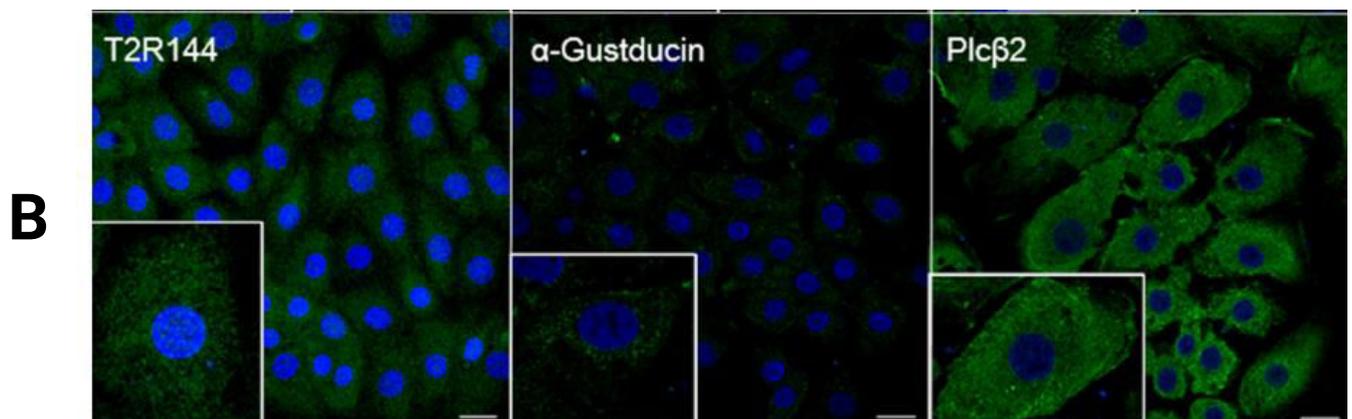
##### 3.1.8.3.1. Maladie de Parkinson et paralysie supranucléaire progressive

Initialement décrite par James Parkinson en 1817, cette maladie est causée par des inclusions neuronales d' $\alpha$ -synucléine agrégée, nommées corps de Lewy, entraînant la mort des neurones

## Marquage immunohistochimique de la gustducine (noyaux du tronc cérébral de rat)



## Marquage immunohistochimique de T2R144, gustducine et PLCβ2 (cellules épithéliales de plexus choroïdes)



**Figure 19. Expression «ectopique» des récepteurs gustatifs de type 2 et de leurs partenaires canoniques de signalisation dans le système nerveux.**

A : Observation confocale du marquage immunohistochimique de la protéine  $G\alpha_{\text{gus}}$  (vert) dans différents noyaux du tronc cérébral chez le rat. HP: noyau hypoglosse, NTS: noyau du tractus solitaire, Rob: noyau du raphé, VLM: medulla ventrolatérale (Dehkordi et al., 2012).

B : Observation confocale du marquage immunohistochimique (vert) du récepteur gustatif T2R144 (gauche) et de ses partenaires canoniques de signalisation  $G\alpha_{\text{gus}}$  (milieu) et PLCβ2 (droite), dans des cultures primaires de cellules épithéliales des plexus choroïdes de rat. Les noyaux cellulaires sont marqués en bleu. Barres d'échelle = 20 μm (Tomas et al., 2016).

**Tableau 1. Récepteurs gustatifs exprimés dans le système nerveux central.**

Localisation	Type cellulaire	Espèce	Récepteurs et/ou partenaires de signalisation identifiés	Fonction putative	Techniques utilisées	Référence
Cortex, hippocampe, hypothalamus, habénula médiale	Neurones	Souris	Transcrits <i>Tas1r1</i> , <i>Tas1r2</i> , <i>Tas1r3</i> , <i>Gnat3</i> , <i>Gnb3</i> , <i>Gng13</i> , protéines T1R2, T1R3, Gα3	Glucosenseurs	RT-qPCR, hybridation <i>in situ</i> , immunohistochimie	Ren et al., 2009
Tronc cérébral, cortex, cervelet, noyau <i>accumbens</i>	Neurones	Rat	Transcrits <i>rTas2r4</i> , <i>rTas2r10</i> (sauf tronc cérébral), <i>rTas2r38</i> , protéine T2R4	-	Culture cellulaire, RT-qPCR, immunohistochimie	Singh et al., 2011
-	Neurones primaires		Transcrits <i>rTas2r4</i> , <i>rTas2r10</i> , protéine T2R4			
-	Cellules gliales C6		Transcrits <i>rTas2r4</i> , <i>rTas2r10</i> , <i>rTas2r38</i> , protéine T2R4			
Noyau hypoglosse, du tractus solitaire, noyau dorsal moteur du nerf vague, raphe obscurus, noyaux du raphe magnus, médulla ventrolatérale, noyaux gigantocellulaires	Neurones, cellules gliales	Rat	Transcrits <i>rTas2r1</i> , <i>Gnat3</i> , <i>PLCβ2</i> , <i>Trpm5</i> , protéines Gα <sub>13</sub> , Plcβ2	-	RT-PCR, western blot, immunohistochimie	Dehkordi et al., 2012
Cortex frontal, entorhinal, cervelet	-	Homme	Transcrits <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R50</i>	-	RT-qPCR	Ansoleaga et al., 2013
Cortex frontal	-	Homme	Transcrits <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R50</i>	-	Microarray, RT-qPCR	Garcia-Esparcia et al., 2013
Cerveau	-	Homme	Transcrits <i>TAS1R1</i> , <i>TAS1R3</i> , <i>TAS2R1</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R7</i> , <i>TAS2R8</i> , <i>TAS2R9</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R19</i> , <i>TAS2R20</i> , <i>TAS2R30</i> , <i>TAS2R31</i> , <i>TAS2R39</i> , <i>TAS2R40</i> , <i>TAS2R42</i> , <i>TAS2R46</i> , <i>TAS2R50</i>	-	Next-Generation Sequencing	Flegel et al., 2013
Cortex préfrontal dorsolatéral	-	Homme	Transcrits <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R13</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R50</i>	-	RT-qPCR	Ansoleaga et al., 2015
Cerveau	-	Homme	Transcrits <i>TAS1R1</i> , <i>TAS1R3</i> , <i>TAS2R1</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R20</i> , <i>TAS2R31</i> , <i>TAS2R40</i>	-	Next-Generation Sequencing	Flegel et al., 2015
Ganglions trigéminaux	-		Transcrits <i>TAS1R1</i> , <i>TAS1R3</i> , <i>TAS2R1</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R10</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R19</i> , <i>TAS2R20</i> , <i>TAS2R30</i> , <i>TAS2R31</i> , <i>TAS2R39</i> , <i>TAS2R43</i> , <i>TAS2R46</i> , <i>TAS2R50</i>			
Ganglions des racines dorsales	-		Transcrits <i>TAS1R1</i> , <i>TAS1R3</i> , <i>TAS2R3</i> , <i>TAS2R4</i> , <i>TAS2R5</i> , <i>TAS2R14</i> , <i>TAS2R19</i> , <i>TAS2R20</i>			
Ventricules cérébraux	Cellules épithéliales de plexus choroïdes	Rat	Transcrits <i>rTas1r1</i> , <i>rTas1r2</i> , <i>rTas1r3</i> , <i>rTas2r109</i> , <i>rTas2r144</i> , <i>Gnat3</i> , <i>Plcβ2</i> , <i>Trpm5</i> , protéines T1R1, T1R2, T1R3, T2R144, Gα <sub>13</sub> , Plcβ2, Trpm5	Surveillance chimique de la composition du liquide céphalo-rachidien	Cultures primaires (cellules épithéliales de plexus choroïdes), RT-PCR, western blot, immunohistochimie, imagerie calcique	Tomás et al., 2016
Hippocampe	Neurones	Souris	Protéine T1R3	Architecture cellulaire, apprentissage, mémoire	Souris transgéniques ( <i>knock-out</i> <i>Tas1r3</i> ), marquages de Golgi, immunohistochimie, western blot, comportement	Martin et al., 2017

dopaminergiques de la substance noire *pars compacta* située au niveau du mésencéphale. Elle donne lieu à des tremblements au repos, une rigidité et une lenteur des mouvements. Des symptômes précliniques précèdent parfois l'apparition des symptômes moteurs, notamment une altération de l'odorat, différents troubles neurovégétatifs et un état apathique. Ces divers stades et symptômes sont dus à la propagation des corps de Lewy, apparaissant dans le bulbe olfactif, le système nerveux autonome et quelques noyaux de la moelle allongée (stade 1), puis se disséminant au niveau de noyaux du pont (stade 2), du mésencéphale (stade 3), du système limbique (stade 4) et du cortex au stade 5 (Braak et al., 2003). Dans le cortex frontal de patients parkinsoniens, l'expression du transcrit *TAS2R5* est diminuée tandis que celle de *TAS2R10* et *TAS2R13* est augmentée lors du stade pré-moteur. Il est intéressant de noter que la surexpression de *TAS2R10* est retrouvée chez les hommes, tandis que la sous-expression de *TAS2R5* est spécifique des femmes (Garcia-Esparcia et al., 2013).

Décrite dans les années 1960, la paralysie supranucléaire progressive est cliniquement caractérisée par une paralysie pseudobulbaire entraînant une atteinte du mouvement oculaire, une instabilité posturale puis une rigidité progressive et un déclin cognitif discret. Ces symptômes sont causés par l'apparition, au sein des neurones, de fibrilles formées de protéine Tau hyper-phosphorylée, ainsi que par diverses altérations de la morphologie des cellules gliales dans plusieurs zones cérébrales comme des noyaux du tronc cérébral et du diencephale, du cervelet et plusieurs aires du télencéphale. Les transcrits de *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R14* et *TAS2R50* sont tous surexprimés dans le cortex frontal de patients atteints de paralysie supranucléaire progressive (Ansoleaga et al., 2013).

#### 3.1.8.3.2. Maladie de Creutzfeldt-Jakob

Cette maladie se manifeste par une démence rapide, une ataxie et une myoclonie dues à une perte neuronale, accompagnée d'une activation gliale et microgliale et d'une encéphalopathie spongiforme (formation de vacuoles confluentes) dans des régions cérébrales variables. La maladie est dite de sous-type MM1 quand ces altérations se situent au niveau du cortex, et de

sous-type VV2 quand elles surviennent au niveau du cervelet. Les ARNm *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10* et *TAS2R14* sont surexprimés dans le cortex de patients présentant la maladie de Creutzfeldt-Jakob de type MM1, tandis que *TAS2R4*, *TAS2R10*, *TAS2R13* et *TAS2R14* sont plus exprimés chez les sujets atteints de la maladie de type VV2. Chez les patients MM1, les mêmes T2R additionnés de *TAS2R13* et *TAS2R50* sont surexprimés au niveau du cervelet, mais aucune variation de l'expression des T2R n'est observée chez les patients VV2 comparés aux sujets contrôles. Enfin, les transcrits *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13* et *TAS2R50* sont sous-exprimés dans le cervelet de patients VV2 comparés aux patients MM1 (Ansoleaga et al., 2013).

#### 3.1.8.3.3. Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer a été décrite pour la première fois en 1906 par Alois Alzheimer comme une forme de démence présénile. Elle est caractérisée par l'accumulation de plaques séniles extracellulaires composées d'amas de peptide  $\beta$ -amyloïde (ou A $\beta$ ) et par des enchevêtrements de fibrilles intracellulaires composées de protéine Tau hyper-phosphorylée. Deux formes existent : la maladie à apparition précoce, souvent héritée et due à des mutations des gènes *APP* (*Amyloid Precursor Protein*), *PSEN1* et *PSEN2* (*Presenilin*) qui encodent le précurseur de la protéine amyloïde, et la maladie à apparition tardive, sporadique, modulée par des facteurs génétiques de pénétrance faible (comme l'apolipoprotéine E sous sa forme E4, *APOE4*) ou environnementaux (Braak et Braak, 1991; Livingston et al., 2017). À l'image de la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer est décomposée en plusieurs stades : aux stades I et II, les neurofibrilles de protéine Tau et les plaques d'A $\beta$  se forment au niveau du cortex entorhinal ; aux stades III et IV, ces atteintes se propagent et atteignent l'hippocampe, les régions profondes du cortex temporal et les régions limbiques. Aux stades V et VI, un grand nombre d'altérations sont retrouvées au niveau du néocortex, incluant parfois les zones sensorielles primaires (Ferrer, 2012). Chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, le transcrit *TAS2R13* est surexprimé au niveau du cortex entorhinal lors du stade III-IV, et l'expression des

ARNm *TAS2R5* et *TAS2R10* est augmentée lors du stade V-VI. Cependant, aucune altération de l'expression de ces gènes n'a été notée au niveau du cortex frontal à aucun stade de la maladie (Ansoleaga et al., 2013).

### 3.2. Conclusion sur l'expression des récepteurs gustatifs «ectopiques»

La gamme de tissus, chimiosensoriels ou non, exprimant les récepteurs gustatifs hors de la cavité buccale est large. Ces derniers représentent bien plus que des simples unités détectrices des valeurs gustatives alimentaires. Il est intéressant de noter que le récepteur à l'umami (T1R1/T1R3) est fortement exprimé par les neurones olfactifs et que les T2R y sont également faiblement retrouvés (Kanageswaran et al., 2015). Ceci suggère que les unités de bases de la gustation peuvent assurer cette même fonction en dehors de l'épithélium buccal et posséder des rôles chimiosensoriels proches de la gustation, comme au niveau du tractus digestif. Cependant les récepteurs gustatifs pourraient aussi y assurer des fonctions non-chimiosensorielles. Les exemples de l'expression des récepteurs gustatifs au niveau du cœur et du cerveau sont particulièrement frappants. En effet, le cœur n'est pas directement exposé à l'environnement externe et le cerveau en est isolé par la barrière hémato-encéphalique. L'expression de récepteurs gustatifs dans ces systèmes soulève donc la possibilité que leurs ligands endogènes existent dans le corps.

Enfin, les récepteurs gustatifs ne sont pas les seuls récepteurs chimiosensoriels d'origine rhino-laryngée exprimés ailleurs qu'au niveau de la face. Comme nous nous apprêtons à le voir, des découvertes similaires concernent divers récepteurs associés à la perception phéromonale et olfactive.

### 3.3. Expression des récepteurs olfactifs et phéromonaux «ectopiques»

Les différentes études s'intéressant aux récepteurs phéromonaux et olfactifs situés en dehors de l'épithélium olfactif montrent que ces RCPG sont exprimés dans différents tissus et organes éloignés de la cavité nasale. Afin de respecter les règles de nomenclature établies, les récepteurs phéromonaux sont désignés en lettres majuscules chez l'homme (VN $x$ R $y$ , TAAR $y$ , FPR $y$ ) et minuscules chez l'animal (Vmn $x$ r $y$ , Taar $y$ , Fpr $y$ ), le « $x$ » représentant le nombre attribué à la famille et les « $y$ » les numéros attribués au récepteur. Les récepteurs olfactifs sont désignés par le nom «Olf $r$  $y$ » chez la souris, «Ol $r$  $y$ » chez le rat et «OR $x$  $y$ » chez l'homme.

#### 3.3.1. Système uro-génital

##### 3.3.1.1. Rein et tractus urinaire

Chez la souris, les transcrits de 13 récepteurs olfactifs (*Olf15*, *Olf31*, *Olf78*, *Olf90*, *Olf99*, *Olf545*, *Olf691*, *Olf693*, *Olf1372-ps1*, *Olf1373*, *Olf1392*, *Olf1393* et *Olf1426*) et de leurs partenaires canoniques de transduction –  $G\alpha_{olf}$  et  $AC3$  – ont été détectés dans les reins, au niveau du néphron distal et de la *macula densa* (Munakata et al., 2018; Pluznick et al., 2009, 2013; Rajkumar et al., 2014). De plus, les formes protéiques de  $G\alpha_{olf}$  et  $AC3$  sont retrouvées dans le rein chez le rat et la souris, et la protéine *Olf78* a été localisée au niveau des muscles lisses d'artérioles rénales (Pluznick et al., 2009, 2013). Chez la souris, l'expression de 5 ARNm de récepteurs olfactifs (*Olf181*, *Olf544*, *Olf558*, *Olf895* et *Olf1392*) a été identifiée au niveau de la vessie (Kang et al., 2015a). Vingt-cinq récepteurs olfactifs (*OR1E1*, *OR1F12*, *OR1L8*, *OR2A1/42*, *OR2A4/7*, *OR2B6*, *OR2C1*, *OR2H2*, *OR2L13*, *OR2T8*, *OR2W3*, *OR3A2*, *OR4D6*, *OR5K2*, *OR7C1*, *OR8G5*, *OR10A2*, *OR10AD1*, *OR13A1*, *OR13J1*, *OR51E1*, *OR51E2*, *OR52B6*, *OR52D1* et *OR52N4*) sont exprimés au niveau des glandes surrénales chez l'homme (Flegel et al., 2013).

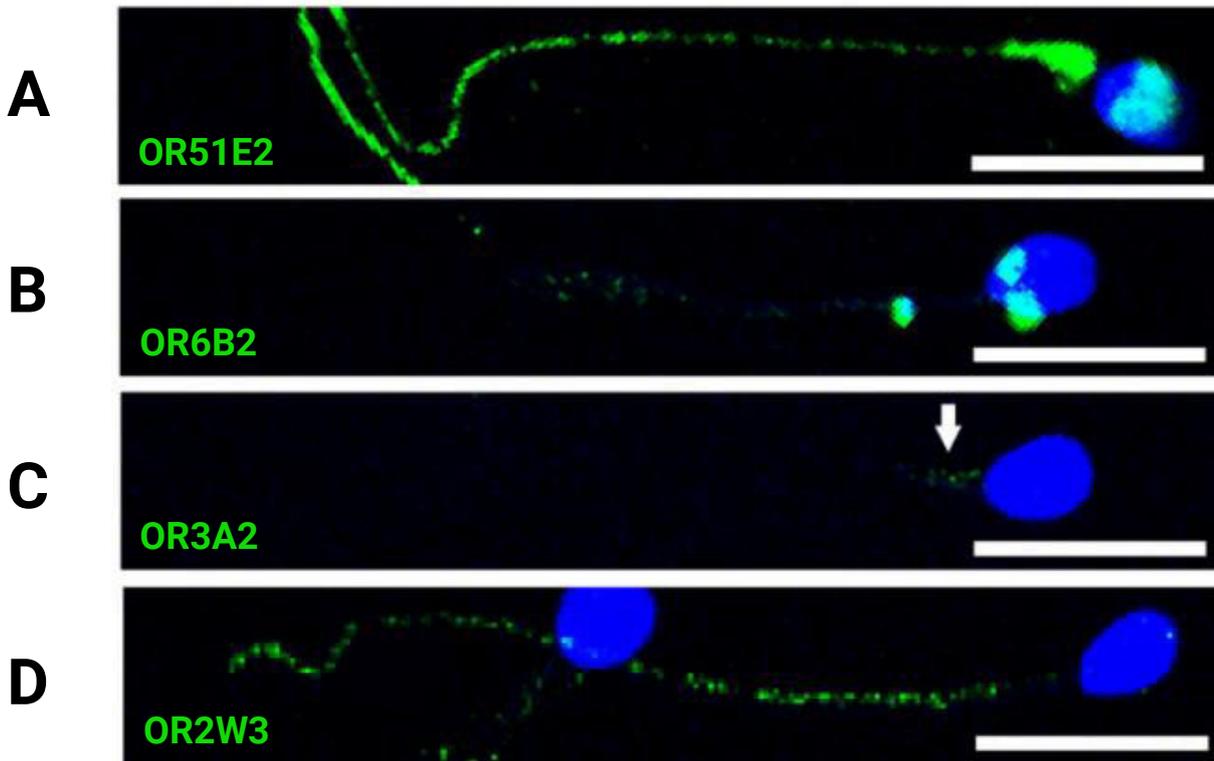
Chez l'homme, une faible expression de *VN1R1* a été détectée au niveau du rein, et tous les membres de la famille TAAR y sont exprimés (Borowsky et al., 2001; Rodriguez et al., 2000; Shirokova et al., 2008).

### 3.3.1.2. Système reproducteur et glande mammaire

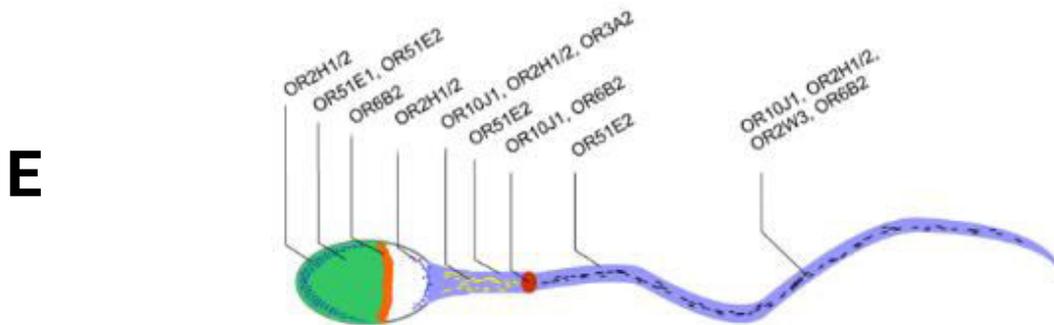
Cette sphère d'étude de l'expression des chimiorécepteurs a largement été exploitée en raison de l'identification précoce de récepteurs olfactifs dans les testicules, un an seulement après leur découverte par Buck et Axel, mais également du fait de leur rôle potentiel dans la fertilité (Parmentier et al., 1992). En effet, au niveau des testicules humains et murins, respectivement 43 et 28 transcrits de récepteurs olfactifs ont été trouvés (Adipietro et al., 2012; Asai et al., 1996; Flegel et al., 2013; Fukuda, 2004; Fukuda et Touhara, 2005; Goto, 2001; Munakata et al., 2018; Parmentier et al., 1992; Saito et al., 2009; Spehr, 2003; Vanderhaeghen, 1993; Vanderhaeghen et al., 1997; Veitinger et al., 2011; Volz et al., 2003; Walensky et al., 1995, 1998; Yuan et al., 2001). Certains de ces récepteurs en sont spécifiques car ils ne sont pas exprimés au niveau de l'épithélium olfactif (De la Cruz et al., 2009; Zhang et al., 2007). Une étude récente a montré un profil conservé d'expression protéique des récepteurs olfactifs entre les spermatozoïdes de différents donneurs humains. Les récepteurs OR2H1/2, OR2W3, OR3A2, OR6B2, OR10J1, OR51E1 et OR51E2 sont exprimés de façon régionalisée le long des spermatozoïdes (**Figure 20**). Cette expression de plusieurs récepteurs olfactifs dans un même type cellulaire prouve par la même occasion que leur expression peut être multigénique à l'extérieur de l'épithélium olfactif. Enfin, les spermatozoïdes exhibent aussi une expression de transcrits antisens de récepteurs olfactifs (Flegel et al., 2016).

Chez l'homme, l'expression transcriptomique d'*OR51E2* est la plus forte au niveau de la prostate et s'accompagne de celle, plus faible, d'*OR1E1*, *OR2A1/42*, *OR2A4/7*, *OR2H2*, *OR2W3*, *OR5K2*, *OR7C1*, *OR13A1*, *OR13J1*, *OR51B1*, *OR51E1* et *OR52N4* (Flegel et al., 2013). Au niveau des ovaires humains, les transcrits de 21 récepteurs (*OR1F12*, *OR1L8*, *OR2A1/42*, *OR2A4/7*, *OR2C1*, *OR2H2*, *OR2L13*, *OR2V1*, *OR2W3*, *OR3A2*, *OR3A3*, *OR4N4*, *OR5K2*, *OR10AD1*, *OR13J1*, *OR51B5*, *OR51E1*, *OR51E2*, *OR52B6*, *OR52D1* et *OR52N4*) sont retrouvés (Flegel et al., 2013; Neuhaus et al., 2009; Yuan et al., 2001). On compte l'expression de 17 récepteurs (*OR2A1/42* et *OR51E1*, et *OR1E1*, *OR2A4/7*, *OR2C1*, *OR2C3*, *OR2K2*, *OR2T8*, *OR3A2*, *OR3A3*, *OR7A5*, *OR8D1*,

## Marquages immunohistochimiques de récepteurs olfactifs sur des spermatozoïdes humains



## Régionalisation des récepteurs olfactifs sur les spermatozoïdes humains



### Figure 20. Expression des récepteurs olfactifs par les spermatozoïdes.

A-D : Marquages immunohistochimiques de récepteurs olfactifs sur les spermatozoïdes humains. Des anticorps dirigés contre OR51E2 (A), OR6B2 (B), OR3A2 (C) et OR2W3 (D) ont été utilisés. Barre d'échelle = 10  $\mu$ m.

E : Représentation schématique de la localisation de l'ensemble des récepteurs olfactifs exprimés par les spermatozoïdes humains. OR2H1/2, OR51E1 et OR51E2 ont été détectés sur le capuchon acrosomique (vert). OR2H1/2 est exprimé dans la partie caudale de la tête du spermatozoïde (ligne bleue). OR6B2 a été localisé dans le segment équatorial (orange) de l'acrosome. OR51E2, OR10J1, OR2H1/2 et OR3A2 sont localisés sur la pièce centrale (tirets jaunes). OR10J1 et OR6B2 sont détectés au début du flagelle (rouge). OR51E2 est exprimé sur l'ensemble du flagelle (bleu clair) et OR10J1, OR2H1/2, OR2W3 et OR6B2 sont distribués le long des flagelles (traits noirs). La majorité des récepteurs étant détectables dans tous les spermatozoïdes humains, les auteurs déduisent qu'une cellule exprime de multiples récepteurs olfactifs (Flegel et al., 2016).

*OR10A2*, *OR10AD1*, *OR51E2*, *OR5K2* et *OR52N4*) dans la glande mammaire humaine et de 2 (*Olf16* et *Olf29-ps1*) chez la souris (Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013). *OR7E24* a été localisé au niveau des oocytes et des cellules germinales primordiales humaines (Goto, 2001). L'expression de plusieurs récepteurs olfactifs humains (*OR2C1*, *OR2M7*, *OR2W3*, *OR4C6*, *OR4F3*, *OR4F16*, *OR8A1* et *OR10A6*) et murins (*Olf56*, *Olf142*, *Olf154*, *Olf433*, *Olf520*, *Olf1336* et *Olf1381*) a aussi été observée au niveau du placenta (Feldmesser et al., 2006; Itakura et al., 2006; Mao et al., 2010).

Concernant les récepteurs phéromonaux, quelques études transcriptomiques ont démontré leur présence au niveau testiculaire chez l'homme et les murins. Chez le rat, tous les membres de la famille TAAR (*Taar1*, *Taar2*, *Taar3*, *Taar4*, *Taar5*, *Taar6*, *Taar7a* et *Taar8a*) y sont fortement exprimés (Chiellini et al., 2012). Chez la souris, *Vmn1r27* et *Vmn2r42* et, à des niveaux plus faibles, *Vmn2r29*, *Vmn2r88*, *Fpr2* et *Gucy2d* sont également retrouvés au niveau testiculaire (Kanageswaran et al., 2015). Chez l'homme, seuls les ARNm des trois membres de la famille FPR ont été localisés dans les testicules (Flegel et al., 2015). L'expression de *TAAR1* a récemment été reportée au niveau des cellules cancéreuses mammaires humaines (Vattai et al., 2017).

### 3.3.2. Peau, poils, muscles squelettiques et tissu adipeux

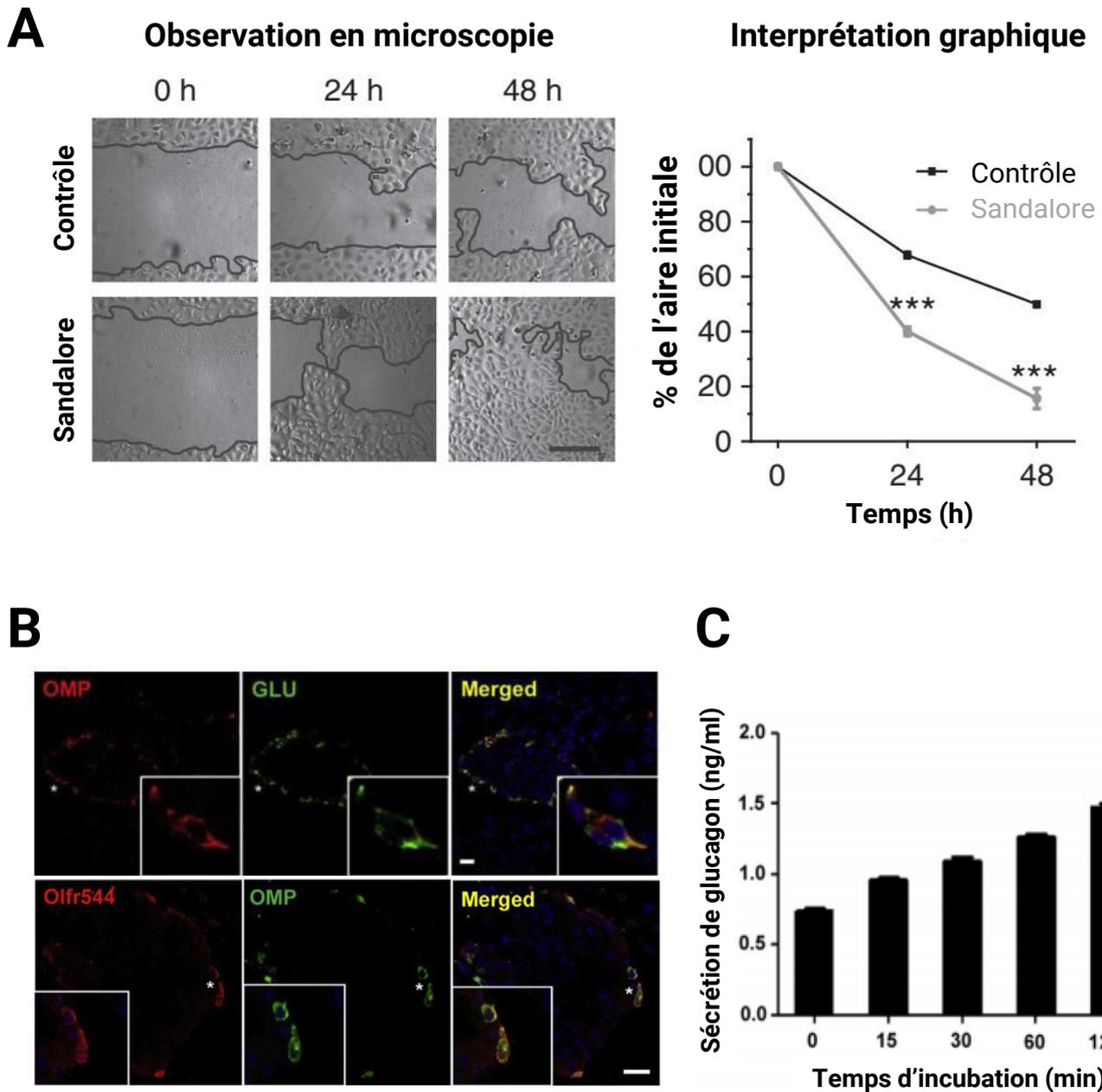
Au niveau de la peau humaine, on retrouve les transcrits *OR1J2*, *OR2K2* et *OR5E1P* (Feldmesser et al., 2006). Les ARNm des récepteurs *OR2AT4*, *OR5V1*, *OR6M1*, *OR6V1* et *OR11A1* sont exprimés par les kératinocytes et ceux de 10 autres récepteurs (*OR2D2*, *OR4N5*, *OR5C1*, *OR6K3*, *OR6T1*, *OR9G1*, *OR10A4*, *OR10H5*, *OR11H4* et *OR51E2*) sont exprimés par les mélanocytes humains. De plus, les formes protéiques d'*OR2A4/7*, *OR2AT4* et *OR51B5* y sont retrouvées (Busse et al., 2014; Gelis et al., 2016; Sondersorg et al., 2014; Tsai et al., 2017) (**Figure 21 A**). Par ailleurs, les protéines des récepteurs *OR2A4/7* et *OR2AT4* sont également exprimées chez l'homme au niveau des mélanocytes de l'épiderme et de la gaine radulaire externe des follicules pileux, respectivement (Chéret et al., 2018; Wojcik et al., 2018). Enfin, la protéine

OR51E2 est exprimée par les cellules pigmentaires de l'épithélium rétinien chez le fœtus et l'adulte humain (Jovancevic et al., 2017). Toujours chez l'homme, les transcrits de plusieurs récepteurs olfactifs (*OR1D2*, *OR1E1*, *OR2A1/42*, *OR2B2*, *OR2B6*, *OR2H1*, *OR7C1*, *OR7D2*, *OR51E1* et *OR51E2*) ont été identifiés au niveau des muscles squelettiques (Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013). Chez la souris, les transcrits de 14 récepteurs olfactifs (*Olf15*, *Olf16*, *Olf49*, *Olf66*, *Olf70*, *Olf71*, *Olf78*, *Olf155*, *Olf156*, *Olf157*, *Olf480*, *Olf1264* et *Olf1507*) sont exprimés par les myoblastes durant la myogenèse régénérative consécutive à une lésion (Griffin et al., 2009; Pavlath, 2010; Tong et al., 2018). Les transcrits des récepteurs *OR1L8*, *OR2A1/42*, *OR2A4/7*, *OR2B6*, *OR2W3*, *OR4D6*, *OR7D2*, *OR10J1*, *OR13A1*, *OR51E1*, *OR51E2* et *OR52N4* sont présents dans le tissu adipeux humain (Flegel et al., 2013).

Concernant les récepteurs phéromonaux, les ARNm *FPR1* et *FPR3* sont exprimés au niveau des muscles squelettiques humains et *Vmn2r29* et *Fpr2* sont faiblement retrouvés au même niveau chez la souris (Flegel et al., 2015; Kanageswaran et al., 2015).

### 3.3.3. Tractus gastro-intestinal

Chez l'homme, les transcrits de 13 récepteurs olfactifs (*OR1E1*, *OR2K2*, *OR5P2*, *OR5P3*, *OR6Q1*, *OR7A5*, *OR7C1*, *OR8B8*, *OR8D1*, *OR8D2*, *OR8D8*, *OR10A4* et *OR10A5*) ont été détectés au niveau de la langue fœtale et adulte (Durzyński et al., 2005; Gaudin et al., 2001). Seul le transcrit d'*Olf20* a été détecté chez la souris à ce niveau (Gaudin et al., 2006). La présence de 15 récepteurs olfactifs (*OR1A1*, *OR1E3*, *OR1G1*, *OR2A1/42*, *OR2A4/7*, *OR2L13*, *OR2W3*, *OR5D18*, *OR5K2*, *OR7A5*, *OR7C1*, *OR7D2*, *OR51B4*, *OR51B5*, *OR51E1* et *OR51E2*) a été détectée chez l'homme au niveau des cellules entéroendocrines et entérochromaffines de l'intestin et du côlon (Braun et al., 2007; Flegel et al., 2013; Leja et al., 2009; Morita et al., 2016; Weber et al., 2017). Chez la souris, l'expression de 28 récepteurs olfactifs a été détectée au niveau de l'intestin et du côlon (Bradford, 2016; Wu et al., 2017; Yuan et al., 2001). De plus, la protéine *Olf78* est exprimée au niveau des cellules entéroendocrines du côlon murin (Fleischer et al., 2015). Chez le cochon, la protéine du récepteur *OR51R1* est exprimée au niveau des cellules



**Figure 21. Rôles des récepteurs olfactifs sur la prolifération cellulaire et le métabolisme glucidique.**

A : Prolifération de kératinocytes humains, 24 et 48 heures après rupture de la monocouche cellulaire (test de scratch). Les kératinocytes expriment le récepteur olfactif OR2AT4 activé par le sandalore (bas, gris), qui accélère la prolifération cellulaire de manière significative. Barre d'échelle = 200  $\mu$ m (Busse et al., 2014).

B : Observation confocale de cellules  $\alpha$ -pancréatiques de souris. Haut : olfactory marker protein (OMP, rouge) et glucagon (GLU, vert). Bas : coexpression du récepteur olfactif murin Olf544 (rouge) et de l'OMP (vert). Les zones encadrées représentent un agrandissement des zones sélectionnées (astérisque blanc) dans chaque image. Barre d'échelle = 20  $\mu$ m.

C : Application d'acide azélaïque, agoniste d'Olf544, sur les cellules  $\alpha$ -pancréatiques. Ce composé provoque des réponses calciques dépendantes de la concentration, induisant une sécrétion de glucagon dépendante du temps d'incubation, suggérant ainsi l'implication d'Olf544 dans la sécrétion de glucagon par le pancréas (Kang et al., 2015).

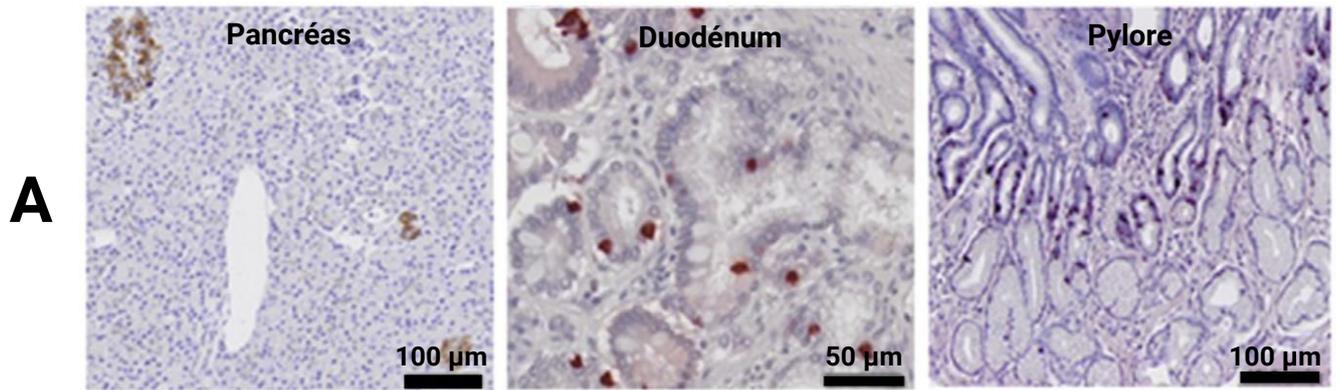
entéroendocrines de l'estomac, de l'intestin, du côlon et du rectum (Priori et al., 2015). Les transcrits de deux récepteurs olfactifs (*OR1J4* et *OR1Q1*) ont été trouvés au niveau pancréatique chez l'homme (Feldmesser et al., 2006). Chez la souris, 49 récepteurs olfactifs sont exprimés sous forme de transcrits au sein des îlots pancréatiques. Au niveau protéique, *Olf544* est exprimé au niveau des cellules  $\alpha$ -pancréatiques et *Olf15* et *Olf821* à celui des cellules  $\beta$ -pancréatiques (Kang et al., 2015b; Leem et al., 2018; Munakata et al., 2018) (**Figure 21 B**). *Olf15*, *Olf78* et *Olf544* sont exprimés en tant que transcrits dans le foie murin et seul *Olf78* n'y a pas été retrouvé au niveau protéique (Munakata et al., 2018; Wu et al., 2017; Yuan et al., 2001).

Concernant les récepteurs phéromonaux, chez l'homme seul *TAAR1* a été identifié sous forme de transcrit et de protéine au niveau des cellules  $\beta$ -pancréatiques, des cellules D de l'estomac et des cellules entérochromaffines de l'intestin (Raab et al., 2016; Revel et al., 2013) (**Figure 22 A-B**). L'expression de *Taar2* et *Taar6* a été reportée le long du tractus gastro-intestinal murin, particulièrement au niveau des cellules muco-sales duodénales (Ito et al., 2009). De plus, les ARNm des trois membres de la famille des FPR sont exprimés chez l'homme au niveau du côlon et du foie (Flegel et al., 2015). Au niveau hépatique chez la souris, des études transcriptomiques ont détecté *Fpr2* et, faiblement, 5 membres de la famille V1R ainsi que 2 membres de la famille V2R (dont *Vmn2r29*) (Kanageswaran et al., 2015; Zhang et al., 2010).

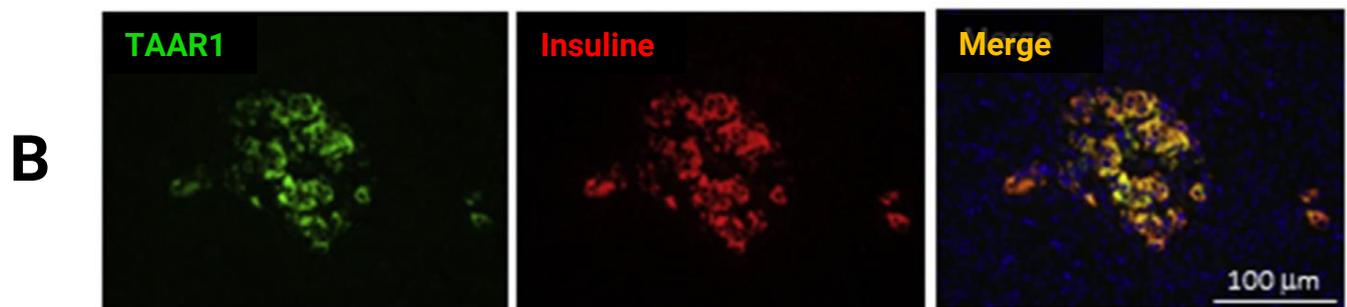
#### 3.3.4. Système cardiovasculaire

Chez l'homme, l'expression de 15 transcrits de récepteurs olfactifs (*OR2H2*, *OR2K2*, *OR3A3*, *OR4D6*, *OR7C1*, *OR8G5*, *OR9A1P*, *OR10AD1*, *OR10G4*, *OR10J5*, *OR13A1*, *OR51E1*, *OR51E2*, *OR52B6* et *OR52N4*) a été rapportée au niveau du cœur et 4 autres (*OR2M4*, *OR7D2*, *OR7E14P* et *OR12D3*) ont été localisés au niveau du nœud atrio-ventriculaire (Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013; Kim et al., 2015; Zhang et al., 2007). La forme protéique du récepteur *OR10J5* est exprimée chez l'homme au niveau des cellules endothéliales ombilicales (*Human Umbilical Vein Cells*, HUVEC), de l'aorte et de l'artère coronaire (Kim et al., 2015). Chez la souris,

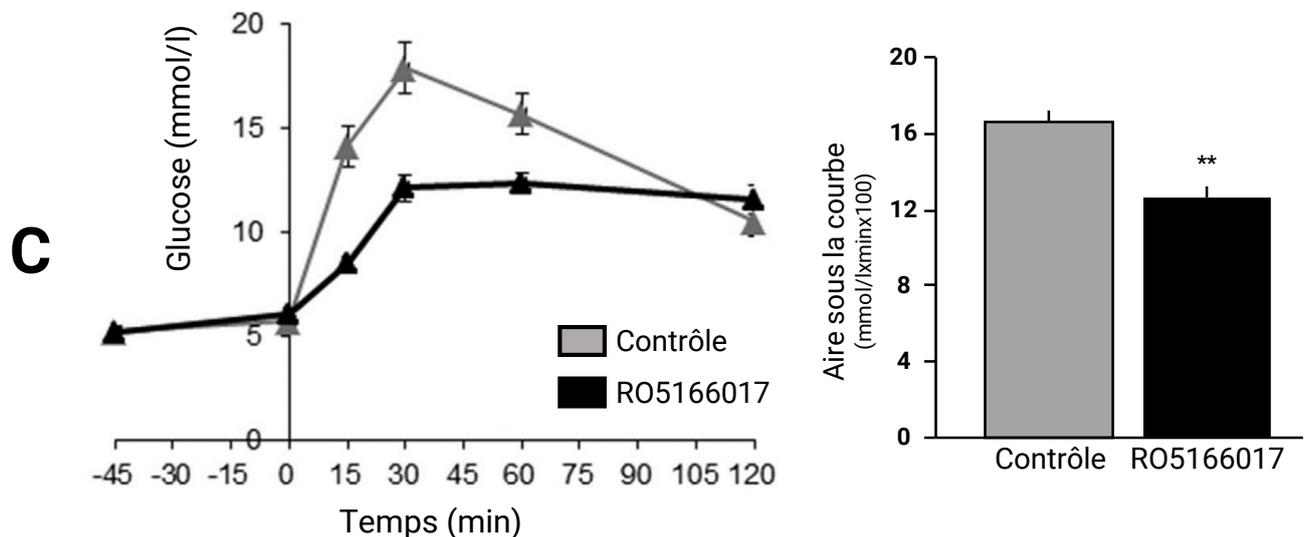
## Localisations «ectopiques» de TAAR1



## Expression de TAAR1 par les cellules $\beta$ -pancréatiques



## Rôle hypoglycémique de TAAR1



**Figure 22. Expression «ectopique» et rôle métabolique du récepteur TAAR1.**

A : Marquage immunohistochimique du récepteur TAAR1 dans le pancréas, le duodénum et le pylore humain.

B : Colocalisation de TAAR1 (vert) avec l'insuline (rouge) dans les îlots formés par les cellules pancréatiques  $\beta$  humaines en imagerie confocale.

C : Amélioration de la tolérance du glucose et réduction de la glycémie (histogramme) par une seule dose orale de RO5166017 (agoniste de TAAR1) chez des souris sauvages, après administration d'un bolus oral de glucose. Gris : souris contrôles, noir : souris ayant absorbé du RO5166017 (Raab et al., 2016).

les transcrits d'*Olf78* et *Olf544* ont été trouvés au niveau du cœur et au niveau du glomus carotidien, la présence d'*Olf78*, *Olf558*, *Olf613*, *Olf856-ps1* et *Olf1033* a été montrée (Chang et al., 2015; Kang et al., 2015a; Yuan et al., 2001). Le transcrit du récepteur *Olr1654* a été retrouvé au niveau du cœur chez le rat au stade embryonnaire (Drutel et al., 1995).

Une étude du transcriptome de souris a par ailleurs montré une expression de 3 membres de la famille V1R et de 2 membres de la famille V2R au niveau cardiaque (Zhang et al., 2010). *Taar1*, *Taar2*, *Taar3*, *Taar4* et *Taar8a* sont exprimés dans le cœur chez le rat (Chiellini et al., 2007).

### 3.3.5. Sang et système immunitaire

Chez l'homme, 71 transcrits de récepteurs olfactifs ont été détectés dans les érythrocytes de la fraction non sécrétée de plaquettes activées, ainsi qu'au niveau de différentes cellules immunitaires telles que les leucocytes, les monocytes, les lymphocytes B et NK et les granulocytes (Feingold et al., 1999; Flegel et al., 2013; Malki et al., 2015; Manteniots et al., 2016a, 2016b; Wijten et al., 2013; Zhao et al., 2013). L'expression de 10 transcrits (*OR2A1/42*, *OR2H2*, *OR3A2*, *OR3A3*, *OR5K2*, *OR10A2*, *OR13A1*, *OR51E1*, *OR51E2* et *OR52N4*) a été relevée au niveau des ganglions lymphatiques humains (Flegel et al., 2013). En revanche, chez la souris seul *Olf68* y a été détecté (Feingold et al., 1999). Seuls *OR51E2* et *Olf544* ont été identifiés sous forme de transcrits dans la rate chez l'homme et la souris, respectivement (Wu et al., 2017; Yuan et al., 2001). *OR7A17* et *OR10C1* sont exprimés dans la moelle osseuse humaine (Feldmesser et al., 2006). Au niveau de la thyroïde, chez l'homme l'expression de 21 récepteurs olfactifs est retrouvée et 7 sont exprimés chez la souris. Enfin, seul *OR4D1* est détectable dans le thymus chez l'homme, ainsi que *Olf39*, *Olf181*, *Olf325* et *Olf378* chez la souris (Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013; Kang et al., 2015a).

Tous les membres de la famille TAAR, et particulièrement TAAR1 et TAAR2, ont été identifiés sous forme de transcrits ou de protéines dans différentes cellules immunitaires humaines,

telles que les leucocytes, les lymphocytes NK, B et T, ou les monocytes (Babusyte et al., 2013; D'Andrea et al., 2003; Nelson et al., 2007; Sriram et al., 2016).

### 3.3.6. Voies respiratoires

Une étude transcriptomique a mis en évidence l'expression de 32 récepteurs olfactifs, ainsi que leurs partenaires canoniques de signalisation  $G\alpha_{olf}$  et  $AC3$ , au niveau de cultures de cellules épithéliales trachéo-bronchiques humaines.  $OR2F1$ ,  $OR2H3$  et  $OR2W1$  y ont également été retrouvés sous forme protéique (Gu et al., 2014). Les transcrits des récepteurs  $OR1J1$ ,  $OR1J2$ ,  $OR2A1$ ,  $OR6A2$  et  $OR51E2$ , ainsi que de leurs partenaires canoniques  $G\alpha_{olf}$  et  $AC3$  sont retrouvés au niveau des muscles lisses des voies aériennes humaines (Aisenberg et al., 2016). Une seconde étude a montré l'expression transcriptomique et protéique d' $OR2AG1$  et  $OR1D2$  à ce niveau (Kalbe et al., 2016).

Chez l'homme, les ARNm des trois membres de la famille des FPR ( $FPR1$  fortement), ainsi qu'une faible expression de  $VN1R1$  ont été détectés au niveau du poumon (Flegel et al., 2015; Rodriguez et al., 2000).

### 3.3.7. Cellules cancéreuses

Une étude examinant l'expression de récepteurs olfactifs dans près de 1 000 lignées cellulaires cancéreuses humaines a montré que 49,2% d'entre elles expriment au moins un gène codant pour un récepteur olfactif. De plus, 86% des cellules exprimant un récepteur olfactif produisent également les partenaires de transduction canonique du signal associé à ces récepteurs. Certaines lignées cancéreuses semblent surexprimer sélectivement un récepteur donné, à l'image d' $OR2C3$  dont la surexpression est spécifique des mélanomes. Par ailleurs, différents récepteurs peuvent être surexprimés dans de multiples lignées (Ranzani et al., 2017). L'expression du transcrit  $OR51E1$  est 100 fois plus importante au niveau de carcinomes gastro-intestinaux neuroendocrines (Cui et al., 2013; Leja et al., 2009). Ses niveaux transcriptomique et protéique sont tous deux augmentés en cas de cancer de la prostate ou du poumon

(Giandomenico et al., 2013; Wang et al., 2006; Weng et al., 2006). De même, *OR51E2* est surexprimé chez les personnes atteintes du cancer de la prostate (Ashida et al., 2004; Rodriguez et al., 2014; Xu et al., 2000). L'expression d'*OR2A1* est régulée en réponse à la chimiothérapie dans les cas de cancer des ovaires (L'Espérance et al., 2008). Des mutations ponctuelles de la séquence d'*OR2W3* sont associées à l'adénocarcinome pancréatique (Zhou et al., 2012). L'expression du long ARN non-codant *OR3A4* est associée à aux cas de cancers de l'estomac et du sein (Guo et al., 2016; Liu et al., 2017). Par ailleurs, plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines exhibent l'expression de récepteurs olfactifs. Les récepteurs *OR1A2* et *OR2A4* sont exprimés par les lignées HeLa (cancer du col de l'utérus), DU-145 (cancer de la prostate) et HCT-116 (cancer du côlon) (Zhang et al., 2012). Les cellules LNCaP issues du cancer de la prostate expriment les protéines *OR2A4/7*, *OR51E1* et *OR51E2* (Maßberg et al., 2016). Enfin, la lignée cancéreuse de leucémie myéloïde K562 exprime les transcrits *OR2AT4*, *OR2B6*, *OR2W3*, *OR51B4*, *OR51B5* et *OR52D1* (Manteniatis et al., 2016a).

Chez l'homme, l'expression de *TAAR1* a été reportée au niveau de cellules du cancer du sein et ses taux d'expression ont été corrélés au taux de survie (Vattai et al., 2017). Tous les membres de la famille FPR sont exprimés dans les tissus issus de cancer du poumon (Cattaneo et al., 2015). *FPR1* est associé aux cellules malignes de glioblastome, aux astrocytomes et aux neuroblastomes (Boer et al., 2013; Huang et al., 2010; Snapkov et al., 2016). L'expression de ce récepteur est aussi retrouvée dans les formes de cancer gastrique et colorectal (Cheng et al., 2014; Li et al., 2017). *FPR1* et *FPR2* sont trouvés dans les tissus épithéliaux de cancer ovarien (Xie et al., 2017).

### 3.3.8. Système nerveux

#### 3.3.8.1. Contexte physiologique

*Olr59* et son homologue *Olf78* ont été initialement identifiés au niveau du tronc cérébral ainsi que du cortex frontal, puis au niveau des neurones dans plusieurs ganglions du système nerveux autonome (Conzelmann et al., 2000; Raming et al., 1998; Weber et al., 2002) (**Figure 23 A**). Au sein du cerveau chez les espèces murines, les transcrits *Olr59* et *Olf78* ont été isolés au niveau cérébral chez le rat et la souris, respectivement (Yuan et al., 2001). *Olf15*, *Olf49* et *Olf151* sont exprimés au niveau des neurones pyramidaux des couches II et III du cortex cérébral (Otaki et al., 2004) (**Figure 23 B**). Par la suite, les transcrits *Olf110*, *Olf166*, *Olf287*, *Olf316*, *Olf544*, *Olf558*, *Olf883*, *Olf1344*, *Olf1505*, *Adcy3* et *Gnal* ont été retrouvés dans le cerveau chez la souris (Ansoleaga et al., 2013; Grison et al., 2014; Wu et al., 2017). La protéine *Olf15* a été détectée au niveau cérébral chez la souris (Munakata et al., 2018). De plus, l'expression de plusieurs transcrits de récepteurs (*Olr19*, *Olr476*, *Olr522*, *Olr540*, *Olr611*, *Olr806*, *Olr812*, *Olr1082*, *Olr1105*, *Olr1266* et *Olr1382*) et de leurs partenaires canoniques *Gnal*, *Adcy3* et *Cnga2* a été détectée au niveau des plexus choroïdes chez le rat. Les protéines *Olr19*,  $G\alpha_{olf}$  et *AC3* y ont par ailleurs été identifiées (Gonçalves et al., 2016). Enfin, le récepteur *COR7b* (*chicken olfactory receptor 7b*) est exprimé transitoirement dans la notochorde des embryons de poulet (Nef et Nef, 1997).

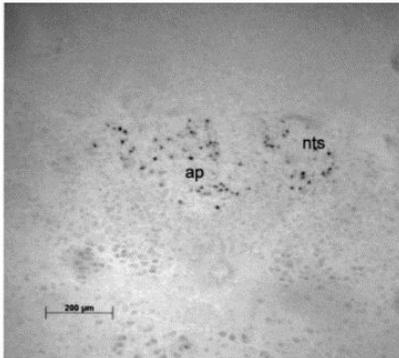
*OR51E2*, l'homologue humain du récepteur *Olf78* (souris) ou *Olr59* (rat), a également été retrouvé au niveau de la moelle allongée (Yuan et al., 2001). *OR5V1* et *OR8B8* sont exprimés au niveau du ganglion ciliaire et *OR2B6* au niveau du tronc cérébral humain (Feldmesser et al., 2006). De plus, l'expression de 20 récepteurs olfactifs (*OR1E1*, *OR2A4*, *OR2D2*, *OR2H2*, *OR2J3*, *OR2L13*, *OR2T1*, *OR2T33*, *OR4F4*, *OR4F17*, *OR4K15*, *OR6F1*, *OR6K3*, *OR8K5*, *OR10G8*, *OR11H1*, *OR51E1*, *OR52H1*, *OR52L1* et *OR52M1*) a été démontrée dans le cerveau humain, au niveau du cortex entorhinal, frontal et préfrontal, ainsi que dans la substance noire et le cervelet (Ansoleaga et al., 2013, 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013; Grison et al., 2014). Deux études

transcriptomiques ont montré l'expression de 30 récepteurs olfactifs supplémentaires dans le cerveau humain (Flegel et al., 2013, 2015). Les protéines codées par les gènes *OR2H2*, *OR2A4* et *OR6K3* sont exprimées par les neurones du cortex cérébral, du thalamus, du tronc cérébral et du cervelet (Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 23 C-H**). Chez l'homme, l'expression de la protéine OR6B2 est détectée au niveau des cellules satellites des ganglions de la racine dorsale (Flegel et al., 2015). La protéine  $G\alpha_{olf}$  est exprimée dans le striatum, où elle associe les récepteurs à la dopamine D1 et les récepteurs à l'adénosine A2a à l'activation de l'adénylate cyclase de type 5 (Corvol et al., 2001; Herve et al., 2001). Néanmoins, son expression n'est pas restreinte au striatum mais largement répandue au moins dans le cerveau humain. Le même constat est fait concernant l'expression de l'AC3 (Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Tableau 2**). Cependant, ces récepteurs peuvent s'associer à différents partenaires, puisqu'il a été montré *in vitro* que les récepteurs olfactifs se couplent indifféremment aux protéines  $G\alpha_{olf}$ ,  $G\alpha_s$  et  $G\alpha_{15/16}$  que l'on retrouve également dans le système nerveux central et périphérique (Kajiya et al., 2001). Ainsi, il est possible que différents composés activent différentes voies de signalisation *via* le couplage des récepteurs à différentes protéines G, pouvant donner lieu à une diversité de fonctions cellulaires.

Chez l'homme, une faible expression de *VN1R1* a été détectée au niveau du cerveau (Rodriguez et al., 2000). Les transcrits de récepteurs voméronasaux des familles V1r et V2r ont été identifiés dans le cerveau de souris dès le stade embryonnaire (Karunadasa et al., 2006). Une étude plus récente du transcriptome du cerveau de souris a précisé que 4 membres de la famille V1r et 5 membres de la famille V2r y sont exprimés (Zhang et al., 2010). Les ARNm des trois membres de la famille des FPR sont exprimés chez l'homme au niveau des ganglions trigéminaux, des ganglions des racines dorsales et du cerveau. L'expression de *FPR1* est particulièrement élevée au niveau du cerveau et des ganglions trigéminaux (Flegel et al., 2015). Au sein de la famille TAAR, *TAAR1* est distribué dans tout le système nerveux central ainsi que dans la moelle épinière chez plusieurs espèces, dont l'homme, et son expression a été

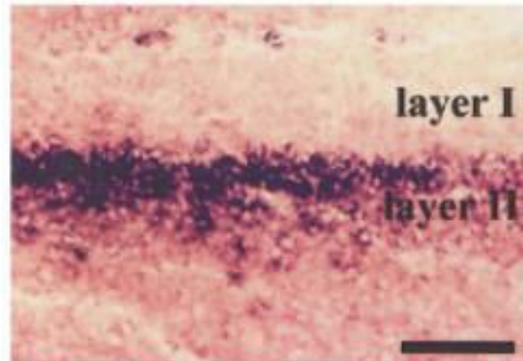
**Hybridation *in situ* d'Olfr564  
(moelle allongée, souris)**

**A**

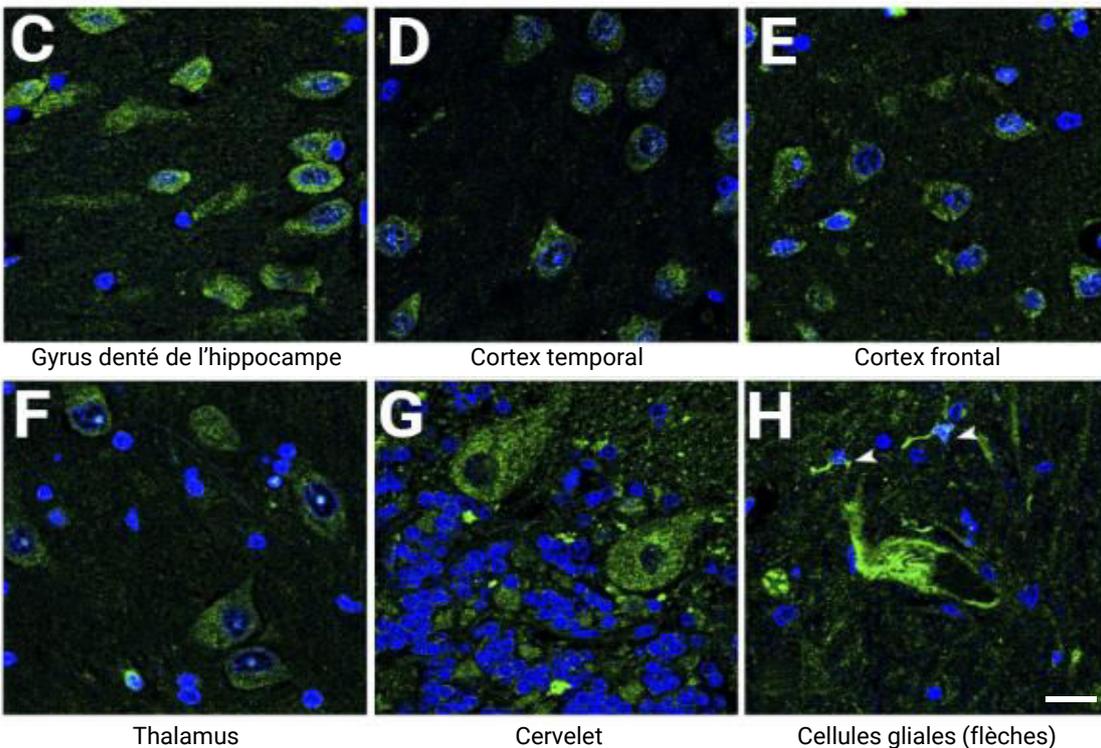


**Hybridation *in situ* d'Olfr151  
(cortex cingulaire, souris)**

**B**



**Marquage immunohistochimique d'OR6K3 chez l'homme**



**Figure 23. Expression cérébrale de récepteurs olfactifs.**

A : Hybridation *in situ* de la sonde antisens marquée à la digoxigénine spécifique de MOL8.17 (*alias* Olfr564) sur une section coronale de moelle allongée chez des souris. Les cellules réactives sont situées dans l'*area postrema* (ap) et dans le noyau du tractus solitaire (nts). Barre d'échelle = 200 µm (Conzelmann et al., 2000).

B : Hybridation *in situ* de la sonde antisens spécifique du récepteur olfactif M71 (Olfr151) sur des coupes de cerveau de souris. Au niveau du cortex cingulaire, des corps cellulaires ronds sont marqués, indiquant que les cellules M71-positives sont probablement des neurones pyramidaux, situés dans la couche II. Barre d'échelle = 100 µm (Otaki et al., 2004).

C-H : Observation confocale du marquage immunohistochimique neuronal du récepteur olfactif OR6K3 dans un cerveau humain. Ce récepteur est retrouvé au niveau du gyrus dentelé de l'hippocampe (C), du cortex temporal (D), du cortex frontal (E), du thalamus (F) et du cervelet (G). Le marquage se situe majoritairement au niveau du cytoplasme des neurones mais quelques cellules gliales sont marquées (têtes de flèches en H). Barre d'échelle = 20 µm (Garcia-Esparcia et al., 2014).

**Tableau 2. Récepteurs olfactifs exprimés dans le système nerveux central.**

Localisation	Type cellulaire	Espèce	Récepteurs et/ou partenaires de signalisation identifiés	Fonction putative	Techniques utilisées	Référence
Notochorde	-	Poulet (embryon)	Transcrit <i>COR7b</i>	-	PCR, southern blot, hybridation <i>in situ</i>	Nef et Nef, 1997
Moelle allongée (4 <sup>ème</sup> ventricule), cortex frontal	-	Rat	Transcrit <i>Ra1c (Olr59)</i>	-	PCR, northern blot, hybridation <i>in situ</i>	Raming et al., 1998
Moelle allongée ( <i>area postrema</i> , noyau du tractus solitaire)	Neurones	Souris	Transcrit <i>MOL2.3 (Olf78)</i> , <i>MOL8.17</i> , <i>MOL10.8</i>	-	PCR, séquençage, marquage X-gal (souris transgéniques), hybridation <i>in situ</i>	Conzelmann et al., 2000
Striatum	-	Souris	Protéine $G\alpha_{olf}$	Couplage des récepteurs dopaminergique D1 et à l'adénosine A2a à l'adénylate cyclase 5	Souris transgéniques ( <i>knock-out G<math>\alpha_{olf}</math></i> ), western blot	Corvol et al., 2001
Moelle allongée	-	Homme	Transcrit <i>PSGR (OR51E2)</i>	-	Clonage, séquençage, northern blot, RT-PCR	Yuan et al., 2001
Cerveau		Rat	Transcrit <i>Ra1c (Olr59)</i>			
		Souris	Transcrit <i>PSGR (Olf78)</i>			
Ganglions sympathiques et parasymphatiques (sphéno-palatin, cervico-crânial, cervico-thoracique, plexus cardiaque)	Neurones	Souris	Transcrit <i>MOL2.3 (Olf78)</i>	-	Marquage X-Gal (souris transgéniques), hybridation <i>in situ</i>	Weber et al., 2002
Cortex	Neurones	Souris	Transcrits <i>OR3 (Olf15, C6 (Olf49), M71 (Olf151))</i>	-	PCR, hybridation <i>in situ</i> , marquage X-Gal (souris transgéniques), immunohistochimie	Otaki et al., 2004
Tronc cérébral	-	Homme	Transcrit <i>OR2B6</i>	-	Microarray	Feldmesser et al., 2006
Ganglion ciliaire			Transcrits <i>OR5V1, OR8B8</i>			
Cortices frontal, entorhinal, cervelet	-	Homme	Transcrits <i>OR2D2, OR2L13, OR2T33, OR4F4, OR11H1, OR51E1, OR52L1</i>	-	RT-qPCR	Ansoleaga et al., 2013
Cortex		Souris	Transcrits <i>Olf110, Adcy3, Gnal</i>			
Cortex frontal	-	Homme	Transcrits <i>OR2D2, OR2J3, OR2L13, OR2T33, OR4F4, OR11H1, OR51E1, OR52L1</i>	-	Microarray, RT-qPCR,	Garcia-Esparcia et al., 2013
Cortices frontal, entorhinal, temporal inférieur et orbito-frontal, hippocampe, noyau oculomoteur, substance noire, noyaux pontiques et cellules de Purkinje			Neurones, peu de cellules gliales			

**Tableau 2 (suite). Récepteurs olfactifs exprimés dans le système nerveux central.**

Localisation	Type cellulaire	Espèce	Récepteurs et/ou partenaires de signalisation identifiés	Fonction putative	Techniques utilisées	Référence
Cerveau	-	Homme	Transcrits <i>OR1F12, OR1L8, OR2C1, OR2H2, OR2K2, OR2L13, OR2T8, OR2V1, OR2W3, OR3A2, OR3A3, OR4N4, OR5K2, OR7A5, OR7C1, OR7D2, OR10A2, OR10AD1, OR13A1, OR13J1, OR51E1, OR51E2, OR52N4</i>	-	Next-Generation Sequencing	Flegel et al., 2013
Cerveau			Transcrits <i>OR1K1, OR1L8, OR2K2, OR2L13, OR2W3, OR3A2, OR7A5, OR7C1, OR10AD1, OR13J1</i>			
Ganglions trigéminaux	-	Homme	Transcrits <i>OR1E1, OR1K1, OR1L8, OR2A1/42, OR2A4/7, OR2AT4, OR2K2, OR2L13, OR2T12, OR2T33, OR2W3, OR3A2, OR6B2, OR6B3, OR7A5, OR7C1, OR7E24, OR10AD1, OR13J1, OR51B6, OR51I1, OR51I2, OR51J1, OR51M1, OR51Q1, OR52B6, OR52I2, OR52K2, OR52N1, OR52N4</i>	-	Next-Generation Sequencing	Flegel et al., 2015
Ganglions des racines dorsales			Transcrits <i>OR1L8, OR2A1/42, OR2K2, OR2L13, OR2T12, OR2T33, OR2W3, OR3A2, OR6B2, OR6B3, OR7A5, OR7E24, OR52N4</i> , protéine <i>OR6B2</i>		Next-Generation Sequencing, immunohistochimie	
Substance noire	-	Homme	Transcrits <i>OR2D2, OR2J3, OR2L13, OR2T33, OR4F4, OR10G8, OR11H1, OR51E1, OR52L1</i>	-	NanoCAGE, PCR, RT-qPCR, hybridation <i>in situ</i>	Grison et al., 2014
	Neurones dopaminergiques	Souris	Transcrits <i>Olf166, Olf287, Olf316, Olf558, Olf883, Olf1344, Olf1505, Adcy3, Gnal</i>			
Cortex préfrontal dorsolatéral	-	Homme	Transcrits <i>OR2D2, OR2L13, OR2T1, OR2T33, OR4F4, OR6F1, OR10G8, OR51E1, OR52H1, OR52L1, OR52M1</i>	-	RT-qPCR	Ansoleaga et al., 2015
Ventricules cérébraux	Cellules épithéliales des plexus choroïdes	Rat	Transcrits <i>Olr19, Olr476, Olr522, Olr540, Olr611, Olr806, Olr812, Olr1082, Olr1105, Olr1266, Olr1382, Gnal, Adcy3, Cnga2</i> , protéines <i>Olr19, G<math>\alpha</math><sub>olfr</sub>, AC3</i>	Surveillance chimique de la composition du liquide céphalo-rachidien	RT-PCR, immunohistochimie, western blot, électrophysiologie, culture cellulaire, siRNA, imagerie calcique	Gonçalves et al., 2016
Cerveau	-	Souris	Transcrit <i>Olf544</i>	-	RT-qPCR	Wu et al., 2017
Cerveau	-	Souris	Protéine <i>Olf15</i>	-	Western blot	Munakata et al., 2018

suggérée au niveau des astrocytes humains (Borowsky et al., 2001; Cisneros et Ghorpade, 2014; Gozal et al., 2014; Lindemann et al., 2008). Dans le cerveau humain, l'expression du transcrit *TAAR6* est supérieure à celle de *TAAR1* et est localisée au niveau de l'amygdale, des ganglions de la base, du cortex frontal, de l'hippocampe et de la substance noire (Borowsky et al., 2001; Duan et al., 2004). De plus, une forte expression du transcrit *TAAR9* humain a été rapportée au niveau de l'amygdale et, plus fortement, au niveau de l'hypophyse (Borowsky et al., 2001; Vanti et al., 2003). Au niveau cérébral chez la souris, *Taar2* est retrouvé à de faibles niveaux et *Taar5* est exprimé dans l'amygdale et l'hypothalamus, où son expression est partiellement superposée à celle de *Taar1* (Dinter et al., 2015; Kanageswaran et al., 2015) (**Figure 24 A-B**). Enfin, *Taar5*, *Taar6* et *Taar8a* sont exprimés dans le cortex, le cervelet et la moelle épinière chez le rat (Chiellini et al., 2012; Gozal et al., 2014) (**Tableau 3**).

#### 3.3.8.2. Traumatismes et lésions du système nerveux

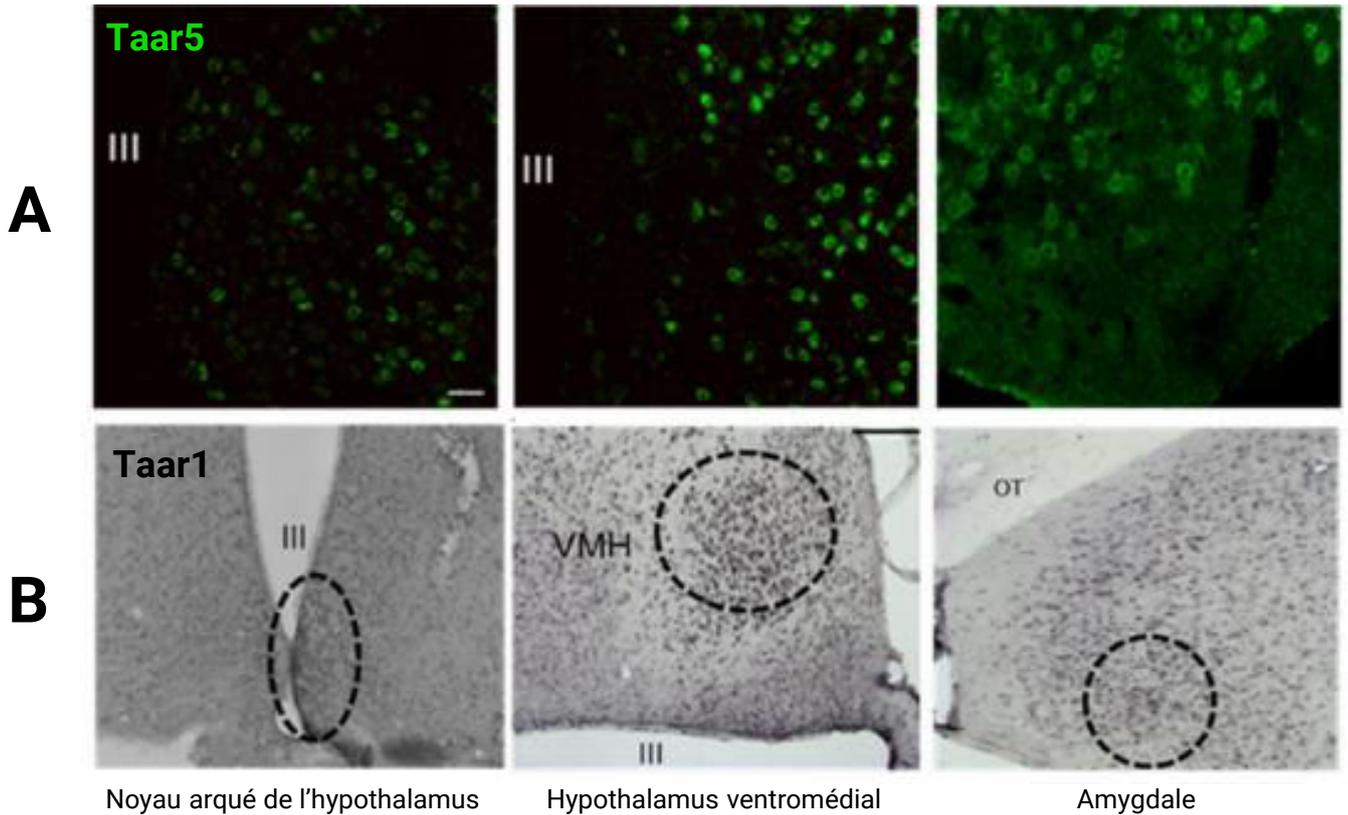
Chez des patients souffrant de traumatisme crânien, la sous-expression d'*OR11H1* et *OR4M1* a été corrélée à l'intensité du trauma et associée à la tauopathie induite après le choc (Zhao et al., 2013). L'expression d'un grand nombre de récepteurs olfactifs est, par ailleurs, dérégulée chez des rats ayant subi une lésion du nerf sciatique au niveau des ganglions de la racine dorsale (Gong et al., 2015; Li et al., 2013b). Chez les rats ayant subi un stimulus inflammatoire, l'expression de *Taar8* a été notée dans les astrocytes et la microglie (D'Andrea et al., 2012).

#### 3.3.8.3. Troubles mentaux

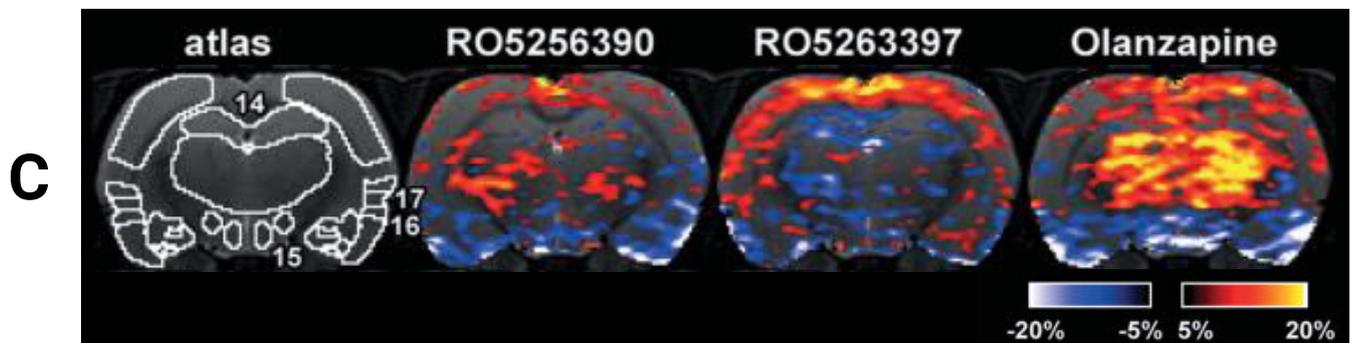
##### 3.3.8.3.1. Autisme

Les troubles du spectre autistique sont des désordres développementaux humains caractérisés par des difficultés de l'apprentissage social et de la communication ainsi que par des comportements stéréotypés. Au cours de travaux d'étude génomique globale, des polymorphismes d'un seul nucléotide ont été retrouvés sur plusieurs gènes de récepteurs olfactifs localisés au niveau du chromosome 11 chez des enfants présentant des troubles du

## Hybridation *in situ* des récepteurs Taar1 et Taar5 murins



## Visualisation IRM des effets de l'injection d'agonistes de Taar1



**Figure 24. Expression et rôles cérébraux des récepteurs Taar.**

A-B : Hybridation *in situ* fluorescente du récepteur Taar5 murin (A, vert) et colorée au DAB (3,3'-diaminobenzidine) du récepteur Taar1 murin (B, noir), au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus (gauche), de l'hypothalamus ventromédial (milieu) et de l'amygdale (droite). Barre d'échelle = 100  $\mu$ m (A) ou 200  $\mu$ m (B). «III» indique la localisation du 3<sup>ème</sup> ventricule cérébral, et «Ot» celle du tractus optique (Dinter et al., 2015).

C : IRM de cerveaux de rats ayant reçu du RO5256390 (agoniste total de Taar1), du RO5263397 (agoniste partiel de Taar1) ou de l'olanzapine (médicament anti-psychotique utilisé dans certaines formes de schizophrénie), après soustraction des signaux par rapport aux animaux ayant reçu une injection de véhicule. Le panneau de gauche montre l'atlas de référence neuro-anatomique utilisé pour la quantification du signal: 14 correspond à l'hippocampe, 15 à l'hypothalamus, 16 et 17 au cortex entorhinal. Les barres colorées en bas à droite indiquent les différences par rapport aux animaux contrôles (Revel et al., 2013).

**Tableau 3. Récepteurs phéromonaux exprimés dans le système nerveux central.**

Localisation	Type cellulaire	Espèce	Récepteurs et/ou partenaires de signalisation identifiés	Fonction putative	Techniques utilisées	Référence
Cerveau	-	Homme	Transcrit <i>VN1R1</i>	-	RT-PCR, southern blot	Rodriguez et al., 2000
Amygdale, hippocampe, hypothalamus, cervelet, formation réticulée, ganglions des racines dorsales	-	Homme	Transcrits <i>TAAR1</i> (toutes localisations), <i>TAAR6</i> (amygdale, hippocampe), <i>TAAR8</i> (amygdale)		RT-qPCR	
Cortices piriforme et frontal, pallidum, thalamus, hippocampe, noyaux hypothalamiques, septum, ganglions de la base, amygdale, noyaux du tronc cérébral, cervelet, moelle allongée, moelle épinière	Neurones (souris)	Souris	Transcrit <i>Taar1</i>	-	Hybridation <i>in situ</i>	Borowsky et al., 2001
Hypophyse	-	Homme	Transcrit <i>TAAR9</i>	-	Northern blot	Vanti et al., 2003
Ganglions de la base, cortex frontal, substance noire, amygdale, hippocampe	-	Homme	Transcrit <i>TAAR6</i>	-	RT-qPCR	Duan et al., 2004
Cerveau	-	Souris	Transcrits <i>V1r</i> , <i>V2r</i>	-	RT-PCR	Karunadasa et al., 2006
Hypothalamus, aire ventrale tegmentale, amygdale, noyaux du raphé dorsal et du tractus solitaire, hippocampe	-	Souris	Transcrit <i>Taar1</i>	Modulation de la neurotransmission dopaminergique et de l'activité locomotrice	Souris transgénique ( <i>knock-out</i> <i>Taar1</i> +LacZ), RT-PCR, histochimie, comportement	Lindemann et al., 2008
Cerveau	-	Souris	Transcrits <i>V1r</i> (4), <i>V2r</i> (5)	-	Microarray	Zhang et al., 2010
Cerveau	-	Souris	Transcrits <i>Taar1</i> , <i>Taar3</i>			
Cortex, matière blanche, cervelet	-	Rat	Transcrits <i>rTaar1</i> (sauf cervelet), <i>rTaar3</i> (sauf cervelet), <i>rTaar8a</i> , <i>rTaar9</i>	-	RT-qPCR	Chiellini et al., 2012
-	Astrocytes	Homme	Transcrit et protéine TAAR1	Clairance du glutamate	Cultures primaires (astrocytes), RT-qPCR, immunocytochimie, test de clairance du glutamate	Cisneros et Ghorpade, 2014
Moelle épinière	Neurones, motoneurones	Rat	Transcrits <i>rTaar1</i> , <i>rTaar2</i> , <i>rTaar3</i> , <i>rTaar4</i> , <i>rTaar5</i> , <i>rTaar6</i> , <i>rTaar7a</i> , <i>rTaar8a</i> , <i>rTaar9</i>	-	RT-PCR, hybridation <i>in situ</i>	Gozal et al., 2014
Noyau arqué, noyau ventromédial de l'hypothalamus, amygdale	-	Souris	Transcrits <i>Taar1</i> (sauf noyau arqué), <i>Taar5</i>	-	Hybridation <i>in situ</i>	Dinter et al., 2015
Ganglions trigéminaux et ganglions des racines dorsales	-	Homme	Transcrits FPR1, FPR2, FPR3	-	Next-generation sequencing	Flegel et al., 2015
Cerveau	-	Souris	Transcrit <i>Taar2</i>	-	RNA-seq	Kanageswaran et al., 2015

spectre autistique (St Pourcain et al., 2013). Une autre étude a relié ces troubles à des polymorphismes nucléotidiques au niveau de plusieurs gènes de la famille des récepteurs olfactifs de classe II, comme *OR2M3*, *OR2M4* et *OR2T5* (Kuo et al., 2015).

#### 3.3.8.3.2. Schizophrénie

Une altération de l'expression de certains récepteurs, notamment *OR2T1*, *OR2T33*, *OR51E1*, *OR52L1*, *OR52H1*, *OR2D2* et *OR10G8*, a été observée au niveau du cortex préfrontal de patients atteints de schizophrénie chronique (Ansoleaga et al., 2015).

#### 3.3.8.4. Maladies neurodégénératives

##### 3.3.8.4.1. Maladie de Parkinson et paralysie supranucléaire progressive

Des modifications de l'expression des récepteurs olfactifs ont été observées au niveau du cortex frontal chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Les ARNm *OR2L13*, *OR11H1*, *OR51E1* et *OR52L1* sont sous-exprimés dans l'ensemble des cas étudiés, *OR2J3* est uniquement sous-exprimé chez les hommes et *OR4F4* est spécifiquement surexprimé chez les femmes. Ces dérégulations d'expression, bien qu'ayant été observées *post-mortem*, semblent apparaître dès le stade 3 et se maintiennent au cours de la maladie (Garcia-Esparcia et al., 2013). De plus, au niveau de la substance noire, les transcrits *OR2L13*, *OR2T33*, *OR2J3*, *OR4F4*, *OR10G8*, *OR11H1* et *OR52L1* sont sous-exprimés chez des patients parkinsoniens. Cette sous-expression n'est pas due à la mort des neurones de cette structure car des T2R y sont surexprimés (Grison et al., 2014) (**Figure 25 D-E**).

L'analyse de l'expression des récepteurs olfactifs au niveau du cortex frontal de patients atteints de paralysie supranucléaire progressive a montré qu'*OR11H1*, *OR2D2*, *OR2L13*, *OR2T33*, *OR4F4*, *OR10G8* et *OR52L1* y sont surexprimés (Ansoleaga et al., 2013).

#### 3.3.8.4.2. Maladie de Creutzfeldt-Jakob

Au niveau cortical, les transcrits *OR2L13*, *OR4F4*, *OR51E1* et *OR52L1* sont sous-exprimés chez les patients MM1. *OR10G8* est surexprimé chez les patients VV2 tandis qu'*OR11H1* est sous-exprimé chez tous les patients. Au niveau du cervelet, *OR2D2* est surexprimé chez les patients MM1 et l'expression d'*OR4F4* et *OR51E1* est diminuée chez les deux sous-types de patients (Ansoleaga et al., 2013).

#### 3.3.8.4.3. Maladie d'Alzheimer

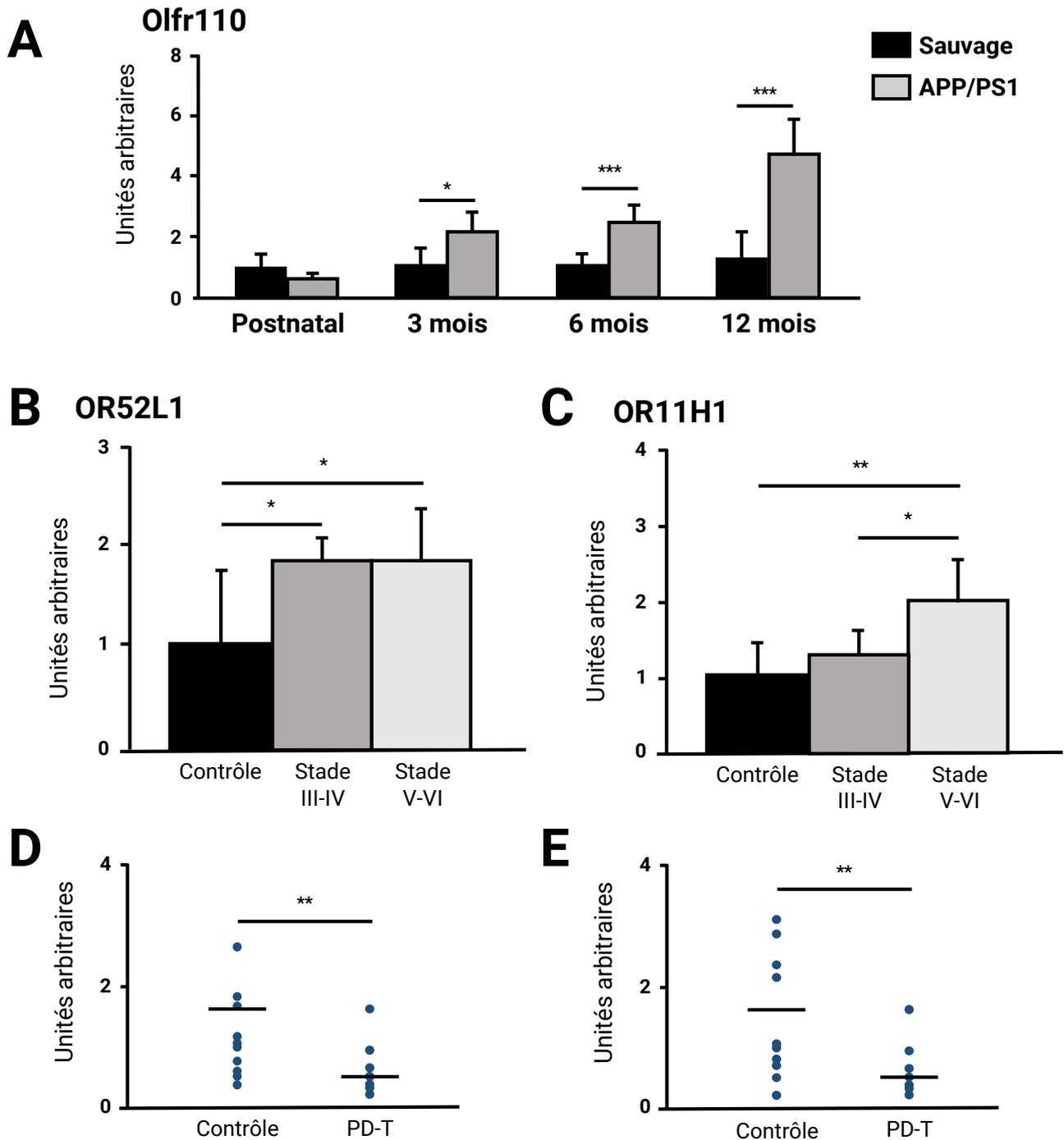
La création de modèles transgéniques de souris mimant la maladie d'Alzheimer a permis de montrer que le gène codant pour *Olf110* est surexprimé dans le cortex dès 3 mois chez la souris transgénique APP/PS1, et que son expression est accompagnée par celle de l'AC3 et de  $G\alpha_{olf}$ , suggérant une implication fonctionnelle de ce récepteur dans la pathologie (Ansoleaga et al., 2013) (**Figure 25 A**). Ce récepteur est également surexprimé au niveau de la microglie chez le modèle murin double transgénique Tau/APOE4, imitant la maladie d'Alzheimer à apparition tardive (Shi et al., 2017b). La maladie d'Alzheimer est en partie connue pour engendrer une neuroinflammation au niveau du tissu cérébral. Il est intéressant de constater que chez la souris, le gène *Olf110* est situé sur un locus du chromosome 17 contenant un grand nombre de gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, qui participe aux réponses immunitaires (Amadou et al., 2003). Par ailleurs, l'homologue humain d'*Olf110*, *OR5V1*, est également exprimé dans le cluster de gènes du CMH du chromosome 6 (Younger, 2001).

Chez l'homme, des dérégulations de l'expression des gènes de récepteurs olfactifs ont été identifiées au niveau des cortices frontal et entorhinal de patients présentant différents stades d'avancement de la maladie d'Alzheimer. *OR11H1* est surexprimé et *OR4F4* sous-exprimé dans le cortex entorhinal de patients de stade III-IV et V-VI, tandis qu'*OR10G8* est sous-exprimé chez les patients au stade tardif. Au niveau de leur cortex frontal, ces patients présentent une

surexpression d'*OR4F4* au stade III-IV et d'*OR52L1* aux stades III-IV et V-VI (Ansoleaga et al., 2013) (**Figure 25 B-C**).

### 3.3.9. Conclusion sur les récepteurs olfactifs et phéromonaux «ectopiques»

Les récepteurs olfactifs et phéromonaux dits «ectopiques» sont distribués dans tout le corps. Cependant, bien que les travaux de caractérisation des récepteurs olfactifs dans les tissus et organes périphériques soient avancés, peu de données concernent les récepteurs phéromonaux. En particulier, au niveau du système nerveux l'expression (en grande partie uniquement transcriptomique) de quelques récepteurs olfactifs a été identifiée dans différentes régions. Cependant ces informations, en comparaison des nombreuses études les décrivant dans les organes et tissus périphériques, restent largement superficielles et les raisons de la présence des récepteurs olfactifs au niveau du système nerveux, et en particulier du cerveau, restent un vrai mystère.



**Figure 25. Altération pathologique de l'expression cérébrale de récepteurs olfactifs.**

A : Surexpression de l'ARNm codant pour le récepteur olfactif Olf110 dans le cortex cérébral de souris modèles de la maladie d'Alzheimer (modèle APP/PS1, gris), comparées à des souris contrôles (noir) (adapté d'Ansoleaga et al., 2013).

B-E : Dérégulation de l'expression de plusieurs récepteurs olfactifs au niveau cérébral chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (B et C, adapté d'Ansoleaga et al., 2013) ou de Parkinson (D et E, adapté de Garcia-Esparcia et al., 2014), comparés à des patients contrôles. L'ARNm codant pour OR52L1 est surexprimé dans le cortex frontal de patients atteints de la maladie d'Alzheimer de stade III-IV (AD III-IV) et V-VI (ADV-VI) (B). L'ARNm d'OR11H1 est surexprimé dans le cortex entorhinal de patients atteints de la maladie d'Alzheimer de stade V-VI par rapport aux patients sains (C). Les niveaux d'expression d'OR52L1 (D) et d'OR11H1 (E) diminuent dans le cortex frontal de patients atteints de la maladie de Parkinson (PD-T).

## **Problématique**

Les chapitres développés précédemment ont permis d'établir le raffinement et la spécialisation des différents systèmes chimiosensoriels permettant la détection des goûts, des phéromones et des odorants. Cependant, ce concept de spécialisation est relatif puisque, comme nous l'avons vu, les différents récepteurs aux molécules gustatives, phéromonales et odorantes sont aussi exprimés dans une multitude de tissus et organes hors de la sphère bucco-nasale. En dehors des organes des sens ils assurent des rôles, chimiosensoriels ou non et peut-être cruciaux, aussi bien en conditions physiologiques que pathologiques. Comme nous venons de le voir, au niveau du système nerveux et en particulier du cerveau quelques-uns de ces acteurs ont été identifiés, mais la raison de leur expression centrale reste hypothétique. Ainsi, l'objectif principal de mes travaux de thèse était d'affiner et de compléter les connaissances générales sur l'expression centrale des chimiorécepteurs d'origine rhinolaryngée.

En particulier, j'ai voulu dans un premier temps effectuer une description complète de l'expression de ces différents récepteurs dans le cerveau humain sain, ce qui n'a jamais été fait auparavant. Par la suite, mon travail s'est focalisé sur la famille des récepteurs olfactifs chez la souris. Ce modèle offre l'opportunité de réaliser des études plus poussées au niveau transcriptomique et protéomique, dans un contexte physiologique (souris sauvage) ou pathologique (souris transgénique 5xFAD, mimant la maladie d'Alzheimer). Mes travaux de thèse ont visé à répondre à trois grandes questions à propos des récepteurs olfactifs cérébraux :

- > Quand sont-ils exprimés ? Les niveaux de leurs transcrits varient-ils au cours de la vie, lors du vieillissement cérébral normal ? L'apparition d'une neuropathologie impacte-t-elle leur cinétique d'expression ?

- > Quels sont les types cellulaires cérébraux les exprimant ? Les retrouve-t-on au niveau protéique dans le cerveau ? Si oui, leur expression protéique est-elle homogène au sein du tissu cérébral, ou spécifique à une population cellulaire ? La pathologie modifie-t-elle cette expression ?
- > Quelles sont leurs fonctions ? Sont-ils, à l'image des récepteurs olfactifs du reste du corps, impliqués dans des fonctions physiologiques ? Ou au contraire, contribuent-ils particulièrement à des ruptures de l'homéostasie responsables de l'aggravation temporelle de neuropathologies telles que la maladie d'Alzheimer ?

## 1. Récepteurs rhino-laryngés et cerveau humain

Les connaissances concernant les récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs au niveau du cerveau humains sont minces. Mon objectif a été de dresser un profil d'expression exhaustif de ces différents chimiorécepteurs dans la totalité des régions cérébrales humaines. Ce travail a été permis par l'exploitation d'une base de données accessible et ouverte en ligne, l'Allen Brain Atlas (<https://www.brain-map.org>), qui met à disposition des chercheurs les résultats d'analyse de l'expression transcriptomique de plusieurs cerveaux humains. Ce travail a permis la rédaction d'un article, « *The Human Brain Smells and Tastes the Self : Lessons from the Allen Brain Atlas* », qui est actuellement soumis à *Scientific Reports*. Il est inséré dans la suite de ce manuscrit.

### 1.1. Familles de chimiorécepteurs cérébraux

Dans un premier temps, l'objectif a été de déterminer quelles familles de récepteurs chimiosensoriels d'origine rhino-laryngée sont exprimées dans le cerveau humain et, *a fortiori*, si l'ensemble des gènes les composant sont exprimés, ou si seule une partie de ces familles est retrouvée dans le cerveau. J'ai donc analysé systématiquement l'expression de ces différents gènes rapportée par l'Allen Brain Institute grâce à l'emploi de puces à ADN.

## 1.2. Expression régionale des chimiorécepteurs rhino-laryngés

Par la suite, je me suis penchée sur la répartition cérébrale de l'expression de ces familles de récepteurs. L'objectif est de déterminer si leur expression est spécifique d'une partie du cerveau en particulier, ou s'il existe une forme «d'éventail» de régions cérébrales favorisant l'expression d'une famille donnée. Pour ce faire, nous avons quantifié au niveau de plus de cent aires cérébrales l'expression de tous les gènes des familles des récepteurs gustatifs de type 1, aux amines traces, voméronasaux et aux peptides formylés. En raison du grand nombre de gènes humains appartenant aux deux classes de récepteurs olfactifs (396 gènes, 425 pseudogènes) et aux récepteurs gustatifs de type 2 (25 gènes, 11 pseudogènes), j'ai limité mon étude à 10 membres de chaque famille. En parallèle, j'ai effectué la même analyse à propos de leurs principaux partenaires de transduction canonique afin de pouvoir émettre l'hypothèse de la fonctionnalité potentielle de ces récepteurs.

## 1.3. Variation liée à l'âge, aux troubles mentaux, ou aux lésions

Enfin, à l'image de la majorité des études s'étant intéressées à l'expression cérébrale des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée, j'ai voulu déterminer si l'âge (donc le vieillissement physiologique), les troubles mentaux et les traumatismes crâniens influencent leur expression. Les données de l'Allen Brain Atlas documentent l'expression génétique de 6 cerveaux humains exempts de toute altération pathologique, mais d'âge variable : 24 ans, 31 ans, 39 ans, 49 ans, 55 ans et 57 ans. Ainsi l'étude des variations d'expression des chimiorécepteurs liées à l'âge est possible en comparant les expressions dans chaque cerveau. Par ailleurs, un autre ensemble de données mises à disposition par le même institut offre la possibilité d'analyser l'expression génétique chez des sujets atteints de démence et/ou ayant subi un traumatisme crânien. Nous avons donc pu chercher à voir si ces deux conditions, cette fois pathologiques, influençaient également l'expression des différentes familles de récepteurs chimiosensoriels.

## 2. Les récepteurs olfactifs cérébraux en conditions physiologiques et pathologiques

Le second aspect de mon travail de thèse a visé à caractériser et à proposer pour la première fois un ou des rôles aux récepteurs olfactifs exprimés de façon ectopique dans le cerveau. Ayant été décrits dans plusieurs contextes physiopathologiques présentés antérieurement, il est tentant de penser que ces récepteurs sont impliqués et pourraient éventuellement représenter de nouvelles cibles thérapeutiques. Ce travail a donc été focalisé sur l'étude des récepteurs olfactifs cérébraux au cours du vieillissement normal (souris saines) et pathologique (souris imitant la maladie d'Alzheimer). Ces modèles, contrairement à l'homme, permettent l'analyse fine de différents paramètres d'expression des transcrits et des protéines (détaillés dans les parties suivantes), à des âges sélectionnés. Cette étude a donné lieu à la publication d'un article, « *Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice* », dans la revue *Molecular Neurobiology*.

### 2.1. Expression génétique

Au sein de l'équipe, une étude transcriptomique d'échantillons de cortex et d'hippocampe de souris 5xFAD, modèles de la maladie d'Alzheimer, comparées à des souris sauvages a permis de révéler l'expression de nombreux transcrits de récepteurs olfactifs au niveau cérébral. Celle-ci est modulée selon l'âge et/ou l'évolution de la pathologie (Landel et al., 2014). Le modèle murin 5xFAD présente 5 mutations des gènes de la protéine précurseur du peptide amyloïde (*Amyloid precursor protein, APP*) et de la préséniline 1 (*PSEN1*), retrouvées chez les patients humains atteints de la forme familiale de la maladie d'Alzheimer. Ces mutations entraînent une pathologie amyloïde agressive démarrant dès l'âge de 2 mois et caractérisée par une accumulation rapide de plaques amyloïdes menant à la dégénérescence des cellules neurales et des synapses (Oakley et al., 2006).

Je me suis ainsi focalisée dans un second temps sur la famille des récepteurs olfactifs et en particulier sur deux d'entre eux, chez des souris sauvages et des souris transgéniques 5xFAD. Notre choix s'est porté sur *Olf544*, surexprimé dans le cortex et l'hippocampe des souris 5xFAD de 9 mois, et sur *Olf110/111*. Bien qu'aucune variation de l'expression de ce dernier n'ait été constatée lors de notre étude transcriptomique, sa surexpression a été démontrée dans deux autres modèles murins de la maladie d'Alzheimer. Chez les souris APP/PS1, il est surexprimé au niveau du cortex dès trois mois (Ansoleaga et al., 2013). *Olf110* est aussi surexprimé par les cellules microgliales provenant de souris double transgéniques Tau/APOE4, un modèle reproduisant la tauopathie de la maladie d'Alzheimer et surexprimant l'isoforme E4 de l'apolipoprotéine E (principal facteur de risque de la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer), dont l'inflammation a été induite *in vitro* avec du LPS (Shi et al., 2017b). J'ai donc voulu mettre en évidence la cinétique d'expression cérébrale de ces deux candidats durant le vieillissement de 4 à 12 mois en utilisant la technique de RT-qPCR. La comparaison des niveaux d'expression des récepteurs olfactifs entre les souris reproduisant un vieillissement cérébral normal (sauvages) ou pathologique (modèle 5xFAD), a permis de déterminer leur implication potentielle dans des phénomènes physiopathologiques.

## 2.2. Expression protéique

Par la suite, j'ai cherché à déterminer s'il existe une expression protéique d'*Olf110/111* et *Olf544* et, si tel est le cas, quels sont les types cellulaires cérébraux porteurs de cette expression, en utilisant la technique d'immunohistochimie sur des coupes de cerveaux provenant des deux groupes de souris précédemment cités, d'âges différents.

Il existe, dans le cerveau, au moins 6 types cellulaires : astrocytes, neurones, oligodendrocytes, cellules microgliales et cellules endothéliales. À l'image de l'expression des récepteurs au niveau des neurones olfactifs, notre hypothèse était que les récepteurs candidats sont exprimés par les neurones, sans exclure leur production éventuelle par d'autres types

cellulaires, particulièrement en conditions pathologiques. La résolution de ces questions nous permettrait d'établir des hypothèses plus avancées sur les raisons fonctionnelles de l'expression de ces chimiorécepteurs d'origine faciale, avec un potentiel thérapeutique.

#### 2.2.1. Expression neuronale

Les neurones sont les unités fonctionnelles de base du système nerveux. Ils communiquent entre eux et sont impliqués dans le processus de neurogenèse permettant la réparation des réseaux neuronaux du système nerveux central. Une expression de récepteurs au niveau neuronal pourrait les impliquer dans les phénomènes de neurotransmission, de neurogenèse ou de régénération. En effet, lors du développement ou suite à une perte neuronale pathologique, ils pourraient servir de molécules de guidage des neurones néoformés jusqu'à leur destination finale. Ce rôle a d'ailleurs été décrit pour certains récepteurs ectopiques, comme expliqué précédemment. Ces récepteurs pourraient éventuellement détecter des petites molécules endogènes cérébrales ou ayant traversé la barrière hémato-encéphalique, et ainsi surveiller l'environnement cellulaire du neurone. De plus, ces récepteurs pourraient détecter des molécules telles que des neurotransmetteurs, des neuromodulateurs, des neurohormones ou des gliotransmetteurs, permettant au neurone de s'adapter et communiquer avec son environnement en l'impliquant dans des boucles de régulation autocrines ou paracrines.

#### 2.2.2. Expression astrocytaire

Les astrocytes assurent une diversité de fonctions, participant au maintien de la barrière hémato-encéphalique, régulant le flux sanguin, assurant la nutrition cérébrale, concourant au métabolisme énergétique du système nerveux et contribuant à la neurotransmission. Les astrocytes jouent également un rôle dans la défense immunitaire, la réparation et la cicatrisation du cerveau en cas de neuropathologie ou de lésion. Ils assurent une forme de communication basée sur des vagues calciques et peuvent libérer des gliotransmetteurs. Des

récepteurs olfactifs astrocytaires pourraient, en réponse à des neurotransmetteurs, participer à la régulation de la communication synaptique ou des vagues calciques. Au niveau des pieds astrocytaires, en relation avec les vaisseaux sanguins, les récepteurs pourraient faciliter la capture de certains nutriments.

#### 2.2.3. Expression microgliale

La microglie forme la principale défense immunitaire active du système nerveux central. Elle sécrète des cytokines à rôle anti-inflammatoire mais également des protéines et des radicaux libres pouvant aggraver les lésions. Au niveau de ces cellules, les récepteurs olfactifs pourraient être impliqués dans les processus inflammatoires en étant activés par des molécules inflammatoire et influant sur la libération de cytokines (et *vice-versa*). Par exemple, dans le cas de la maladie d'Alzheimer, le peptide  $\beta$ -amyloïde représenterait un bon candidat d'activation des récepteurs olfactifs microgliaux.

#### 2.2.4. Expression oligodendrocytaire

Les oligodendrocytes sont des cellules gliales de soutien, qui possèdent un rôle dans la myélinisation des axones neuronaux, permettant de les isoler et de les protéger mais également d'augmenter la vitesse de propagation des messages électriques neuronaux. L'expression de récepteurs oligodendrocytaires pourrait influencer la vitesse de transmission neuronale, la formation des gaines de myéline lors du développement cérébral ou la remyélinisation des axones, en cas de neuropathologie ou de lésion cérébrale.

#### 2.2.5. Expression endothéliale

Les cellules endothéliales forment les vaisseaux et capillaires sanguins et sont reliées par des jonctions serrées empêchant les molécules de passer entre les cellules et participant à la constitution de la barrière hémato-encéphalique. À ce niveau, des récepteurs olfactifs pourraient justement être impliqués dans la constitution et le maintien de cette barrière ou à sa réparation en cas de dommages.

# **Publications**

## **Article 1**

### **The Brain Smells and Tastes the Self: Lessons from the Allen Brain Atlas**

**Gaudel F.**, Vergez A., Guiraudie-Capraz G.\*, Féron F.\*

*Soumis : Scientific Reports.*

#### **1. Contexte et objectifs**

Chez les mammifères, la sphère rhino-laryngée comporte le nez et les sinus, la bouche, la langue, le larynx et la trachée. L'expression de chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée et appartenant aux familles des récepteurs gustatifs, phéromonaux (TAAR, VNR, FPR) et olfactifs a été décrite dans de nombreux tissus et organes humains, comme au niveau du tractus gastro-intestinal, des testicules, des poumons ou du cœur (Braun et al., 2007; Drutel et al., 1995; Gu et al., 2014; Parmentier et al., 1992). Cependant, cette description est souvent incomplète, se limitant à leur étude dans un seul tissu ou décrivant seulement quelques représentants de chaque famille de chimiorécepteurs. Cette assertion est particulièrement vraie à propos du cerveau, à propos duquel très peu d'informations ont été recueillies.

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, les récepteurs gustatifs sont exprimés dans 7 zones cérébrales chez l'homme et les murins où aucune fonction ne leur a été assignée en dehors des T1R hypothalamiques, qui réguleraient le métabolisme glucidique (Dehkordi et al.,

2012; Flegel et al., 2013, 2015; Ren et al., 2009; Singh et al., 2011; Tomás et al., 2016) (**Figure 19 et Tableau 1**). Concernant les récepteurs phéromonaux, quelques études ont décrit l'expression cérébrale de membres de la famille VNR et FPR chez l'homme et la souris (Flegel et al., 2015; Karunadasa et al., 2006; Rodriguez et al., 2000; Zhang et al., 2010). L'expression de *TAAR1* a été extensivement décrite au niveau du système limbique, mais celle d'autres transcrits de cette famille n'a été que superficiellement observée chez l'homme et les murins (Borowsky et al., 2001; Chiellini et al., 2012; Dinter et al., 2015; Duan et al., 2004; Gozal et al., 2014; Kanageswaran et al., 2015; Vanti et al., 2003) (**Tableau 3**). Enfin, l'expression de transcrits de récepteurs olfactifs a été brièvement décrite au niveau de 12 zones cérébrales chez l'homme et les murins (Ansoleaga et al., 2013; Conzelmann et al., 2000; Feldmesser et al., 2006; Flegel et al., 2013, 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013; Grison et al., 2014; Munakata et al., 2018; Otaki et al., 2004; Weber et al., 2002; Yuan et al., 2001). Seules 4 protéines de cette famille ont été identifiées dans le système nerveux humain (Flegel et al., 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 23 et Tableau 2**).

Les études les plus poussées dans ce domaine font état de l'expression cérébrale de chimiorécepteurs appartenant aux familles des récepteurs olfactifs et gustatifs. Ces travaux sont basés sur la comparaison de leurs expressions au sein de 5 aires cérébrales entre des cerveaux d'individus sains et ceux de patients atteints d'une neuropathologie (maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt-Jakob, paralysie supranucléaire progressive, schizophrénie) (Ansoleaga et al., 2013, 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 25**). Il nous est donc apparu essentiel de réaliser une étude permettant d'élargir le champ des connaissances sur leur expression dans l'encéphale. L'objectif de ce premier article est donc de donner un aperçu, le plus exhaustif possible, de l'expression cérébrale humaine de toutes les familles de chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée, ainsi que de leurs partenaires canoniques de signalisation intracellulaire.

## 2. Méthodes

Pour effectuer ce travail, nous avons tiré parti de la banque de données librement accessible de l'Allen Brain Institute (<http://portal.brain-map.org>). L'*Allen Human Brain Atlas* est une ressource en ligne accessible au public contenant des informations sur l'expression des gènes dans le cerveau humain. Elle est composée de plusieurs ensembles de données provenant de projets visant à caractériser l'expression génique dans les tissus humains à l'aide de diverses techniques (microarrays d'ADN, séquençage de l'ARN, hybridation *in situ*). L'expression de chaque gène y est analysée et accompagnée de données anatomiques et histologiques.

Les données de base de cette étude ont été obtenues à partir de cerveaux de 6 individus adultes, atteints d'aucune pathologie avérée et d'âge, d'ethnie et de sexe différents (5 hommes et 1 femme). Nous avons extrait les données d'expression des chimiorécepteurs appartenant aux familles des récepteurs olfactifs de classes I et II, des récepteurs gustatifs de type 1 et 2 et des récepteurs phéromonaux (TAAR, VNR et FPR), ainsi que de leurs partenaires de signalisation, au niveau de 97 régions représentant 13 aires cérébrales principales. L'immense étendue des données à traiter nous a contraints à limiter notre étude à un seul cerveau, celui d'un homme caucasien d'âge moyen (31 ans). Cela nous a permis de dresser des cartes exhaustives de l'expression génique de chaque famille dans le cerveau humain adulte. Nous avons tout de même exploré la possibilité d'une variation associée à l'âge de l'expression des chimiorécepteurs, en examinant les données d'expression de deux gènes codant pour un récepteur olfactif et un récepteur gustatif entre les cerveaux de cinq hommes d'âge et d'ethnie différents (afro-américain de 24 ans, caucasien de 31 ans, afro-américain de 39 ans, caucasien de 55 ans et caucasien de 57 ans). Cependant, nous n'avons pas réalisé de comparaison inter-sexe de l'expression des gènes codants pour les chimiorécepteurs car les données n'étaient disponibles que pour un seul cerveau féminin. Par ailleurs, afin de déterminer si un évènement neuropathologique pouvait altérer l'expression des chimiorécepteurs, comme décrit précédemment (Ansoleaga et al., 2013, 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013), nous avons

comparé l'expression des transcrits codant pour des chimiorécepteurs dans 50 cerveaux de personnes saines et 50 cerveaux de patients déments et/ou ayant subi un traumatisme crânien.

### **3. Résultats et conclusion**

À notre connaissance, cette étude est la première à avoir procédé à l'évaluation et à la quantification de l'expression cérébrale de très nombreux transcrits de toutes les familles de chimiorécepteurs connues. L'examen comparatif des données de l'*Allen Brain Atlas* permet de démontrer que la plupart, sinon tous les gènes codant pour les chimiorécepteurs – TASR, TAAR, VNR, FPR – sont exprimés, même à de faibles niveaux, dans le système nerveux central humain. De plus, cette étude permet de révéler que les récepteurs olfactifs, gustatifs et phéromonaux sont exprimés principalement dans le système limbique, composé de structures jouant un rôle important dans le comportement, notamment l'agressivité, la peur, le plaisir ou encore la formation de la mémoire. Les gènes codant pour leurs partenaires canoniques de signalisation sont également largement transcrits dans le cerveau humain. Enfin, des variations interindividuelles sont observées pour l'expression de certains chimiorécepteurs, mais aucune différence significative n'est trouvée lors de la comparaison des cerveaux de patients déments ou ayant subi un traumatisme à ceux d'individus contrôles.

On peut conclure que les transcrits des chimiorécepteurs sont présents dans le cerveau humain et qu'ils pourraient y être fonctionnels s'ils sont exprimés au niveau protéique, puisque les transcrits de leurs partenaires canoniques y sont également présents. C'est la première fois que l'expression d'un très grand nombre de gènes codant pour des chimiorécepteurs et leurs partenaires est mise en lumière dans l'intégralité du cerveau humain. C'est également la première démonstration que leur expression est particulièrement forte dans le système limbique.



# Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice

Fanny Gaudel<sup>1</sup> · Delphine Stephan<sup>1</sup> · Véréna Landel<sup>1</sup> · Gilles Sicard<sup>1</sup> · François Féron<sup>1</sup> · Gaëlle Guiraudie-Capraz<sup>1</sup>

Received: 18 January 2018 / Accepted: 26 June 2018  
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

## Abstract

A growing number of studies report the expression of olfactory receptors (ORs) in many non-chemosensory tissues and organs. However, within the brain, very few ectopic ORs are exhaustively documented. Their kinetic expression, cellular localization, and functions remain elusive. Using cDNA microarrays, quantitative PCR, and immunohistochemistry, we studied the cellular and sub-cellular localization of Olfr110/111 and Olfr544 and their timely expression in various brain areas of wild-type and transgenic Alzheimer's disease-like (5xFAD) mice. We observed that Olfr110/111 and Olfr544 proteins are mainly expressed by neurons in cortical and hippocampal regions and, to a lesser extent, by astrocytes, microglia, oligodendrocytes, and endothelial cells. In addition, both ORs are present at the cell membrane and co-expressed with the olfactory G $\alpha$ olf protein, suggesting that they can be functional. Remarkably, we also found that the expression of the mRNA encoding for Olfr110/111 tends to increase with age in both the cortex and hippocampus of wild-type and transgenic mice. Moreover, *Olfr110/111* transcript expression is markedly impaired in the brain of Alzheimer's disease-like mice. A different profile is noticed for *Olfr544*, for which an overexpression is observed only in the cortex of 9-month-old animals. In addition, in transgenic mice, olfactory receptors are observed near amyloid plaques. Altogether, our findings indicate that ORs may play a role in brain functioning, in normal and pathological conditions.

**Keywords** Olfactory receptors · Alzheimer's disease · Neurons · Aging · Hippocampus · Cortex

## Introduction

At the time of their very first identification, nasal olfactory receptors (OR) were described as “seven transmembrane domain proteins whose expression is restricted to the olfactory epithelium” [1]. However, during the following decade, “ectopic” ORs were reported to be expressed in rodent and human non-chemosensory tissues and organs, including testis [2–12], spermatozoa midpiece and flagella [13, 14], lung [15–17], skin [18–20], kidney [6, 21, 22], pancreas [23], and a variety of other body parts [24–27]. The

presence of such receptors in non-olfactory tissues prompted a vivid interest, and numerous studies focused on the elucidation of their roles in major cellular functions. For example, it has been demonstrated that ORs are involved in glucose homeostasis [23], keratinocyte proliferation and migration [18], detection of irritants in pulmonary neuroendocrine cells [16], myocyte adhesion and migration [28], melanogenesis [19], gut motility [29], renal secretion of renin [30], and spermatozoa motility [31]. In the central nervous system, PCR, microarray, and next-generation sequencing studies revealed the expression of numerous genes encoding for human, rat, and mouse ORs [32–38]. At the protein level, three human ORs (OR2A4, OR2H2, and OR6K3) were immunodetected in the cortex and the hippocampus, along with two of their olfactory signaling partners, G $\alpha$ olf and adenylyl cyclase 3 (AC3) [37]. Moreover, a dysregulated expression of human ORs and olfactory-related genes was observed in several pathologies, such as Alzheimer's disease, Creutzfeldt-Jakob's disease, progressive supranuclear palsy, schizophrenia, and Parkinson's disease [36, 37, 39]. With regard to the latter, it has been shown for example that several OR transcripts were expressed in murine mesencephalic dopaminergic neurons [38].

---

François Féron and Gaëlle Guiraudie-Capraz equally supervised this work.

---

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s12035-018-1196-4>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

---

✉ Gaëlle Guiraudie-Capraz  
gaelle.guiraudie@univ-amu.fr

<sup>1</sup> Aix Marseille Univ, CNRS, INP, Marseille, France

Significant progress has been made in clarifying the roles of ORs in some non-olfactory tissues. However, next to nothing is known about the physiological functions of ORs within the nervous system. For the current study, we decided to start at square 0 and assess the kinetic cerebral expression and sub-cellular localization of two olfactory receptors—*Olfir110/111* and *Olfir544*—and partners, during aging and in a mouse model of Alzheimer's disease. These two ORs were selected for the following reasons. On the one hand, the transcript *Olfir110* is overexpressed in the brain of a transgenic Alzheimer's disease mouse model (APP/PS1) and co-expressed with *Gαolf* and *AC3* [36]. On the other hand, we observed that the transcript *Olfir544* is overexpressed in the cortex and hippocampus of transgenic 9-month-old 5xFAD mice, another animal model of Alzheimer's disease (Supplementary Table 1). *Olfir110/111* human ortholog is *OR5VI*, a class II OR. No conserved *Olfir544* has been identified in humans. However, according to the Allen Brain Atlas [40], *OR52K2*, one of the most expressed OR transcript in the human brain, *OR52K2*, shares 37% identity with *Olfir544*. In addition, specific and reliable antibodies are available for *Olfir110/111* and *Olfir544* corresponding proteins.

For our purpose, we used cellular and molecular tools such as cDNA microarrays, polymerase chain reaction, and immunohistochemistry on various tissues and brain areas from wild-type (WT) and Alzheimer's-like (5xFAD model) mice, at various ages. We observed that *Olfir110/111* and *Olfir544* are expressed within both the cortex and hippocampus of WT and 5xFAD transgenic mice, at the transcriptional and protein levels. In these structures, transcripts of both ORs display age- and pathology-associated variations of expression. At the cellular level, *Olfir110/111* and *Olfir544* proteins are expressed at the membrane of neurons and several other cell types, in combination with *Gαolf*.

## Materials and Methods

### Animals

This study was performed using 5xFAD transgenic mice, overexpressing two transgenes bearing five mutations linked to familial Alzheimer's disease: human *APP* (Swedish mutation K670N, M671L; Florida mutation I716V; London mutation V717I) and human *Presenilin 1* (PSEN1 M146L, L286V), under the transcriptional control of the mouse *Thy1* promoter. The 5xFAD lines from the C57Bl/6 genetic background were maintained by crossing heterozygous transgenic mice with C57Bl/6 F1 breeders. These mice exhibit Alzheimer's disease-related symptoms earlier than other animal models, and amyloid deposition starts in the cortex and subiculum at 2 months of age [41]. Heterozygous male 5xFAD transgenic animals and wild-type controls were

obtained after breeding of progenitors purchased from the Jackson Laboratory. Genotyping was performed by PCR analysis of tail DNA in order to detect the human *APP* gene. The animals were housed in a temperature-controlled environment ( $22 \pm 2$  °C) with a light/dark cycle of 12 h. The animals had ad libitum access to drinking water and standard food pellets. Animal manipulations were carried out in accordance with the guidelines published in the European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). All efforts were made to reduce animal stress, suffering, and numbers.

### Gene Expression Profiling Using Microarray Procedure

Cortical and hippocampal RNA samples from three WT and three 5xFAD mice, aged 1, 4, 6, and 9 months (M1, M4, M6, and M9), were pooled for microarray hybridization. Sample amplification, labeling, and hybridization were performed in line with the Agilent one-color microarray-base analysis (Low Input Quick Amp labeling) protocol (Agilent Technologies, Les Ulis, France). Briefly, total RNA was reverse-transcribed into cDNA using the *T7* promoter primer. The reaction intending to synthesize cyanine-3-labeled cRNA from cDNA was performed in a solution containing dNTP mix, *T7* RNA polymerase, and cyanine 3-dCTP and then incubated at 40 °C for 2 h. Labeled cRNA was purified and fragmented before hybridization on Agilent 8x60k Mouse Gene Expression Arrays (Agilent Technologies), containing 62,975 oligonucleotide probes, at 65 °C for 17 h. Raw microarray signals were scanned and extracted using Agilent Feature Extraction Software (Agilent Technologies). AgiND R package was used for quality control and normalization. Quantile methods and a background correction were applied for data normalization. Microarray data are available in the ArrayExpress database under accession number E-MTAB-1937.

### RNA Purification and Quantitative Real-Time PCR

Cortex, hippocampus, cerebellum, olfactory mucosa, and eyes were collected from WT and 5xFAD transgenic mice aged M4, M6, M9, and M12 ( $n = 6$  per group). Total RNA was isolated using RNeasy Mini Kit (Qiagen, Courtaboeuf, France), according to the manufacturer's instructions.

Total RNA was reverse transcribed with the High-Capacity RNA-to-cDNA Kit (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Villebon sur Yvette, France) following the manufacturer's instructions and using a Veriti™ 96-Well thermal cycler (Applied Biosystems). Real-time quantitative PCRs were carried out (Applied Biosystems® 7500 Fast, Life Technologies) to detect the expression of the two molecular targets of interest using a combination of specific primers for

*Olf110/111* and *Olf1544*. *GAPDH* was chosen as a house-keeping gene and its expression levels served as reference. The real-time PCR reactions were carried out with 50 ng of cDNA in a mix solution containing 1× iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, Kidlington, UK) and 300 nM of forward and reverse primers. Oligonucleotides were designed from the nucleotide sequences described in GenBank:

*Olf110/111* forward primer: 5'-ACCACCTGAATGAA TTGCAGTAT-3'

*Olf110/111* reverse primer: 5'-CAGCTATGGTCACC ACAATGAT-3'

*Olf1544* forward primer: 5'-GGACATCTCGCTGA ATAAGACG-3'

*Olf1544* reverse primer: 5'-CCAGGACTCGGTTG AAGATG-3'

*GAPDH* forward primer: 5'-TGACGTGCCGCCTG GAGAAA-3'

*GAPDH* reverse primer: 5'-AGTGTAGCCCAAGA TGCCCTTACG-3'

Samples were amplified in triplicates. Mean Ct for each sample was calculated, and relative expression levels were determined according to the  $\Delta\Delta\text{Ct}$  method:  $\Delta\text{Ct}$  values represent the normalized levels of each target gene compared to the *GAPDH* control, and  $\Delta\Delta\text{Ct}$  values were calculated by subtracting the mean  $\Delta\text{Ct}$  of the control population to the sample  $\Delta\text{Ct}$ . Relative expression levels were calculated using the  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  equation. Negative fold change values were obtained by the equation  $1/(\text{mean } 2^{-\Delta\Delta\text{Ct}})$  of each group.

### OR Construct, Cloning, and Expression in HEK Cells

The 317 amino acid sequence of Olf110 and the 334 amino acid sequence of Olf1544 were obtained from the online NCBI Protein database (#AAP71232.1 and #ALI87966.1, respectively). To facilitate protein expression and purification from mammalian cells, the following insertions were performed: (1) a Kozak sequence (GCCACCATGG), immediately before the start codon; (2) a Flag epitope tag (DYKDDDDK) at the N-terminus of both genes after the start codon; and (3) the bovine rhodopsin C9 (rho1D4) epitope tag (TETSQVAPA) at the C-terminus of the protein. Two glycine linkers (GG) were inserted after the Flag epitope and before the rho1D4 epitope, respectively, as described by Belloir et al. [42]. *Olf110* and *Olf1544* genes were cloned into the pcDNA3.1 expression vector (Life Technologies, ThermoFisher Scientific, France) to produce the pcDNA3.1-FLAG-Olf110-rho1D4 vector and pcDNA3.1-FLAG-Olf1544-rho1D4 vector. The native genes coding for Olf110 and Olf1544 were also cloned in pcDNA3.1 vector to produce pcDNA3.1-Olf110 and pcDNA3.1-Olf1544 vectors. The plasmids were amplified in *E. coli* TOP10 cells (Life

Technologies, ThermoFisher Scientific, France) and purified with a QIAfilter Plasmid Midi kit (Qiagen, Courtaboeuf, France).

The human HEK293T cells (HEK293T) were grown in DMEM Glutamax culture medium, supplemented with 10% fetal bovine serum, non-essential amino acids (0.1 mM), penicillin (100 units/mL), and streptomycin (100 mg/mL) (Life Technologies, ThermoFisher Scientific, France). The cells were cultivated at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO<sub>2</sub>. The pcDNA3.1-Flag-Olf110-rho1D4 and the pcDNA3.1-Flag-Olf1544-rho1D4 plasmids were transfected into cells using Fugene HD (Promega, Charbonnières Les Bains, France). After 24–48 h, the cells were collected.

### Immunocytochemistry and Western Blot

OR-transfected HEK293T cells were seeded onto 22-mm coverslips. Transiently transfected cells were washed with PBS 1×, fixed with 4% paraformaldehyde (Antigenfix solution, Diapath, MM France, Brignais, France), and then incubated with mouse anti-Flag antibody (F3165, 1:500, Sigma, France) and rabbit anti-OR antibodies (Olf110: ab177327, 1:100, Abcam, France, and Olf1544: OSR00035G, 1:200, Invitrogen, France) diluted in PBS with 0.1% Tween 20, 3% BSA, and 2.25% glycine (Sigma, France), for 1 h at room temperature. Primary antibodies were detected with goat anti-mouse Alexa Fluor 488 (A11029, 1:500, Life Technologies) for Flag and goat anti-rabbit Alexa Fluor 594 (A11037, 1:500, Life Technologies, ThermoFisher Scientific, France) for ORs, all diluted in PBS containing 1% Tween 20, 3% BSA, and 2.25% glycine, for 1 h at room temperature in the dark. After washing, the coverslips were inverted and mounted on glass slides with Prolong Gold Antifade reagent (Life Technologies). Images were obtained using a LSM 700 (Zeiss, Jena, Germany) confocal microscope, and images were analyzed using ImageJ (NIH) software.

For the Western blot analysis, lysates of HEK-transfected cells (HEK-110, HEK-544, and HEK-pcDNA3.1) were prepared by incubating cells on ice for 30 min in a RIPA buffer supplemented with 1% protease inhibitor cocktail (Sigma, France). Protein concentration was quantified by using the Bio-Rad DC™ protein assay kit according to the manufacturer's instructions (Bio-Rad). Equal amounts of proteins were separated on 12% SDS-PAGE and transferred to nitrocellulose membranes (GE Healthcare, Dutscher, Brumath, France). After blocking, membranes were probed with the following antibodies: polyclonal anti-Olf110 (ab177327, 1:100, Abcam, France) and polyclonal anti-Olf1544 (OSR00035G, 1:200, Invitrogen, France). Membranes were then incubated with the appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary IgG antibodies (Jackson Immunoresearch, West Grove, PA, USA). Immunoblot signals were visualized with ECL chemiluminescence kit (GE Healthcare).

## Perfusion and Immunohistochemistry

WT and transgenic 5xFAD mice at M6 and M9 ( $n = 3$  per group) were deeply anesthetized with an intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (355 mg/kg, Ceva Santé Animal, Libourne, France) and perfused transcardially with 0.9% saline, followed by 4% paraformaldehyde (Antigenfix solution, Diapath, MM France, Brignais, France). Brains removed from perfused mice and heads from newborn mice P5 were post-fixed overnight in the 4% paraformaldehyde fixative solution and then cryoprotected in 30% sucrose in phosphate buffer saline (PBS) solution. Brains and noses were cryosectioned to 16- $\mu$ m slices in hippocampal, cerebellar areas, and olfactory epithelium (OE) using a Leica CM3050S cryostat (Leica Microsystems, Nanterre, France), and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until immunostaining.

Brain and OE sections were gently unfrozen at room temperature, and antigen retrieval was carried out by immersion in sodium citrate buffer (10 mM sodium citrate, 0.05% Tween-20, pH 6.0) for 20 min at  $75^{\circ}\text{C}$  and then progressively cooled down for 15 min. After a washing step in 0.05% PBS-Tween 20, sections were blocked for 1 h at room temperature in a blocking buffer containing 0.3% Triton X-100, 3% bovine albumin serum (BSA), 10% PBS 10 $\times$ , and 5% normal goat or donkey serum (Jackson Immunoresearch Laboratories, West Grove, PA, USA).

For co-immunostaining, titration experiments were performed at the following dilutions 1:100, 1:200, 1:300, 1:500, and 1:1000. Final experiments were carried on sections using the primary antibodies raised against Olfr110/111 (ab177327, 1:100, Abcam, France) or Olfr544 (OSR00035G, 1:200, Invitrogen, France) and either: anti-NeuN (ab104224, 1:500, Abcam) for neuronal staining, or anti-GFAP (MAB360, 1:500, Millipore, Merck Chimie, Fontenay sous Bois, France) for astrocytes staining, or anti-MBP (MCA409S, 1:200, Bio-Rad) for oligodendrocytes staining, or Collagen IV (C7510-50H, 1:1000, US Biological, Salem, MA, USA) for endothelial cells staining, or anti-6E10 (SIG-39320, 1:300, Covance, Ozyme, Saint-Quentin, France) for amyloid plaques staining, diluted in the blocking solution for 2 h at room temperature. After washing in PBS, sections were incubated with secondary antibodies, respectively, goat anti-rabbit Alexa Fluor 594 (A11037, 1:500, Life Technologies, ThermoFisher Scientific, France) to immunodetect Olfr antigens, and either goat anti-mouse Alexa Fluor 488 (A11029, 1:500, Life Technologies) for NeuN, GFAP, and 6E10, or goat anti-rat Alexa Fluor 488 (A11006, 1:500, Life Technologies) for MBP, or donkey anti-goat Alexa Fluor 488 (A11055, 1:1000, Life Technologies) for collagen IV for 1.5 h at room temperature. Nuclei were stained using DNA intercalant Hoechst (H6024, 1:1000, Sigma-Aldrich, Merck, Saint-Quentin Fallavier, France).

For co-immunostaining of ORs with either Iba1 or G $\alpha$ olf protein, sections were first incubated with the primary

antibodies raised against Olfr110/111 or Olfr544 overnight at  $4^{\circ}\text{C}$ . After washing in PBS, sections were incubated for 1.5 h with goat anti-rabbit Alexa Fluor 594 at room temperature, followed by a blocking step, 2 h incubation at room temperature with 5% normal rabbit serum (Jackson Immunoresearch Laboratories) in PBS. After an additional 2-h incubation with AffiniPure Fab Goat anti-Rabbit fragments (Jackson Immunoresearch Laboratories) in PBS at room temperature, sections were incubated with the primary antibodies raised against Iba1 (019–19,741, 1:1500, Wako, Sobioda, Montbonnot-Saint-Martin, France) or G $\alpha$ olf (PA5–27964, 1:1000, Thermo Fisher Scientific) overnight at  $4^{\circ}\text{C}$ , and with the corresponding secondary antibody goat anti-rabbit Alexa Fluor 488 for 1.5 h at room temperature. Nuclei were stained with DNA intercalant Hoechst.

Co-staining of sections with Alexa Fluor 488-conjugated Wheat Germ Agglutinin (WGA-Alexa, 3  $\mu$ g/ml, Molecular Probes) was used for visualization of the cell membrane. After washing with HBSS, incubation for 10 min with 3  $\mu$ g/ml of WGA Alexa Fluor 488 conjugate in HBSS and a blocking step for 1 h at room temperature, sections were incubated for 2 h at room temperature with Olfr110/111 or Olfr544 antibodies. Sections were then incubated for 1.5 h with the corresponding secondary antibody goat anti-rabbit Alexa Fluor 594 and DNA intercalant Hoechst.

Sections were mounted using Prolong Gold Antifade reagent (Life Technologies). Negative control immunostaining was performed without the primary antibody, and no immunoreactivity was confirmed. Sections were observed under a LSM 700 (Zeiss, Jena, Germany) confocal microscope, and images were analyzed using ImageJ (NIH) software.

## Statistics

Statistical analyses were performed with the unpaired, two-tailed Mann-Whitney non-parametric statistical test. All data are presented as means  $\pm$  SEM and were analyzed using GraphPad Prism 6 software. Quantitative PCR data were normalized with M4 animals  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  values fixed to 1, and the negative fold change values were obtained by the equation  $1/(\text{mean } 2^{-\Delta\Delta\text{Ct}})$  of each group. Differences between mean values were considered statistically significant when  $p < 0.05$  (\*) and  $p < 0.01$  (\*\*).

## Results

### AD Progression Induces a Massive Time- and Area-Related Dysregulation of OR Expression

The cortex and hippocampus of 5xFAD mice display an extensive dysregulated expression of transcripts coding for olfactory receptors. Most of them are misexpressed at only one

time point, whatever the tissue considered. Out of the 164 dysregulated OR transcripts, only ten—*Olfir446*, *Olfir538*, *Olfir544*, *Olfir574*, *Olfir720*, *Olfir868*, *Olfir1133*, *Olfir1335*, *Olfir1466*, and *Olfir1500*—are misexpressed in both brain areas (Supplementary Table 1). Using RT-qPCR and specific primers to (in)validate our microarray findings, we determined that *Olfir544* transcript is overexpressed at M9 in 5xFAD animals, both in the cortex and the hippocampus (Fig. 1). Eight dysregulated genes in the cortex (*Olfir173*, *Olfir446*, *Olfir544*, *Olfir574*, *Olfir868*, *Olfir1133*, *Olfir1466*, and *Olfir1500*) and seven in the hippocampus (*Olfir446*, *Olfir544*, *Olfir574*, *Olfir868*, *Olfir1133*, *Olfir1466*, and *Olfir1500*) were compared at M4, M6, and M9. We confirmed (i) an under-expression of *Olfir173* in the cortex of transgenic mice, at M4 but not at M6 (Fig. 1a) and *Olfir574* in the cortex at M9 but not in the hippocampus at M6, and (ii) an overexpression of *Olfir868* in the hippocampus at M4 and M6 and *Olfir1133* in the cortex at M9 but not in the hippocampus at M4. Only the overexpression of *Olfir544* is confirmed in both the cortex and hippocampus at M9 (Fig. 1a, b). Interestingly, two OR closely related genes—*Golf* and *adenyl cyclase 3*—are misexpressed in the cortex of 5xFAD mice, at M9 (Supplementary Table 1).

### Tissue-Dependent Expression of mRNAs Encoding for *Olfir110/111* and *Olfir544*

We quantified *Olfir110/111*, *Olfir544*, and *Golf* gene expression using RT-qPCR in the olfactory mucosa, brain (hippocampus, cortex, and cerebellum), and eyes of WT mice, at M4, M6, M9, and M12. As expected, both OR genes are expressed in the olfactory mucosa of WT and 5xFAD mice (Fig. 2a–c). However, whatever the age considered, *Olfir110/111* is more strongly expressed than *Olfir544* (\*\* $p < 0.01$ ) (Fig. 2a). We then individually compared brain and eye expressions to those in the olfactory mucosa, used as a reference, in the M6 WT group. The

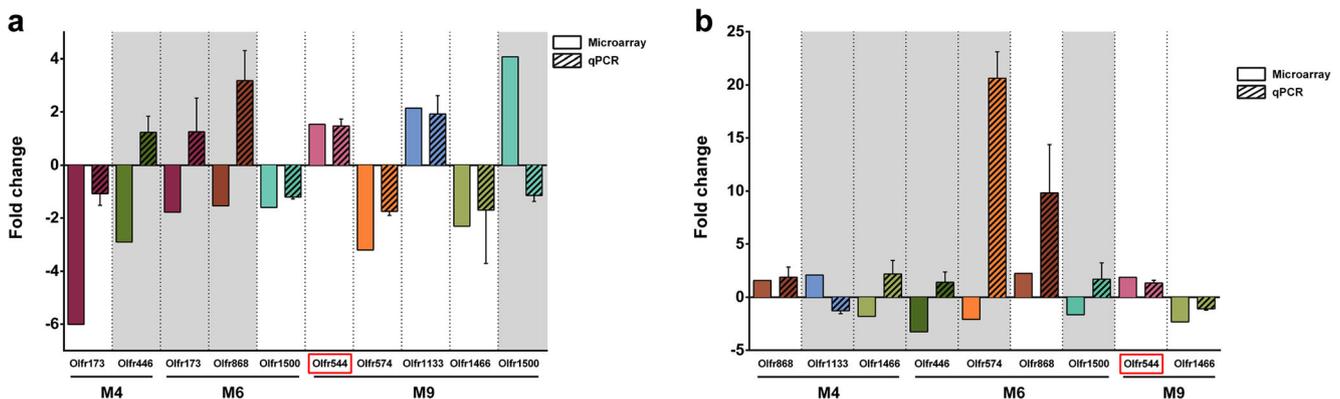
following fold change values are obtained for *Olfir110/111*:  $-72 \pm 9$  (cortex),  $-167 \pm 35$  (hippocampus),  $-273 \pm 3$  (cerebellum), and  $-99 \pm 18$  (eyes) (Fig. 2b). Similar results are observed in M9 and M12 groups. However, at M4, *Olfir110/111* mRNA expression is predominant in the cerebellum (Supplementary Fig. 1a). Similarly, fold change values obtained for *Olfir544* are  $-10 \pm 2$  (cortex),  $-7 \pm 1$  (hippocampus),  $-4 \pm 1$  (cerebellum), and  $-9 \pm 2$  (eyes) (Fig. 2c). *Olfir544* mRNA cerebellar expression is the highest in all age groups (Supplementary Fig. 1b).

### Identification of *Olfir110/111* and *Olfir544* in HEK-Transfected Cells and Olfactory Epithelium

We first examined whether commercial OR antibodies selectively recognize the appropriate OR with immunofluorescence detection, using specific OR-transfected HEK cells (HEK-110, HEK-544) and olfactory mucosa sections as positive controls (Fig. 3). The cells transiently transfected with individual OR genes, tagged with a Flag-epitope at the N-terminus, were stained with both an anti-Flag antibody and commercially available anti-OR antibodies. The rabbit anti-*Olfir110/111* and anti-*Olfir544* antibodies specifically recognize their corresponding ORs, and these signals co-localize with the Flag epitopes (Fig. 3a–c, e–g). Anti-OR antibodies also detect appropriate olfactory receptor neurons with their distinct dendritic knobs, dendrites, and cell bodies (Fig. 3d, h). Altogether, these results demonstrate the selectivity of the commercial anti-*Olfir110/111* and anti-*Olfir544* antibodies.

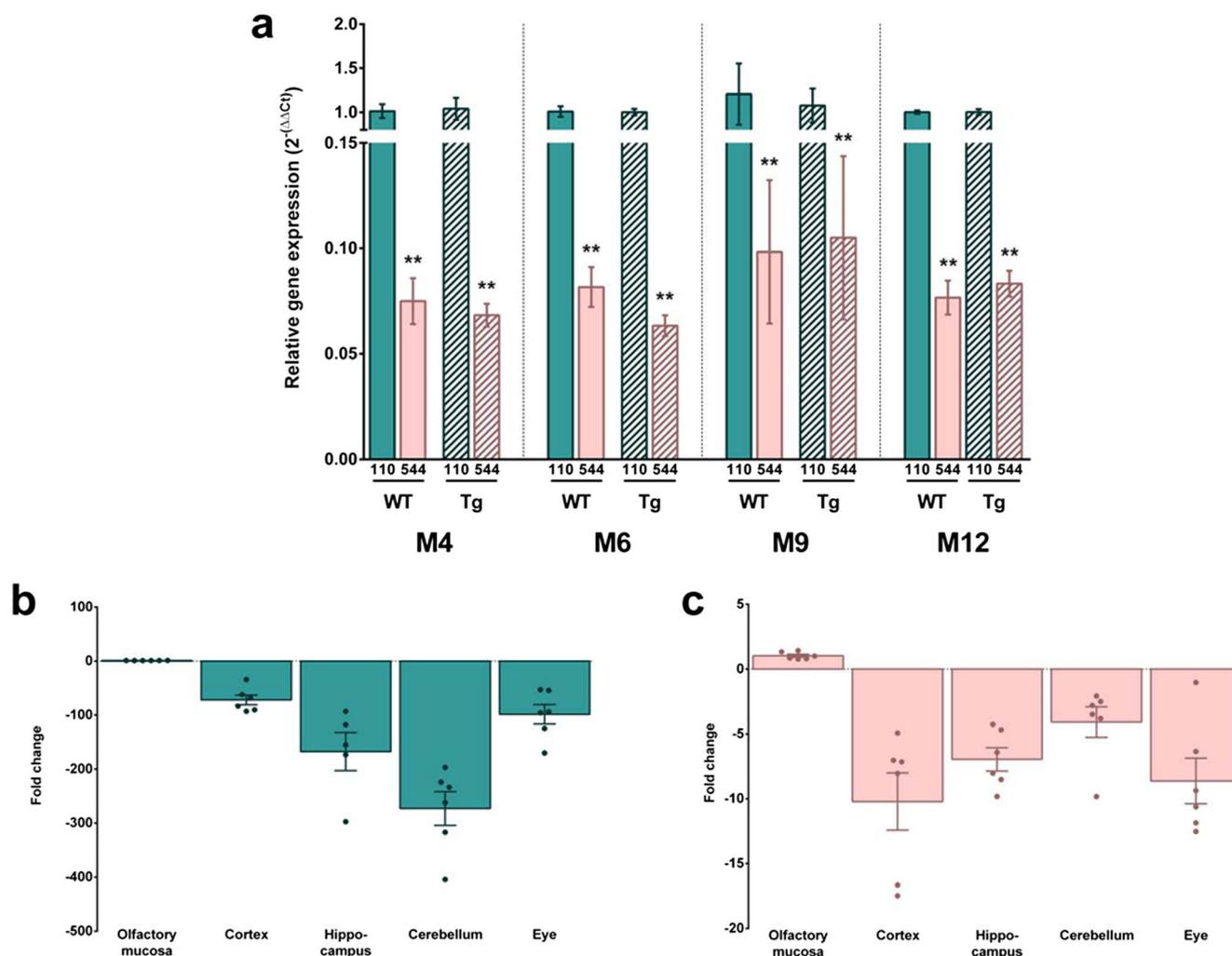
### *Olfir110/111* and *Olfir544* Proteins Are Mainly Expressed in Neurons

Immunohistology reveals the expression of *Olfir110/111* and *Olfir544* in the cortex and hippocampus of WT (Supplementary Figs. 2 and 3) and transgenic mice (Figs. 4 and 5, Supplementary



**Fig. 1** The cortex (a) and hippocampus (b) of 5xFAD mice display an extensive dysregulated expression of transcripts coding for olfactory receptors. As shown on supplementary Table 1, microarray analysis indicates that 164 OR mRNAs are over-/under-expressed. Only ten—*Olfir446*, *Olfir538*, *Olfir544*, *Olfir574*, *Olfir720*, *Olfir868*, *Olfir1133*,

*Olfir1335*, *Olfir1466*, and *Olfir1500*—are misexpressed in both brain areas. Concordant and discordant results are observed when microarray data are compared to qPCR data. Among the validated dysregulated transcripts, *Olfir544* stands out as a gene which is overexpressed at the same time point, in both the hippocampus and the cortex of transgenic mice



**Fig. 2** Tissue- and time-dependent expression of mRNAs encoding for Olf110/111 and Olf544. **a** Within the olfactory mucosa, expression of *Olf110/111* and *Olf544* mRNA remains stable over time, in both strains. However, the transcript coding for Olf544 is found in smaller quantities than *Olf110/111*, at every time point. **b, c** In comparison with the olfactory mucosa, *Olf110/111* and *Olf544* mRNAs are poorly expressed in the central nervous system. A receptor-related expression profile is

observed: *Olf110/111* is more predominant in the cortex and the eye (**b**) and *Olf544* in the cerebellum (**c**).  $n = 6$  per group.  $**p < 0.01$  (Mann and Whitney non-parametric test). M4 4 months, M6 6 months, M9 9 months, M12 12 months, Tg 5xFAD transgenic mice (striped), WT wild-type mice (plain), Olf110/111 and 110 olfactory receptors 110/111 (green), Olf544 and 544 olfactory receptor 544 (pink)

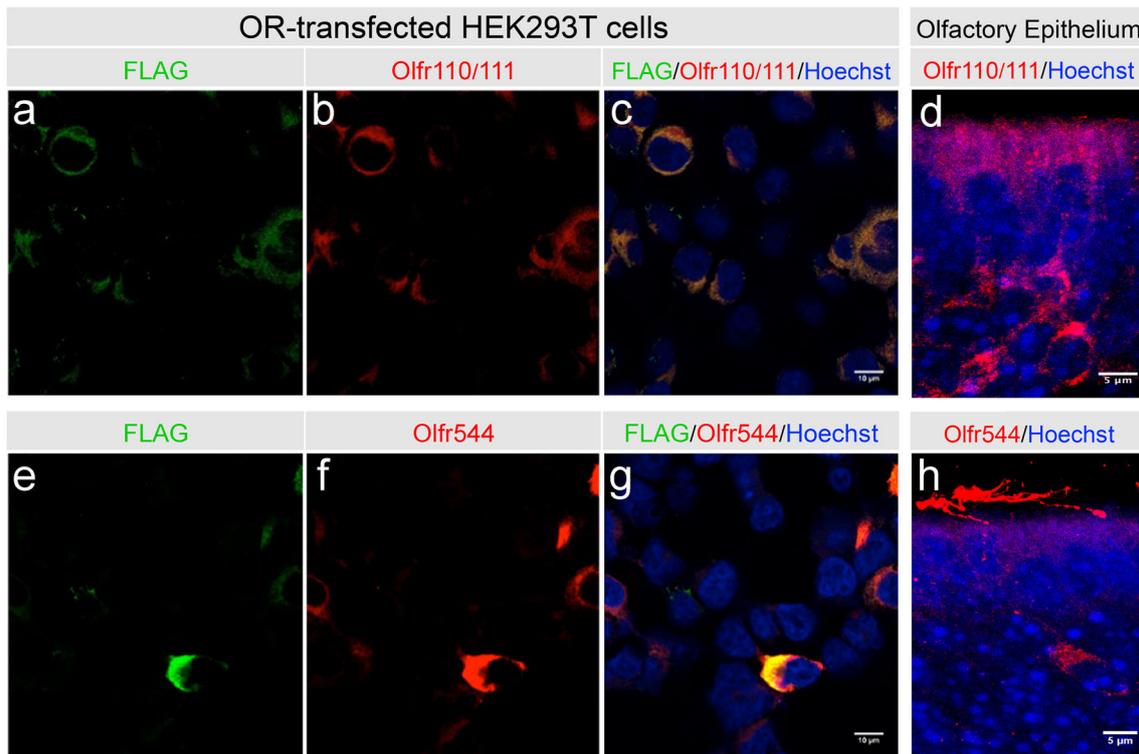
Fig. 4). To determine which cell type express those ORs, we double immunostained the sections with neuron-, astrocyte-, oligodendrocyte-, microglia-, and endothelial-specific antibodies.

**Neurons** Olf110/111 and Olf544 are expressed in cortical and hippocampal neurons of M9 5xFAD mice (Fig. 4). More specifically, both OR proteins are mostly produced by neurons in the cortical layers V–VI and, to a lesser extent, in the superficial cortical layers. Within the hippocampus, the most prominent staining is observed in the CA1, CA3 layers, the hilus of the dentate gyrus, and, more faintly, in the dentate gyrus. Both Olf110/111 and Olf544 are weakly expressed in a few cortical and hippocampal neurons of M9 WT mice (Supplementary Fig. 2).

**Astrocytes** Olf110/111 and Olf544 are weakly expressed in a few cortical and hippocampal astrocytes of M9 WT mice (Supplementary Fig. 3). In addition, in 5xFAD animals, a faint staining is observed in cortical and hippocampal astrocytes, at M4 and M6, while a stronger labeling is noticed in a few intermediate filaments in M9 animals (Fig. 5a).

**Oligodendrocytes** A discrete staining of Olf110/111 is observed in a few oligodendrocyte filaments in the CA1 *stratum oriens* of M9 5xFAD mice. At the same age, in the same animal, no staining of Olf544 is observed (Fig. 5b).

**Microglia** Olf110/111 and Olf544 are mainly expressed in the cell bodies and proximal segments of microglia, in the



**Fig. 3** Validation of commercial antibodies raised against the two olfactory receptors (OR). A heterologous OR expression system in a cell line and the endogenous OR expression in the olfactory epithelium (OE) were used. HEK 293T cells were transiently transfected with cDNAs coding for Olf110, Olf544, and immuno-labeled using antibodies against the N-terminal epitope-Flag (**a, e**) and each OR-

specific antibody (**b, f**). Olf110 (**b**) and Olf544 (**f**) antibody detect Flag-Olf110 and Flag-Olf544-constructs in the transfected cells, respectively. These results are confirmed using the anti-Flag antibody (**a, e** and **c, g** for overlay). Both OR antibodies recognize specific olfactory receptor neurons (**d, h**) in the olfactory epithelium (OE). Scale bar = 10  $\mu\text{m}$

CA1 *stratum oriens* within the hippocampus of M9 5xFAD mice (Fig. 5c).

**Endothelial Cells** Olf110/111 and Olf544 are observed in the hippocampal CA3 *stratum radiatum* of M9 5xFAD mice. The receptors are localized in the lateral compartments, in close proximity to the lumen, on one side, and the nervous parenchyma, on the other side (Fig. 5d).

With the two ORs being overexpressed in the brain of Alzheimer-like mice, we wondered whether they are associated with  $\beta$ -amyloid plaques. Then, we demonstrated that Olf110/111 and Olf544 are expressed in cells located nearby amyloid plaques, especially in the hippocampal CA1 *stratum oriens* (Supplementary Fig. 5).

### The Two ORs Are Expressed at the Membrane and in Cells Producing G $\alpha$ olf

In order to make certain that olfactory receptors are inserted in the cell membrane, we used Alexa488-conjugated wheat germ agglutinin (WGA), a specific membrane marker. We observed a co-localization of Olf110/111 and Olf544 with WGA, in the hippocampal CA1 pyramidal layer of M6 WT mice (Fig. 6a, b).

Similar results are observed in other hippocampal areas and in cortical layers (Supplementary Fig. 6).

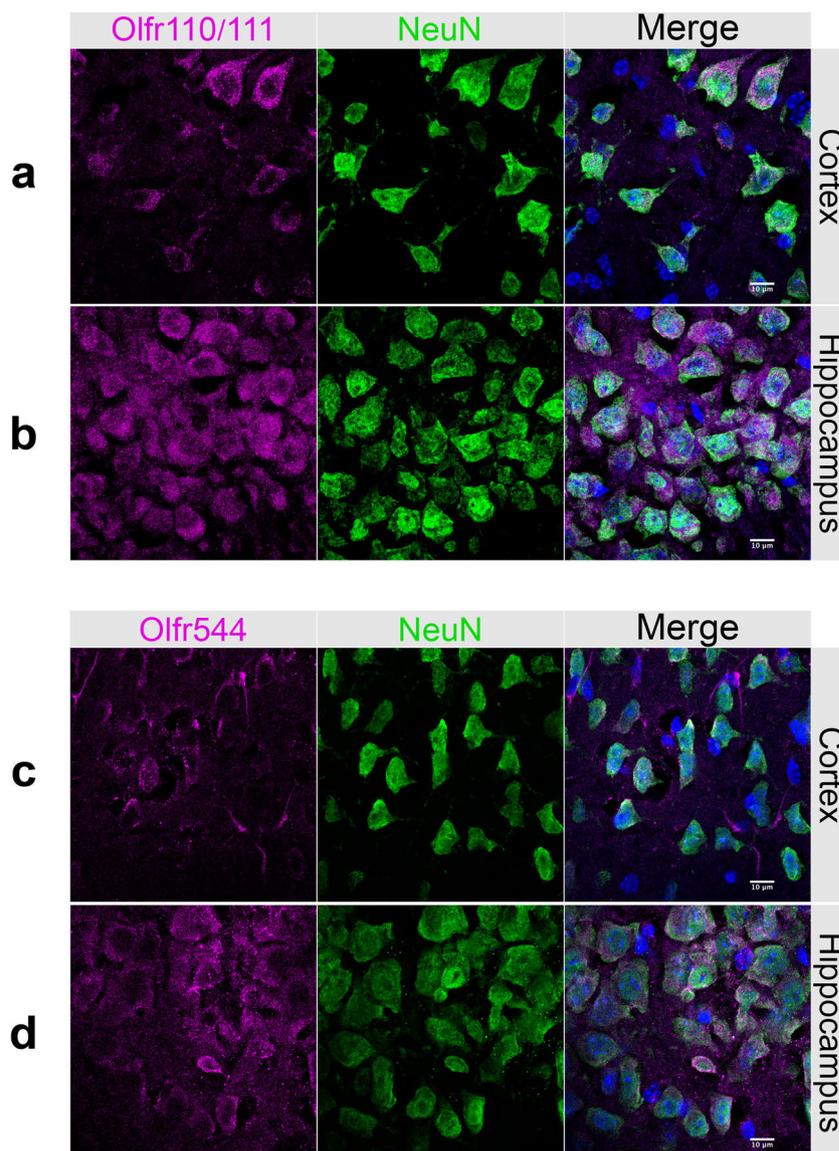
To further determine the potential functionality of the ORs, we investigated whether the olfactory-related protein G $\alpha$ olf is also expressed in the brain. G $\alpha$ olf is co-expressed with Olf110/111 or Olf544, in the pyramidal layer of CA1 of M9 5xFAD mice (Fig. 6c, d). A similar pattern is also noticed in the dentate gyrus, *cornu ammonis* fields, and in the cortical layers (Supplementary Fig. 7).

### Time-Dependent Expression of mRNA Encoding for Olf110/111 and Olf544

To assess the kinetic expression of the two ORs of interest, we used transcript expression values at M4, as a reference (Fig. 7). Expression of *Olf110/111* and *Olf544* mRNAs varies, according to the age, in the cortex and hippocampus of WT and 5xFAD mice.

**Cortical Olf110/111** In WT animals ( $n = 6$ ), the fold changes, at M6, M9, and M12, are  $1.7 \pm 0.3$ ,  $2.6 \pm 0.5$  ( $*p < 0.05$ ), and  $6.5 \pm 0.9$  ( $**p < 0.01$ ), respectively. In transgenic mice ( $n = 6$ ), the fold changes are  $7.4 \pm 3.1$  ( $**p < 0.01$ ),  $12 \pm 1.8$  ( $**p < 0.01$ ), and  $28.8 \pm 4.4$  ( $**p < 0.01$ ), respectively (Fig. 7a).

**Fig. 4** Neuronal expression of *Olf110/111* and *Olf544*. The cortex and hippocampus of M9 transgenic mice were double-immunostained with specific antibodies for neurons (NeuN, green) and the two studied receptors (magenta). *Olf110/111* is expressed by numerous neurons (**a, b**), while *Olf544* is produced by a smaller number of neurons (**c, d**). Scale bar = 10  $\mu$ m



**Hippocampal *Olf110/111*** In WT animals, the fold changes are  $0.8 \pm 0.1$  ( $n = 5$ ),  $0.8 \pm 0.1$  ( $n = 6$ ), and  $2.1 \pm 0.3$  ( $*p < 0.05$ ,  $n = 6$ ), respectively. In 5xFAD animals ( $n = 6$ ), the fold changes are  $1.7 \pm 0.5$ ,  $5 \pm 1.2$  ( $**p < 0.01$ ), and  $7 \pm 1.8$  ( $**p < 0.01$ ), respectively (Fig. 7b).

**Cortical *Olf544*** In WT mice ( $n = 6$ ), the fold changes are  $1.1 \pm 0.2$ ,  $1.8 \pm 0.2$  ( $**p < 0.01$ ), and  $1.5 \pm 0.2$ , respectively. In 5xFAD mice ( $n = 6$ ), the fold changes are  $1.6 \pm 0.3$ ,  $1.9 \pm 0.3$  ( $*p < 0.05$ ), and  $1.5 \pm 0.2$  (Fig. 7c).

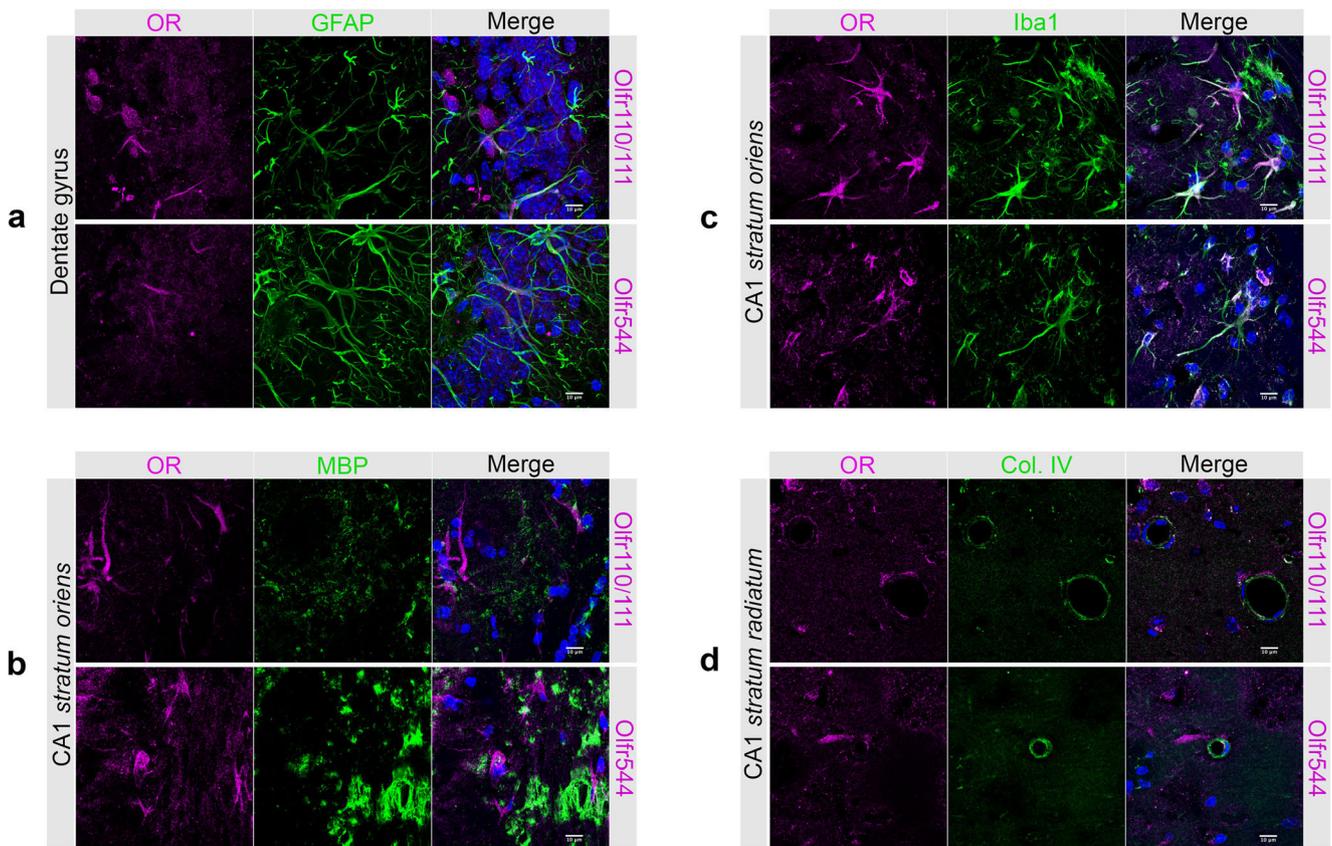
**Hippocampal *Olf544*** In WT animals ( $n = 6$ ), the fold changes are  $1.4 \pm 0.2$ ,  $0.9 \pm 0.2$ , and  $1.2 \pm 0.2$ , respectively. In transgenic mice, the fold changes are  $0.7 \pm 0.1$  ( $n = 5$ ),  $1.3 \pm 0.2$  ( $n = 6$ ), and  $1.5 \pm 0.3$  ( $n = 6$ ) (Fig. 7d).

A comparison between WT and 5xFAD groups reveals significant changes in the expression of the two

ORs in transgenic mice (Supplementary Fig. 8). *Olf110/111* mRNA is significantly overexpressed in the cortex and hippocampus, whatever the age (Supplementary Fig. 8a-b). Conversely, *Olf544* transcript expression is unchanged in the hippocampus and slightly increased in the cortex, at M6 (Supplementary Fig. 8c-d).

### Gaolf Is Overexpressed in the Cortex at M12

In the olfactory epithelium, olfactory receptors are associated with a specific G-protein named *Gaolf*. To assess the putative functionality of the brain ORs, we compared *Gaolf* expression in brain areas, using data in the olfactory mucosa as a reference. In WT mice, at M6, the fold changes are  $-45 \pm 9$  (cortex),  $-63 \pm 16$  (hippocampus),  $-19 \pm 0.7$  (cerebellum), and  $-327 \pm 26$  (eyes) (Fig. 8a). From M4 to M12, the same



**Fig. 5** Expression of Olf110/111 and Olf544 in astrocytes, oligodendrocytes, microglia, and endothelial cells. Brain sections of M9 transgenic mice were double-immunostained with specific antibodies for Olf110/111 or Olf544 (magenta), astrocytes (a), oligodendrocytes (b),

and microglia (c) and endothelial cells (d). Olf110/111 is expressed by all cell types but more predominantly by astrocytes and microglia. All cell types except oligodendrocytes express Olf544. Scale bar = 10  $\mu$ m

expression pattern is observed despite varying fold changes (Supplementary Fig. 1c).

Using transcript values at M4, we compared the kinetic expression of *Gaolf* in the cortex and hippocampus of both strains, at M6, M9, and M12.

**Cortical *Gaolf*** In WT animals ( $n = 6$ ), the fold changes are  $0.7 \pm 0.2$ ,  $0.9 \pm 0.1$ , and  $2.6 \pm 0.1$  (\*\* $p < 0.01$ ), respectively. In transgenic mice, the fold changes are  $1 \pm 0.2$ ,  $0.7 \pm 0.02$  (\*\* $p < 0.01$ ), and  $2.3 \pm 0.1$  (\*\* $p < 0.01$ ), respectively (Fig. 8b).

**Hippocampal *Gaolf*** In WT animals, the fold changes are  $0.5 \pm 0.1$  (\* $p < 0.05$ ,  $n = 5$ ),  $0.8 \pm 0.2$  ( $n = 5$ ), and  $1.2 \pm 0.2$  ( $n = 6$ ), respectively. In 5xFAD mice ( $n = 6$ ), the fold changes are  $0.8 \pm 0.1$ ,  $1 \pm 0.2$ , and  $1.6 \pm 0.5$ , respectively (Fig. 8c).

## Discussion

For the very first time, the current study describes extensively the expression and location of two murine olfactory receptors (ORs) within two brain areas, namely the hippocampus and the adjacent somatosensory cortex. We observed that Olf110/

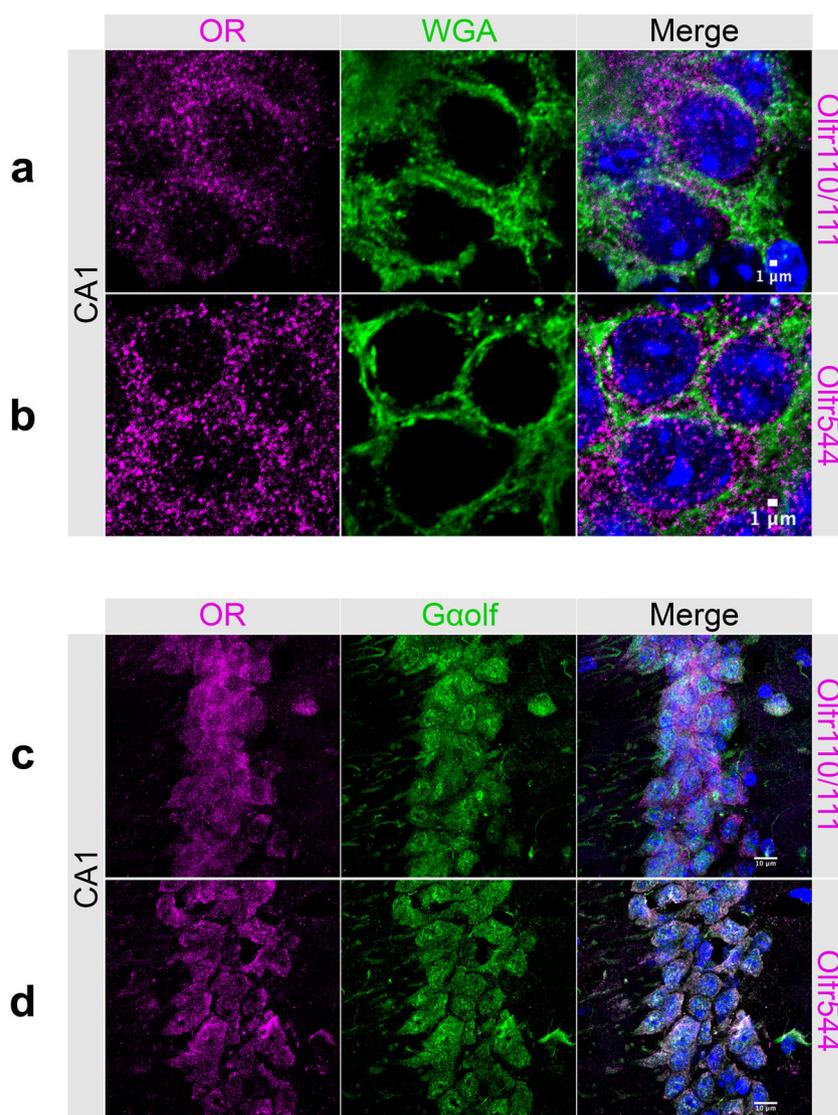
111 and Olf544 are (i) mainly produced by neurons, (ii) located in the cytoplasm and the cell membrane, and (iii) associated with one of their usual olfactory partners,  $G\alpha_{olf}$ . Their expression varies throughout the animal's life, whether it is a wild-type or Alzheimer's-like mouse (Fig. 9). In addition, the Olf110/111- and Olf544-expressing cells are found nearby amyloid plaques, suggesting a potential role in inflammation.

## An Olfactory Machinery in a Non-olfactory Nervous Tissue

The quality and specificity of many antibodies are often problematic. In order to assess the reliability of the selected antibodies for the two ORs of interest, we performed a Western blot using cell lines engineered to produce Olf110/111 or Olf544. Reassuringly, we observed the right band at the right molecular weight for both receptors (Supplementary Fig. 9). A first set of immunostaining experiments revealed a punctuated and sometimes clustered cellular staining, exhibiting high similarities with those reported in previous studies [37, 38, 43].

As demonstrated by our dual WGA/Olf immunostaining experiments, the two olfactory ORs are detected in the cell

**Fig. 6** Olfr110/111 and Olfr544 are present at the cell membrane and co-expressed with G $\alpha$ olf. Hippocampal sections of a M6 wild-type mouse (**a**) and M9 transgenic mouse (**b**) were double-immunostained with specific antibodies for olfactory receptors (magenta) (**a–d**) and G $\alpha$ olf (green) (**c, d**). For the staining of the cell membrane, the fluorescent WGA marker (**a, b**) was used. Both receptors are observed at the membrane (**a, b**) and are co-expressed with G $\alpha$ olf (**c, d**). Scale bar = 1  $\mu$ m (**a**) or 10  $\mu$ m (**b**)

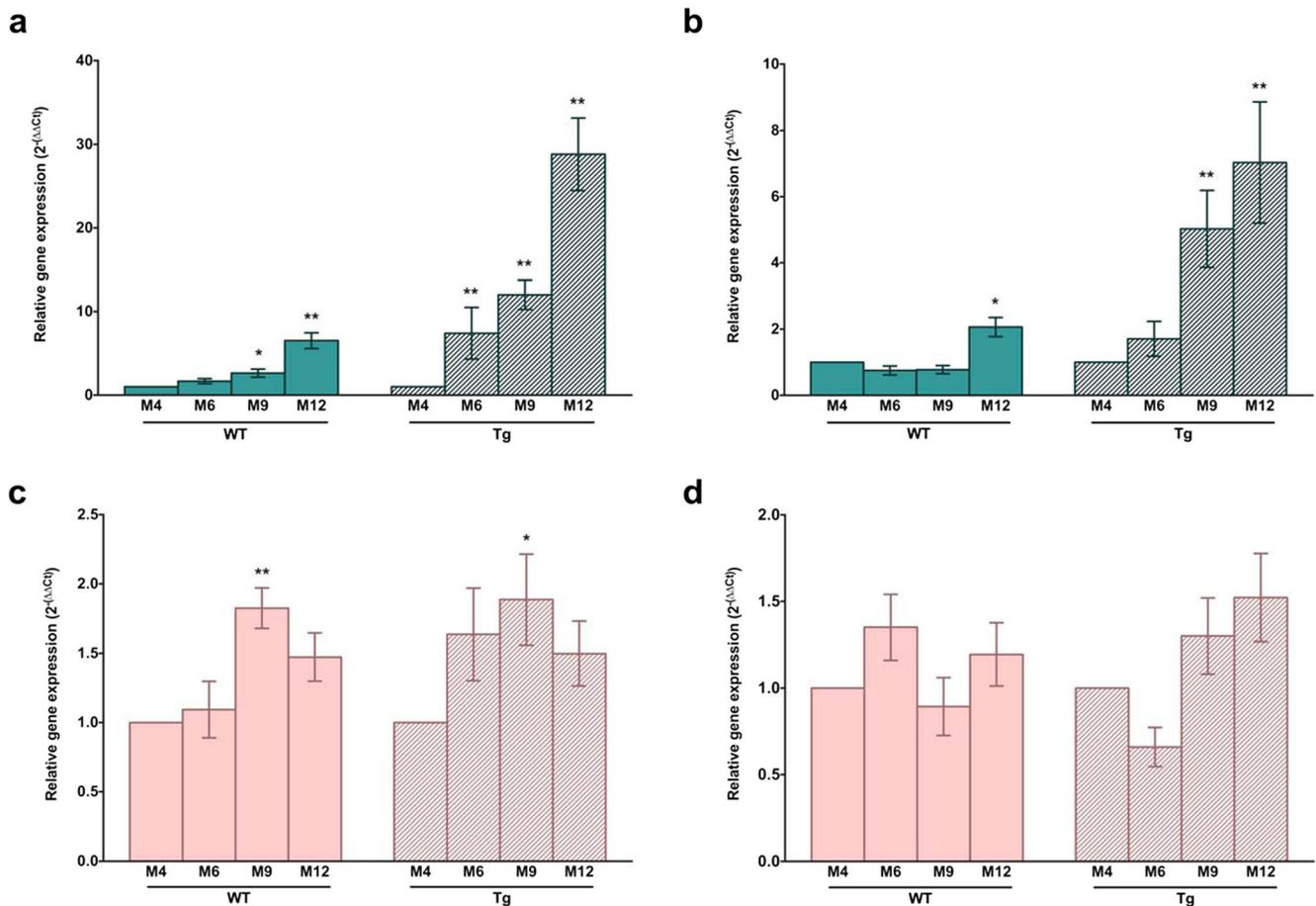


membrane. To further demonstrate their potential functionality, we assessed their co-expression with an olfaction-associated molecule, the G $\alpha$ olf protein. In the olfactory system, ORs are coupled with G $\alpha$ olf protein [44], required for transducing an intracellular response after activation of the receptor by a ligand. Previous studies indicated that the mRNA encoding for the G $\alpha$ olf protein is present in nervous—cortex, basal ganglia, cerebellum, and eyes [36–38, 45–50]—and non-nervous—lungs, kidney, and pancreas [17, 22, 23]—tissues. We confirm here a combined Olfr/G $\alpha$ olf expression in the cortex and hippocampus of wild-type and transgenic mice. Such a finding suggests a true functionality of the cerebral ORs. However, this does not preclude the possibility that a non-canonical pathway mediates Olfr110/111 and Olfr544 signaling in the brain. For example, OR52B1 signaling is mediated by a G $\beta\gamma$ -protein complex and involves the synthesis of inositol phosphate and diacylglycerol in HCT116 cells [51]. A similar kinetic hippocampal

expression of G $\alpha$ olf is observed in both strains. However, transgenic mice display a decreased cortical expression of G $\alpha$ olf at M9. This finding may reflect a global diminution of several receptors, including ORs and others—adenosine A2a receptor, dopamine D1 receptor, and adrenergic  $\beta$ 2 receptor—which are known to be associated with G $\alpha$ olf in the striatum [52–54].

### A Preferential Neuronal Expression

In their seminal article, Buck and Axel reported that, within the nervous system, olfactory receptors (ORs) were exclusively expressed in the nasal cavity [1]. Their statement was based on Northern blot experiments, a technique less sensitive than those devised afterward, but it is now well established that ectopic ORs are expressed within the rodent and human central nervous system [32–38]. Using the qPCR technique, we compared *Olfr110/111* and *Olfr544* mRNA production in four



**Fig. 7** Time-dependent expression of the transcripts coding for Olfr110/111 (a, b) and Olfr544 (c, d) in the cortex and hippocampus of WT and 5xFAD mice. In both the cortex and hippocampus of wild-type and transgenic mice, *Olfr110/111* expression tends to increase with age (a, b) and the variation reaches statistical significance at M9 and M12. A different profile is noticed for *Olfr544* (c, d). Overexpression is observed

only at M9 in the cortex of both strains.  $n = 6$  per group. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  (Mann and Whitney non-parametric test). M4 4 months, M6 6 months, M9 9 months, M12 12 months, Tg 5xFAD transgenic mice (striped), WT wild-type mice (plain), Olfr110/111 olfactory receptors 110/111 (green), Olfr544 olfactory receptor 544 (pink)

brain areas—cerebellum, cortex, hippocampus, and eye-balls—from M6 mice. The latter tissue was selected because the expression of multiple ORs in the mature human retina was recently reported [50]. Both receptors are relatively poorly expressed when each nervous region is compared to the reference tissue, namely the olfactory mucosa, although *Olfr544* is more prevalent than *Olfr110/111*. In addition, each receptor displays a specific pattern: *Olfr110/111* is predominantly expressed in the cortex and the eye, while *Olfr544* is highly produced by the cerebellum.

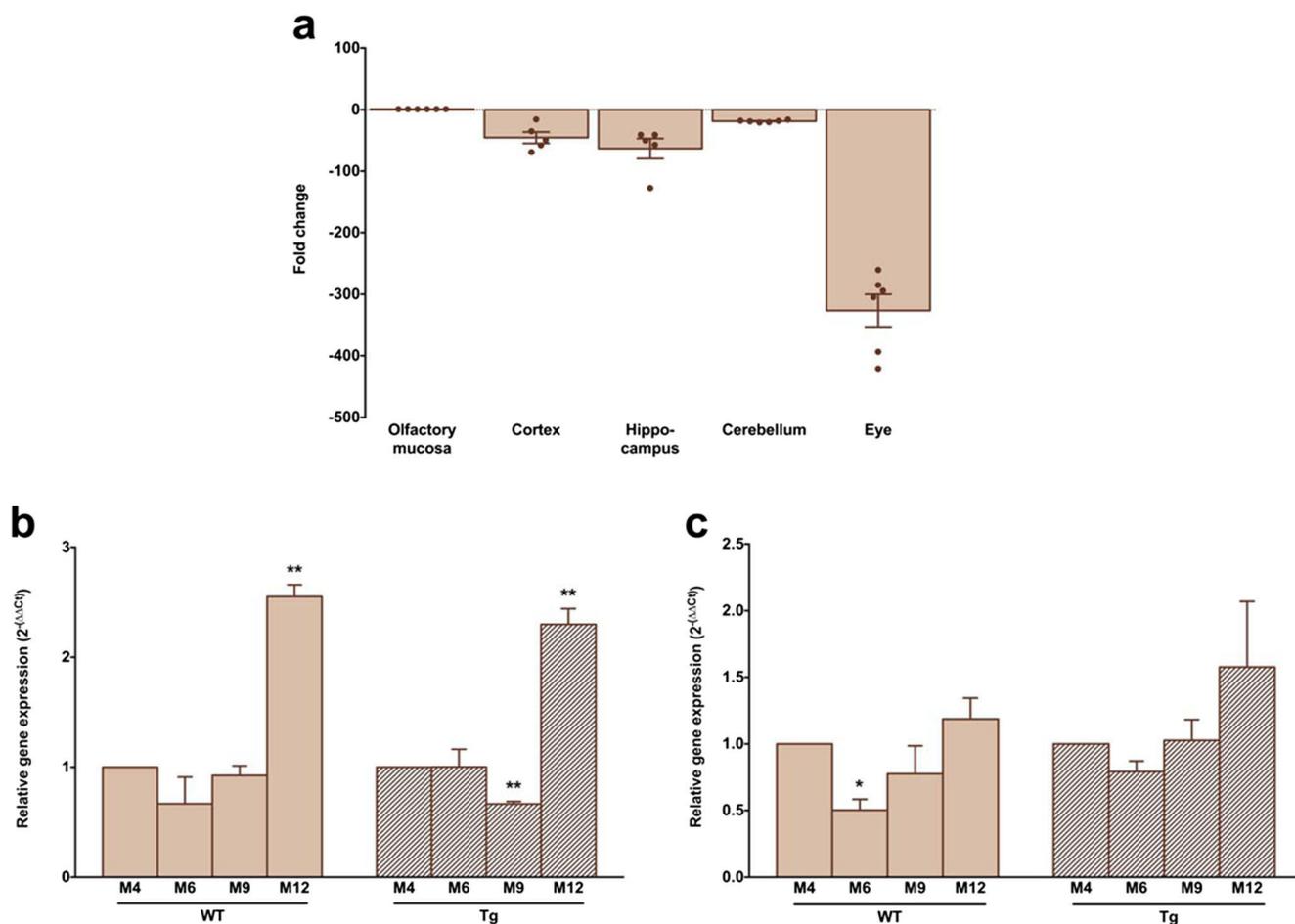
The brain includes five main cell families: astrocytes, endothelial cells, microglia, neurons, and oligodendrocytes. Using a specific antibody for each cell type, we drew a category map for the hippocampus and the cortex. We observed that Olfr110/111 and Olfr544 are strongly expressed by neurons in both areas, according to the documented expression within the referential tissue, the olfactory neuroepithelium [55, 56], and other nervous tissues [15, 33, 37, 38, 57]. However, ORs are not exclusively found in neurons.

Olfr110/111 and Olfr544 are, less abundantly, produced by some astrocytes and microglial cells, as already observed for some OR-expressing glial cells in several areas of the human brain [37]. Olfr110/111 is faintly expressed by a few oligodendrocytes and endothelial cells, whereas Olfr544 is only observed in endothelial cells.

### An Age- and Pathology-Dependent Expression

Within the olfactory mucosa, *Olfr110/111* transcript is more strongly expressed than *Olfr544*. However, their production remains steady, whatever the age considered. Conversely, the kinetic expression of both ORs indicates an age-related dysregulation in wild-type animals.

As an example, we observed an increased expression of *Olfr110/111* mRNA in the cortex, at M9 and M12, and in the hippocampus, at M12. These results are discordant with a study reporting no age-related modified expression for *Olfr110/111* within the cortex. Nevertheless, this could be



**Fig. 8** Tissue- and time-dependent expression of the mRNA coding for  $G\alpha_{olf}$ . In comparison with the olfactory mucosa,  $G\alpha_{olf}$  is poorly expressed in the eyes and, to a lesser extent, in the other examined brain areas (a). Within the cortex,  $G\alpha_{olf}$  is overexpressed at M12 in both strains (b), while, in the hippocampus of wild-type mice, it is

under-expressed at M6 (c).  $n = 6$  per group.  $*p < 0.05$ ;  $**p < 0.01$  (Mann and Whitney non-parametric test). M4 4 months, M6 6 months, M9 9 months, M12 12 months, Tg 5xFAD transgenic mice (striped), WT wild-type mice (plain)

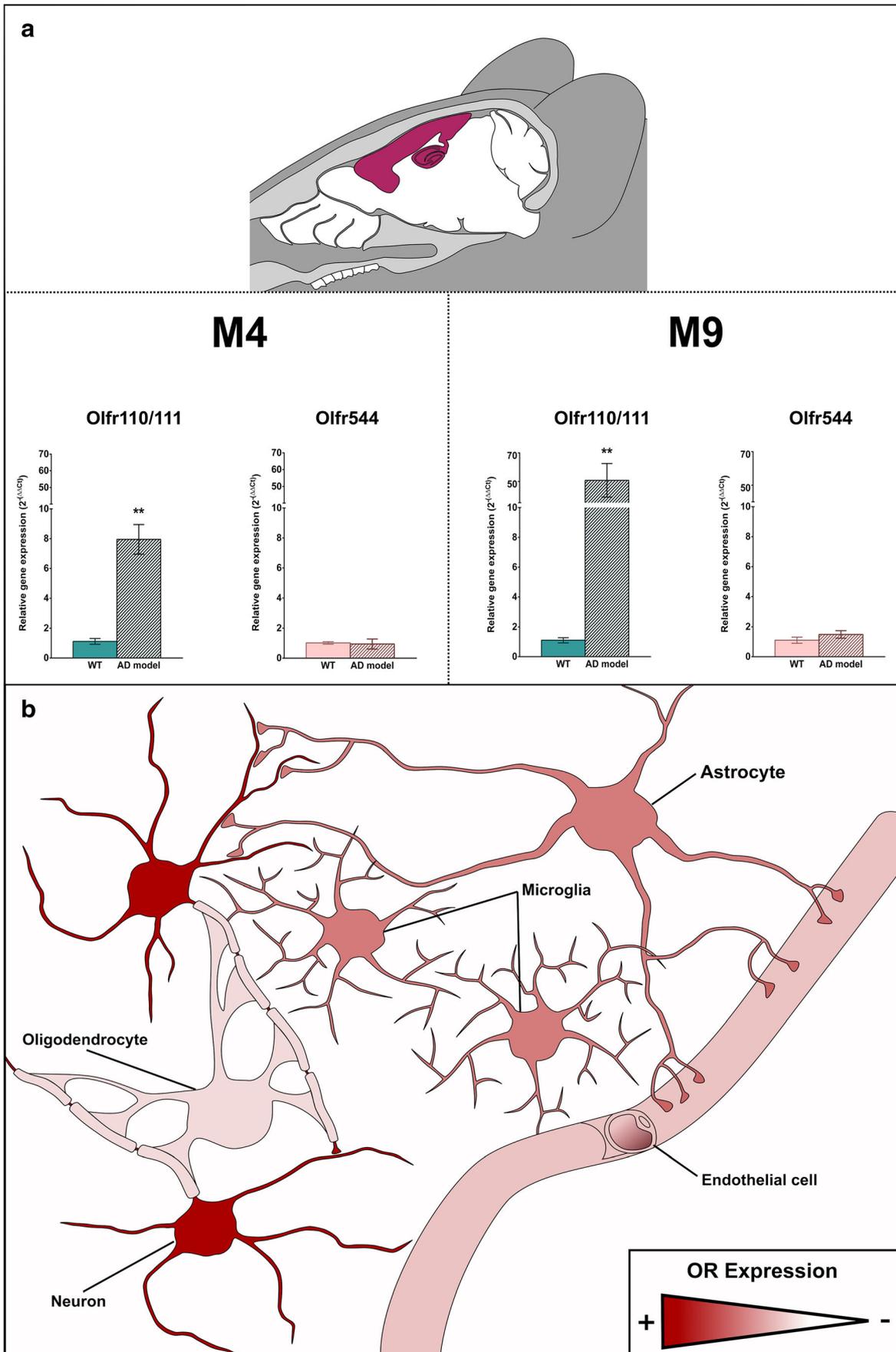
related to sexual dimorphism, since the previous observations were made in female mice [36].

A dysregulated expression of human OR genes has been found in several neuropathologies such as Parkinson's disease [37], Alzheimer's disease (AD), progressive supranuclear palsy, Creutzfeldt-Jakob disease [36], and schizophrenia [39]. We show here that AD pathology does not affect the nasal expression of the two ORs of interest. On the contrary, the production of numerous ORs transcripts is dysregulated in the cortex and hippocampus of transgenic mice modeling AD. These results are partially in line with findings reported in the human entorhinal and frontal cortices: six OR genes are either under- or overexpressed, depending on the stage of the disease [36]. In addition, the current study demonstrates that the expression of many OR transcripts also varies in the hippocampus, in line with AD symptomatology.

In a study based on APP/PS1 transgenic mice, another model of AD, it was shown that  $Olfir110$  expression increases from birth to M12 [36]. Similarly, a transcriptomic experiment

on 5xFAD mice reported a hippocampal overexpression of  $Olfir110/111$  [58]. In line with these previous studies, we show here that transgenic 5xFAD mice exhibit an enhanced expression of  $Olfir110/111$  in the cortex, from M6 to M12, and in the hippocampus, from M9 to M12. Altogether, these results indicate that this OR may play a role in AD pathology. In contrast, the putative role of  $Olfir544$  is more uncertain since this receptor is only overexpressed at M9 in the cortex of 5xFAD mice.

**Fig. 9** Graphical summary. Time-, strain-, and cell type-dependent expression of  $Olfir110/111$  and  $Olfir544$  in the brain. **a** Overall,  $Olfir110/111$  is more highly expressed in Alzheimer's like mice and its overexpression increases with age. No strain- and age-associated change is observed for  $Olfir544$ . **b**  $Olfir110/111$  and  $Olfir544$  are mostly expressed by neurons and to a lesser extent by astrocytes, microglia, and endothelial cells. Only  $Olfir110/111$  is expressed by oligodendrocytes, during late adulthood in 5xFAD mice. OR expression level in neural cells is indicated using a red gradient, ranging from the lowest to the highest



## Possible Role(s) as Immuno-modulators and Mechano-sensors

We report here that the expression of cortical and hippocampal *Olf110/111*, and cortical *Olf1544* mRNAs is increased in 5xFAD mice during the late stages of the pathology. Moreover, both ORs are detected nearby amyloid plaques in the brains of M9 5xFAD mice. Combined together, our results suggest that *Olf110/111* and *Olf1544* are potentially involved in neuroinflammatory processes.

In support of this hypothesis, we can cite a study showing an overexpression of *Olf110* mRNA in cultivated, lipopolysaccharide-activated microglia from *ApoE* knocked-in mice, a model of tauopathy [59]. A presumed link between both ORs and neuroinflammation is reinforced by data indicating an age-associated development of an inflammatory response in C57Bl/6 mice and in human brains [60–63].

More generally, OR involvement in neuroinflammatory processes is increasingly recognized. The activation of two human ORs (OR1D2 and OR2AG1) expressed in airway smooth muscle cells triggers inflammation and contraction of these cells [17]. Similarly, after a sciatic nerve transection, during a phase associated with the detection of stimuli, a dysregulated expression of several olfactory receptors (e.g., *Olf40*, *463*, *629*, *728*, *1108*, and *1589*) was observed [64].

Certain ORs are also known to trigger physiological responses without an agonist stimulation. Interestingly, it has been demonstrated that heterologous expression of an OR confers mechanosensitivity to its host cells, indicating that certain ORs are both necessary and sufficient to cause mechanical responses, without any ligand stimulation [65]. Previous studies also report that the expression of G protein-coupled receptors (GPCRs) can affect metabolism of the amyloid protein precursor (APP) [66]. For example, the expression, without stimulation, of serotonin receptor (5-HT4R) induces APP cleavage, independently of cAMP production, as 5-HT4Rs physically interact with the mature form of ADAM10 [67]. This mechanosensitive function of the cerebral ORs may induce physiological responses to several mechanical stimuli (pressure, stress, membrane stretch).

## Conclusion

Our study aimed to characterize the expression profiles of two ORs in the murine brain, in physiological conditions and in a neurodegenerative context. We demonstrate for the first time the expression of *Olf110/111* and *Olf1544* at the transcript and protein levels, in the cortex and hippocampus, along with  $G\alpha_{olf}$  protein. *Olf110/111* and *Olf1544* are mainly expressed not only by hippocampal and cortical neurons but also by astrocytes, microglia, oligodendrocytes, and endothelial cells. Moreover, *Olf110/111* and *Olf1544* proteins are present at the

cell membrane, likely associated with  $G\alpha_{olf}$ , granting them a potential functionality at the cerebral level. OR mRNA expression is also dysregulated in the 5xFAD transgenic model of AD. The current report represents a new and stimulating insight in the field of neuropathologies, particularly Alzheimer's disease. Further studies are required to shed light on the cerebral roles and implications of *Olf110/111* and *Olf1544*, with exciting possibilities and potential outcomes for drug development.

**Acknowledgements** We thank Kevin Baranger for providing the animals needed and for its helpful comments.

**Funding Information** This work was supported by a research grant from the GPM (“Groupement Pasteur Mutualité”). Fanny Gaudel was a recipient of fellowships from the Edmond Roudnitska Foundation.

## Compliance with Ethical Standards

**Conflict of Interest** The authors declare that they have no competing financial interests.

## References

1. Buck L, Axel R (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65: 175–187
2. Parmentier M, Libert F, Schurmans S, Schiffmann S, Lefort A, Eggerickx D, Ledent C, Mollereau C et al (1992) Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. *Nature* 355:453–455. <https://doi.org/10.1038/355453a0>
3. Asai H, Kasai H, Matsuda Y, Yamazaki N, Nagawa F, Sakano H, Tsuboi A (1996) Genomic structure and transcription of a murine odorant receptor gene: differential initiation of transcription in the olfactory and testicular cells. *Biochem Biophys Res Commun* 221: 240–247. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0580>
4. Vanderhaeghen P, Schurmans S, Vassart G, Parmentier M (1997) Specific repertoire of olfactory receptor genes in the male germ cells of several mammalian species. *Genomics* 39:239–246. <https://doi.org/10.1006/geno.1996.4490>
5. Goto T, Salpekar A, Monk M (2001) Expression of a testis-specific member of the olfactory receptor gene family in human primordial germ cells. *Mol Hum Reprod* 7:553–558
6. Volz A, Ehlers A, Younger R, Forbes S, Trowsdale J, Schnorr D, Beck S, Ziegler A (2003) Complex transcription and splicing of odorant receptor genes. *J Biol Chem* 278:19691–19701. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212424200>
7. Fukuda N, Yomogida K, Okabe M, Touhara K (2004) Functional characterization of a mouse testicular olfactory receptor and its role in chemosensing and in regulation of sperm motility. *J Cell Sci* 117: 5835–5845. <https://doi.org/10.1242/jcs.01507>
8. Fukuda N, Touhara K (2006) Developmental expression patterns of testicular olfactory receptor genes during mouse spermatogenesis: olfactory receptor expression in mouse germ cells. *Genes Cells* 11: 71–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2005.00915.x>
9. Sanz G, Schlegel C, Pernollet J-C, Briand L (2005) Comparison of odorant specificity of two human olfactory receptors from different phylogenetic classes and evidence for antagonism. *Chem Senses* 30:69–80. <https://doi.org/10.1093/chemse/bji002>

10. Saito H, Chi Q, Zhuang H, Matsunami H, Mainland JD (2009) Odor coding by a mammalian receptor repertoire. *Sci Signal* 2:ra9. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000016>
11. Veitinger T, Riffell JR, Veitinger S, Nascimento JM, Triller A, Chandsawangbhuwana C, Schwane K, Geerts A et al (2011) Chemosensory Ca<sup>2+</sup> dynamics correlate with diverse behavioral phenotypes in human sperm. *J Biol Chem* 286:17311–17325. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.211524>
12. Adipietro KA, Mainland JD, Matsunami H (2012) Functional evolution of mammalian odorant receptors. *PLoS Genet* 8:e1002821. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002821>
13. Walensky LD, Roskams AJ, Lefkowitz RJ, Snyder SH, Ronnett GV (1995) Odorant receptors and desensitization proteins colocalize in mammalian sperm. *Mol Med Camb Mass* 1:130–141
14. Vanderhaeghen P, Schurmans S, Vassart G, Parmentier M (1997) Molecular cloning and chromosomal mapping of olfactory receptor genes expressed in the male germ line: evidence for their wide distribution in the human genome. *Biochem Biophys Res Commun* 237:283–287. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7043>
15. Weber M, Pehl U, Breer H, Strotmann J (2002) Olfactory receptor expressed in ganglia of the autonomic nervous system. *J Neurosci Res* 68:176–184
16. Gu X, Karp PH, Brody SL, Pierce RA, Welsh MJ, Holtzman MJ, Ben-Shahar Y (2014) Chemosensory functions for pulmonary neuroendocrine cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 50:637–646. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2013-0199OC>
17. Kalbe B, Knobloch J, Schulz VM, Wecker C, Schlimm M, Scholz P, Jansen F, Stoelben E et al (2016) Olfactory receptors modulate physiological processes in human airway smooth muscle cells. *Front Physiol* 7:339. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00339>
18. Busse D, Kudella P, Grüning N-M, Gisselmann G, Ständer S, Luger T, Jacobsen F, Steinsträßer L et al (2014) A synthetic sandalwood odorant induces wound-healing processes in human keratinocytes via the olfactory receptor OR2AT4. *J Invest Dermatol* 134:2823–2832. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.273>
19. Gelis L, Jovancevic N, Veitinger S, Mandal B, Arndt HD, Neuhaus EM, Hatt H (2016) Functional characterization of the odorant receptor 51E2 in human melanocytes. *J Biol Chem* 291:17772–17786. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.734517>
20. Tsai T, Veitinger S, Peek I, Busse D, Eckardt J, Vladimirova D, Jovancevic N, Wojcik S et al (2016) Two olfactory receptors -OR2A4/7 and OR51B5- differentially affect epidermal proliferation and differentiation. *Exp Dermatol* 26:58–65. <https://doi.org/10.1111/exd.13132>
21. Zhang X, De la Cruz O, Pinto JM et al (2007) Characterizing the expression of the human olfactory receptor gene family using a novel DNA microarray. *Genome Biol* 8:R86. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-5-r86>
22. Pluznick JL, Zou D-J, Zhang X, Yan Q, Rodriguez-Gil DJ, Eisner C, Wells E, Greer CA et al (2009) Functional expression of the olfactory signaling system in the kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:2059–2064. <https://doi.org/10.1073/pnas.0812859106>
23. Kang N, Bahk YY, Lee N, Jae YG, Cho YH, Ku CR, Byun Y, Lee EJ et al (2015) Olfactory receptor Olfr544 responding to azelaic acid regulates glucagon secretion in  $\alpha$ -cells of mouse pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 460:616–621. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.03.078>
24. Feldmesser E, Olender T, Khen M, Yanai I, Ophir R, Lancet D (2006) Widespread ectopic expression of olfactory receptor genes. *BMC Genomics* 7:121. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-121>
25. Kang N, Koo J (2012) Olfactory receptors in non-chemosensory tissues. *BMB Rep* 45:612–622
26. Flegel C, Manteniotis S, Osthold S, Hatt H, Gisselmann G (2013) Expression profile of ectopic olfactory receptors determined by deep sequencing. *PLoS One* 8:e55368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055368>
27. Flegel C, Schöbel N, Altmüller J, Becker C, Tannapfel A, Hatt H, Gisselmann G (2015) RNA-Seq analysis of human trigeminal and dorsal root ganglia with a focus on chemoreceptors. *PLoS One* 10:e0128951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128951>
28. Griffin CA, Kafadar KA, Pavlath GK (2009) MOR23 promotes muscle regeneration and regulates cell adhesion and migration. *Dev Cell* 17:649–661. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.09.004>
29. Braun T, Volland P, Kunz L, Prinz C, Gratzl M (2007) Enterochromaffin cells of the human gut: sensors for spices and odorants. *Gastroenterology* 132:1890–1901. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.02.036>
30. Pluznick JL, Protzko RJ, Gevorgyan H, Peterlin Z, Sipos A, Han J, Brunet I, Wan LX et al (2013) Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:4410–4415. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215927110>
31. Spehr M (2003) Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science* 299:2054–2058. <https://doi.org/10.1126/science.1080376>
32. Raming K, Konzelmann S, Breer H (1998) Identification of a novel G-protein coupled receptor expressed in distinct brain regions and a defined olfactory zone. *Recept Channels* 6:141–151
33. Conzelmann S, Levai O, Bode B, Eisel U, Raming K, Breer H, Strotmann J (2000) A novel brain receptor is expressed in a distinct population of olfactory sensory neurons. *Eur J Neurosci* 12:3926–3934
34. Yuan TT, Toy P, McClary JA et al (2001) Cloning and genetic characterization of an evolutionarily conserved human olfactory receptor that is differentially expressed across species. *Gene* 278:41–51
35. Otaki JM, Yamamoto H, Firestein S (2004) Odorant receptor expression in the mouse cerebral cortex. *J Neurobiol* 58:315–327. <https://doi.org/10.1002/neu.10272>
36. Ansoleaga B, Garcia-Esparcia P, Llorens F, Moreno J, Aso E, Ferrer I (2013) Dysregulation of brain olfactory and taste receptors in AD, PSP and CJD, and AD-related model. *Neuroscience* 248:369–382. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.06.034>
37. Garcia-Esparcia P, Schlüter A, Carmona M, Moreno J, Ansoleaga B, Torrejón-Escribano B, Gustincich S, Pujol A et al (2013) Functional genomics reveals dysregulation of cortical olfactory receptors in Parkinson disease: Novel putative chemoreceptors in the human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 72:524–539. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318294fd76>
38. Grison A, Zucchelli S, Urzi A, Zamparo I, Lazarevic D, Pascarella G, Roncaglia P, Giorgetti A et al (2014) Mesencephalic dopaminergic neurons express a repertoire of olfactory receptors and respond to odorant-like molecules. *BMC Genomics* 15:729. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-729>
39. Ansoleaga B, Garcia-Esparcia P, Pinacho R, Haro JM, Ramos B, Ferrer I (2015) Decrease in olfactory and taste receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex in chronic schizophrenia. *J Psychiatr Res* 60:109–116. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.09.012>
40. Hawrylycz MJ, Lein ES, Guillozet-Bongaarts AL, Shen EH, Ng L, Miller JA, van de Lagemaat LN, Smith KA et al (2012) An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature* 489:391–399. <https://doi.org/10.1038/nature11405>
41. Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, Craft J, Guillozet-Bongaarts A, Ohno M et al (2006) Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci* 26:10129–10140. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>

42. Belloir C, Miller-Leseigneur M-L, Neiers F, Briand L, le Bon AM (2017) Biophysical and functional characterization of the human olfactory receptor OR1A1 expressed in a mammalian inducible cell line. *Protein Expr Purif* 129:31–43. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2016.09.006>
43. Low VF, Mombaerts P (2017) Odorant receptor proteins in the mouse main olfactory epithelium and olfactory bulb. *Neuroscience* 344:167–177. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.12.044>
44. Jones DT, Reed RR (1989) Golf: an olfactory neuron specific-G protein involved in odorant signal transduction. *Science* 244:790–795
45. Drinnan SL, Hope BT, Snutch TP, Vincent SR (1991) G(olf) in the basal ganglia. *Mol Cell Neurosci* 2:66–70
46. Hervé D, Rogard M, Lévi-Strauss M (1995) Molecular analysis of the multiple golf alpha subunit mRNAs in the rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 32:125–134
47. Belluscio L, Gold GH, Nemes A, Axel R (1998) Mice deficient in G(olf) are anosmic. *Neuron* 20:69–81
48. Vemula SR, Puschmann A, Xiao J, Zhao Y, Rudzińska M, Frei KP, Truong DD, Wszolek ZK et al (2013) Role of Gα(olf) in familial and sporadic adult-onset primary dystonia. *Hum Mol Genet* 22:2510–2519. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt102>
49. Pronin A, Levay K, Velmeshev D, Faghihi M, Shestopalov VI, Slepak VZ (2014) Expression of olfactory signaling genes in the eye. *PLoS One* 9:e96435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096435>
50. Jovancevic N, Khalfaoui S, Weinrich M, Weidinger D, Simon A, Kalbe B, Kernt M, Kampik A et al (2017) Odorant receptor 51E2 agonist β-ionone regulates RPE cell migration and proliferation. *Front Physiol* 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00888>
51. Weber L, Al-Refae K, Ebbert J et al (2017) Activation of odorant receptor in colorectal cancer cells leads to inhibition of cell proliferation and apoptosis. *PLoS One* 12:e0172491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172491>
52. Hervé D, Le Moine C, Corvol JC et al (2001) Gα(olf) levels are regulated by receptor usage and control dopamine and adenosine action in the striatum. *J Neurosci* 21:4390–4399
53. Corvol JC, Studler JM, Schonn JS, Girault JA, Hervé D (2001) Gα(olf) is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum. *J Neurochem* 76:1585–1588
54. Hara M, Fukui R, Hieda E, Kuroiwa M, Bateup HS, Kano T, Greengard P, Nishi A (2010) Role of adrenoceptors in the regulation of dopamine/DARPP-32 signaling in neostriatal neurons. *J Neurochem* 113:1046–1059. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06668.x>
55. Shepherd GM (1985) The olfactory system: the uses of neural space for a non-spatial modality. *Prog Clin Biol Res* 176:99–114
56. Buck LB (1996) Information coding in the vertebrate olfactory system. *Annu Rev Neurosci* 19:517–544. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.19.030196.002505>
57. Gong L, Chen Q, Gu X, Li S (2015) Expression and identification of olfactory receptors in sciatic nerve and dorsal root ganglia of rats. *Neurosci Lett* 600:171–175. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.06.019>
58. Siwek ME, Müller R, Henseler C, Trog A, Lundt A, Wormuth C, Broich K, Ehninger D et al (2015) Altered theta oscillations and aberrant cortical excitatory activity in the 5XFAD model of Alzheimer's disease. *Neural Plast* 2015:781731. <https://doi.org/10.1155/2015/781731>
59. Shi Y, Yamada K, Liddelov SA, Smith ST, Zhao L, Luo W, Tsai RM, Spina S et al (2017) ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature* 549:523–527. <https://doi.org/10.1038/nature24016>
60. Machado-Salas JP, Scheibel AB (1979) Limbic system of the aged mouse. *Exp Neurol* 63:347–355
61. Lee CK, Weindruch R, Prolla TA (2000) Gene-expression profile of the ageing brain in mice. *Nat Genet* 25:294–297. <https://doi.org/10.1038/77046>
62. Lu T, Pan Y, Kao S-Y, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA (2004) Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 429:883–891. <https://doi.org/10.1038/nature02661>
63. Raj D, Yin Z, Breur M, Doorduyn J, Holtman IR, Olah M, Mantingh-Otter II, van Dam D et al (2017) Increased white matter inflammation in aging- and Alzheimer's disease brain. *Front Mol Neurosci* 10:206. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00206>
64. Li S, Liu Q, Wang Y, Gu Y, Liu D, Wang C, Ding G, Chen J et al (2013) Differential gene expression profiling and biological process analysis in proximal nerve segments after sciatic nerve transection. *PLoS One* 8:e57000. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057000>
65. Connelly T, Yu Y, Grosmaître X, Wang J, Santarelli LC, Savigner A, Qiao X, Wang Z et al (2015) G protein-coupled odorant receptors underlie mechanosensitivity in mammalian olfactory sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci* 112:590–595. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418515112>
66. Thathiah A, De Strooper B (2011) The role of G protein-coupled receptors in the pathology of Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 12:73–87. <https://doi.org/10.1038/nrn2977>
67. Cochet M, Donneger R, Cassier E, Gaven F, Lichtenthaler SF, Marin P, Bockaert J, Dumuis A et al (2013) 5-HT4 receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and interact with ADAM10. *ACS Chem Neurosci* 4:130–140. <https://doi.org/10.1021/cn300095t>

**Supplementary Table 1. Deregulated expression of genes coding for olfactory receptors in the cortex and hippocampus of 5xFAD mice, at M1, M4, M6 and M9.** Overexpressed and under-expressed transcripts in transgenic mice are indicated in red and green, respectively. *Olfir*: Olfactory receptor; *Gnal*: *Gaolf*; *Adcy3*: *Adenylyl cyclase 3*. n=3 per group (pooled results).

**Supplementary Figure 1. Tissue-dependent expression of mRNAs coding for *Olfir110/111*, *Olfir544* and *Gaolf* protein.** In comparison with the olfactory mucosa, *Olfir110/111*, *Olfir544* and *Gaolf* transcripts are poorly expressed in the central nervous system. A receptor-related expression profile is observed: *Olfir110/111* is more predominant in the cortex and the eye at M4, M9 and M12 (a) while *Olfir544* is more abundantly expressed in the cerebellum, at M4, M9 and M12 (b) and *Gaolf* is less expressed in the eye than in the cortex, the hippocampus and the cerebellum, at M4, M9 and M12. n=6 per group. \*\*, p<0,01 (Mann and Whitney non-parametric test).

*M4, 4 months; M9, 9 months; M12, 12 months; WT, wild type mice. Olfir110/111, olfactory receptors 110/111 (green); Olfir544, olfactory receptor 544 (pink); Gaolf, Gaolf protein gene (dark pink).*

**Supplementary Figure 2. Neuronal expression of *Olfir110/111* and *Olfir544*.** The cortex (a, c) and hippocampus (b, d) of 9 month-old WT mice were double-immunostained with specific antibodies for neurons (NeuN, green) and the two studied receptors (magenta). *Olfir110/111* (a, b) and *Olfir544* (c, d) are weakly expressed by a small number of neurons. Scale bar = 10  $\mu$ m.

**Supplementary Figure 3. Expression of *Olfir110/111* and *Olfir544* in astrocytes.** The cortex (a, c) and hippocampus (b, d) of 9 month-old WT mice were double-immunostained with specific antibodies for astrocytes (GFAP, green) and the two studied receptors (magenta).

Olf110/111 (a, b) and Olf544 (c, d) are weakly expressed by a few astrocytes. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$ .

**Supplementary Figure 4. Expression of Olf110/111 and Olf544 in the brains of 9 month-old 5xFAD mice.** Olf110/111 (top, magenta) and Olf544 (bottom, magenta) are observed in the vicinity of amyloid plaques (green). Scale bar = 10  $\mu\text{m}$ .

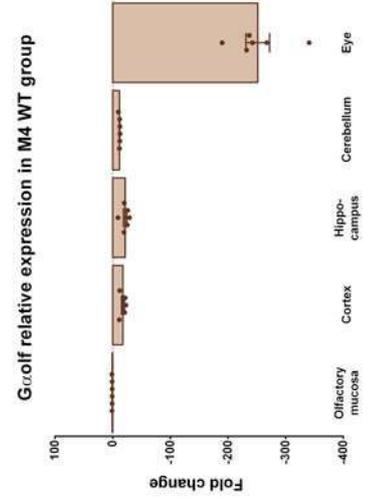
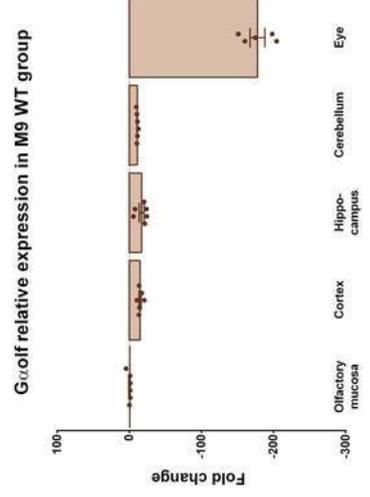
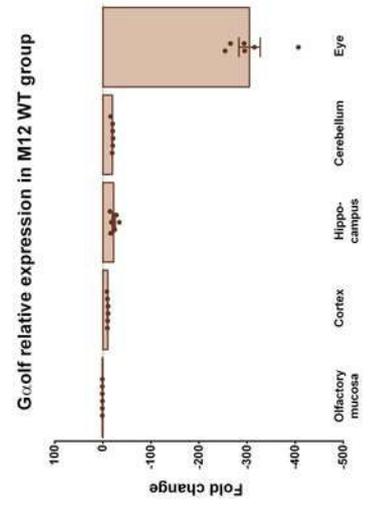
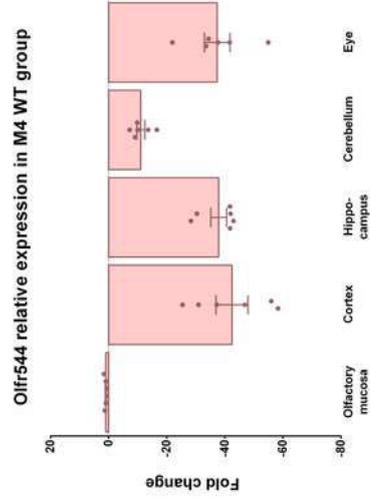
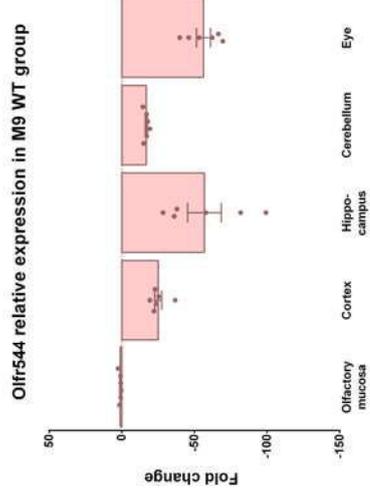
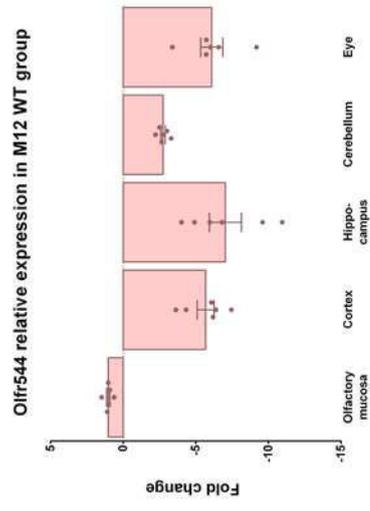
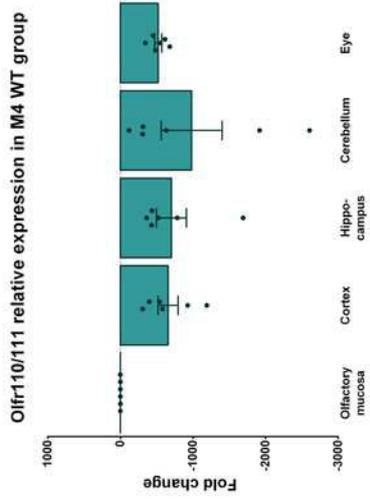
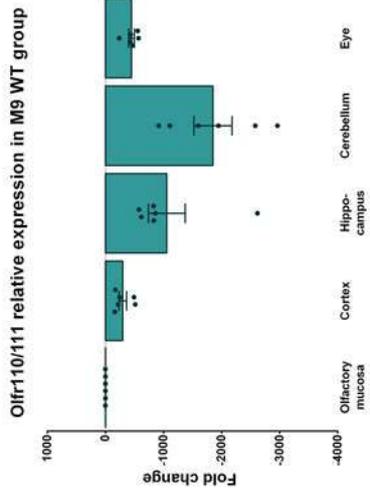
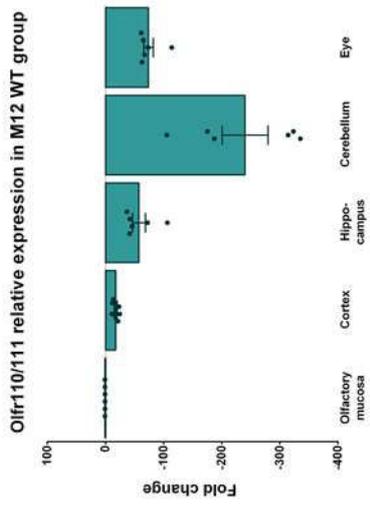
**Supplementary Figure 5. Olf110/111 and Olf544 are present at the cell membrane.** Hippocampal sections of 6 month-old WT mice were double-stained with specific antibodies for Olf110/111 (a, b, c) and Olf544 (d, e, f) (magenta), and a fluorescent marker of the cell membrane (WGA, Wheat Germ Agglutinin, green). Both receptors are observed at the cell membrane, in the dentate gyrus (a, d), the CA3 field (b, e) and the cortex (c, f). Scale bar = 5  $\mu\text{m}$ .

**Supplementary Figure 6. Olf110/111 and Olf544 are co-expressed with G $\alpha$ olf in the hippocampus and cortex.** Hippocampal sections of 9 month-old transgenic mice were double-stained with specific antibodies for Olf110/111 (a, b, c), Olf544 (d, e, f) (magenta) and G $\alpha$ olf (green). Both receptors are co-expressed with G $\alpha$ olf in the dentate gyrus (a, d), the CA3 field (b, e) and the cortex (c, f). Scale bar = 10  $\mu\text{m}$ .

**Supplementary Figure 7. Time- and area-dependent expression of the transcripts coding for Olf110/111 and Olf544.** In comparison with wild type animals, transgenic mice display an increased expression of *Olf110/111*, at all time points, in the cortex (a) and the hippocampus (b). For *Olf544* (c, d), a dysregulated expression is observed only at M6, in the cortical area. n=6 per group. \*: p<0,05; \*\*: p<0,01 (Mann and Whitney non-parametric test).

*M4, 4 months; M6, 6 months; M9, 9 months; M12, 12 months; Tg, 5xFAD transgenic mice (striped); WT, wild type mice (flat); Olfr110/111, olfactory receptors 110/111 (green); Olfr544, olfactory receptor 544 (pink).*

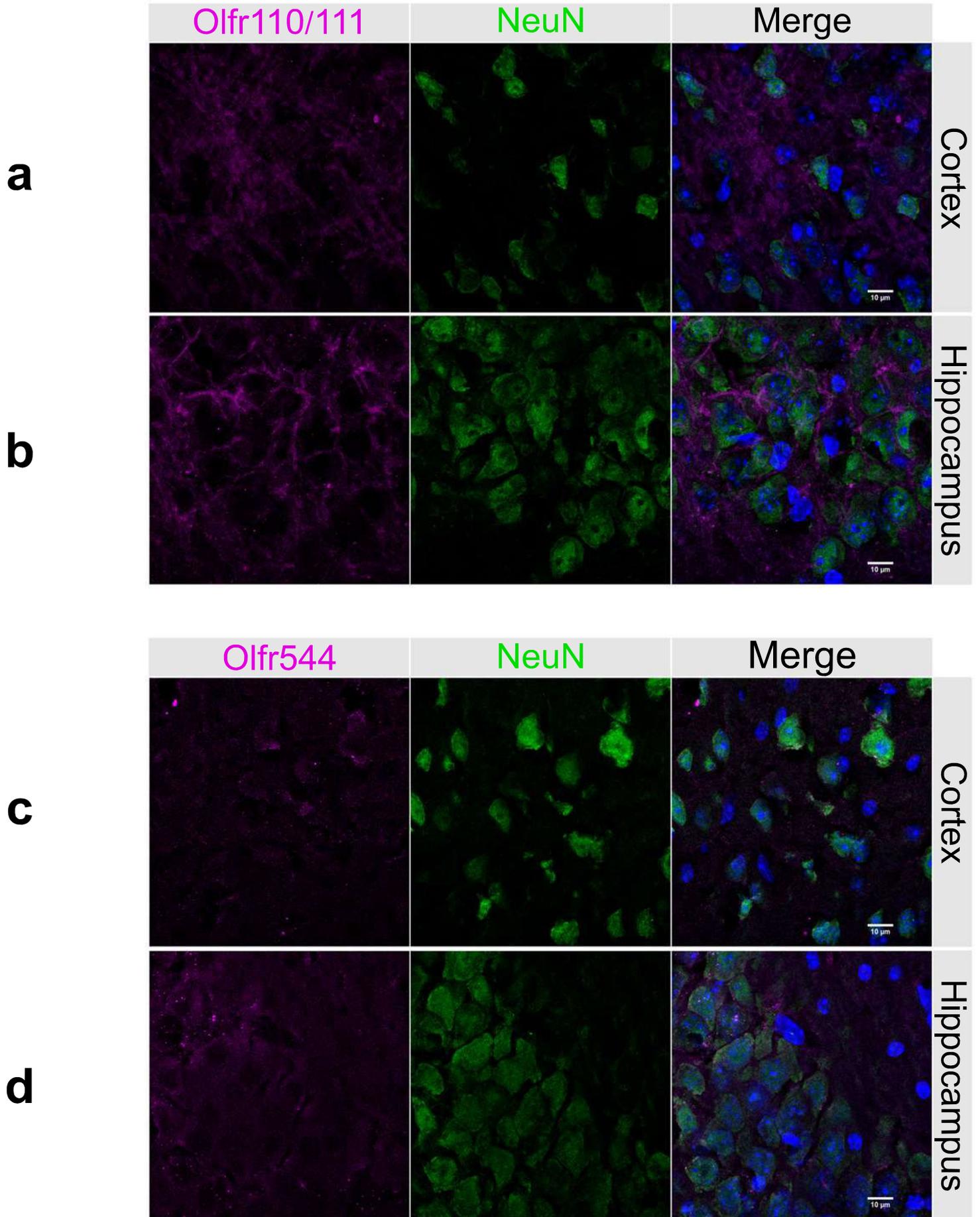
**Supplementary Figure 8. Western-blot analysis of the heterologous expression of Olfr110 and Olfr544 in HEK293T cells.** The proteins extracted from HEK cells, transfected with either *Olfr110* or *Olfr544* or pcDNA3.1 were submitted to an immunolabeling with antibodies raised against Olfr110 or Olfr544. The anti-Olfr110 and anti-Olfr544 antibodies reveal a protein weighing about 35 kDa. Both immunolabeled proteins are expressed in the transiently OR transfected-HEK cells but no protein is detected in pcDNA3.1 transfected-HEK cells, as expected.



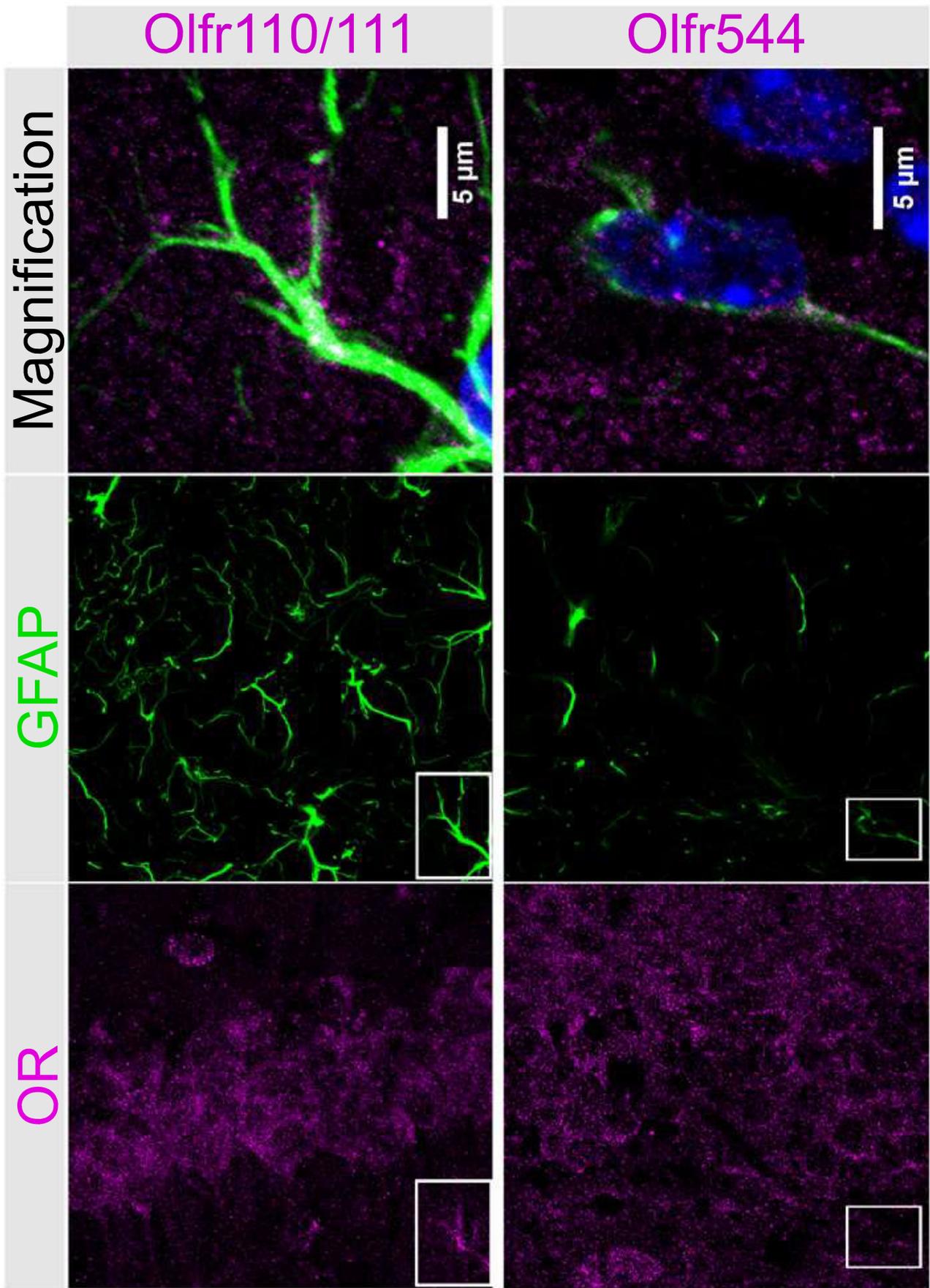
**a**

**b**

**c**

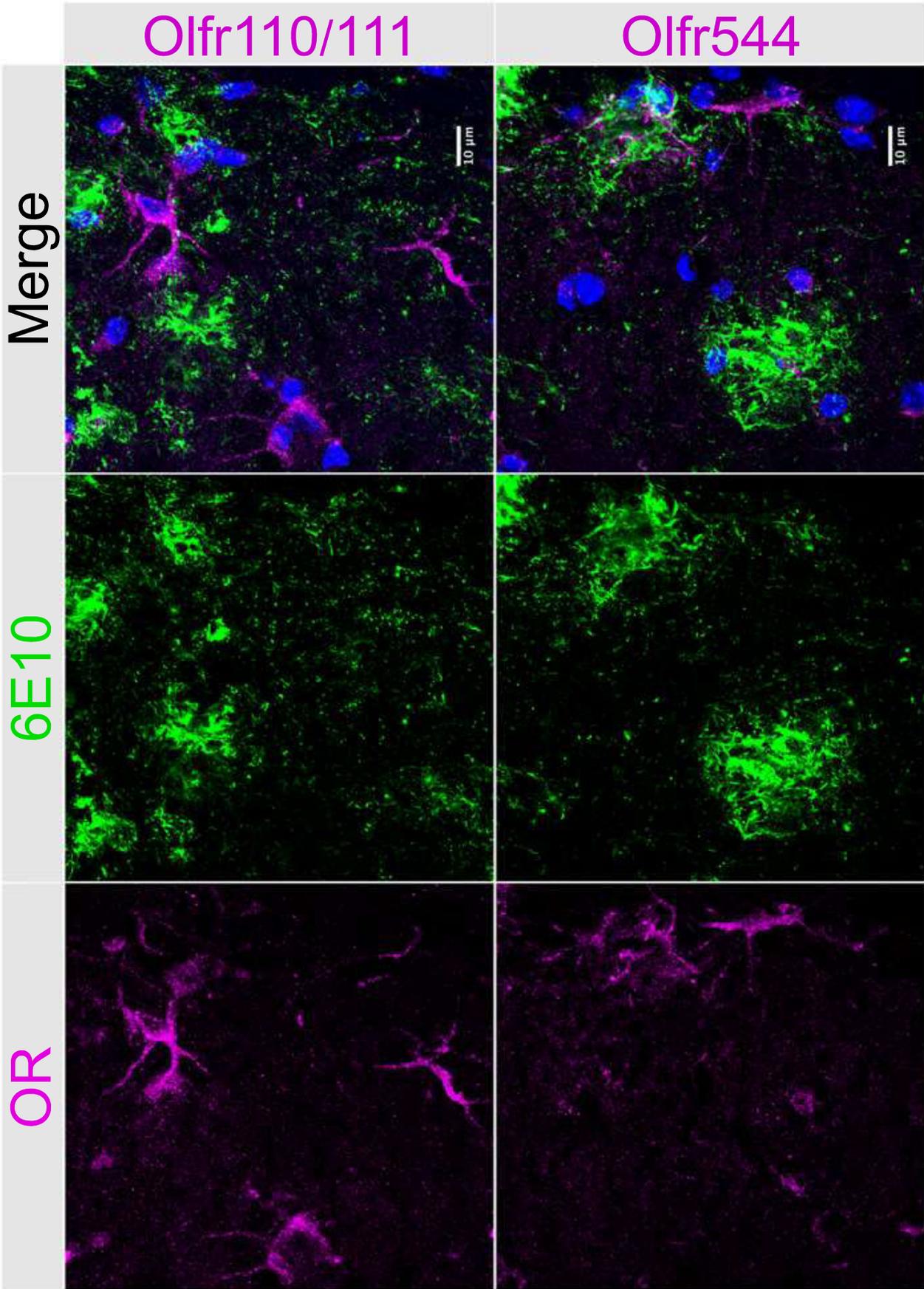


Supplementary Figure 2



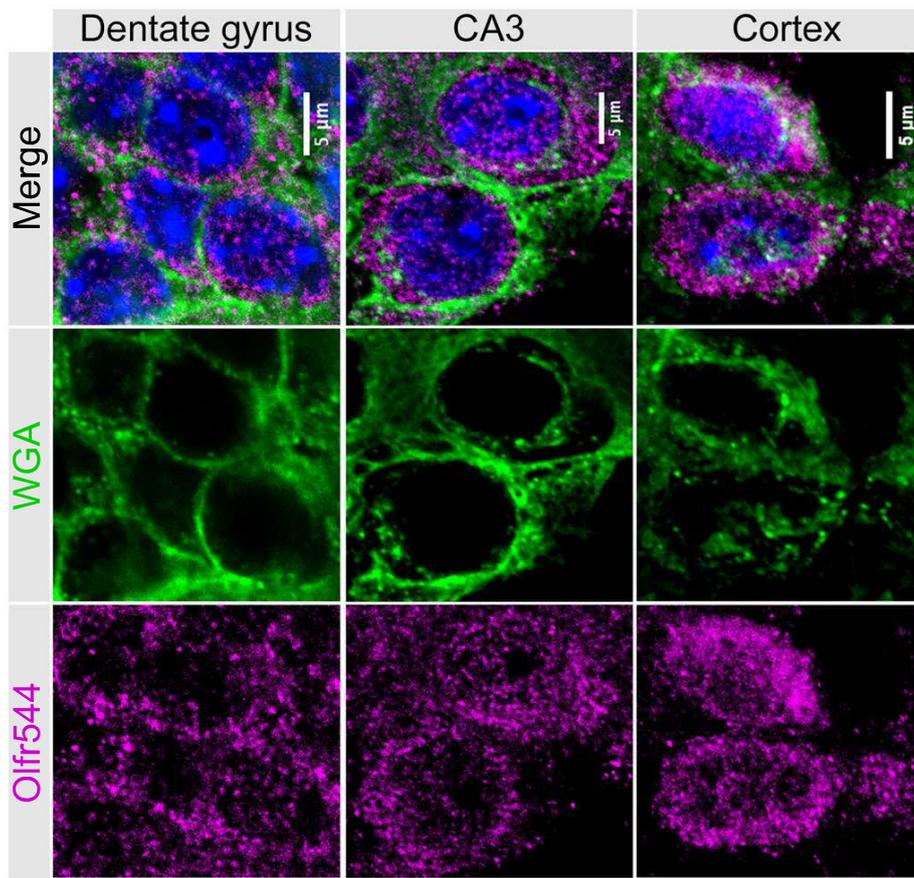
**a**

**b**



**a**

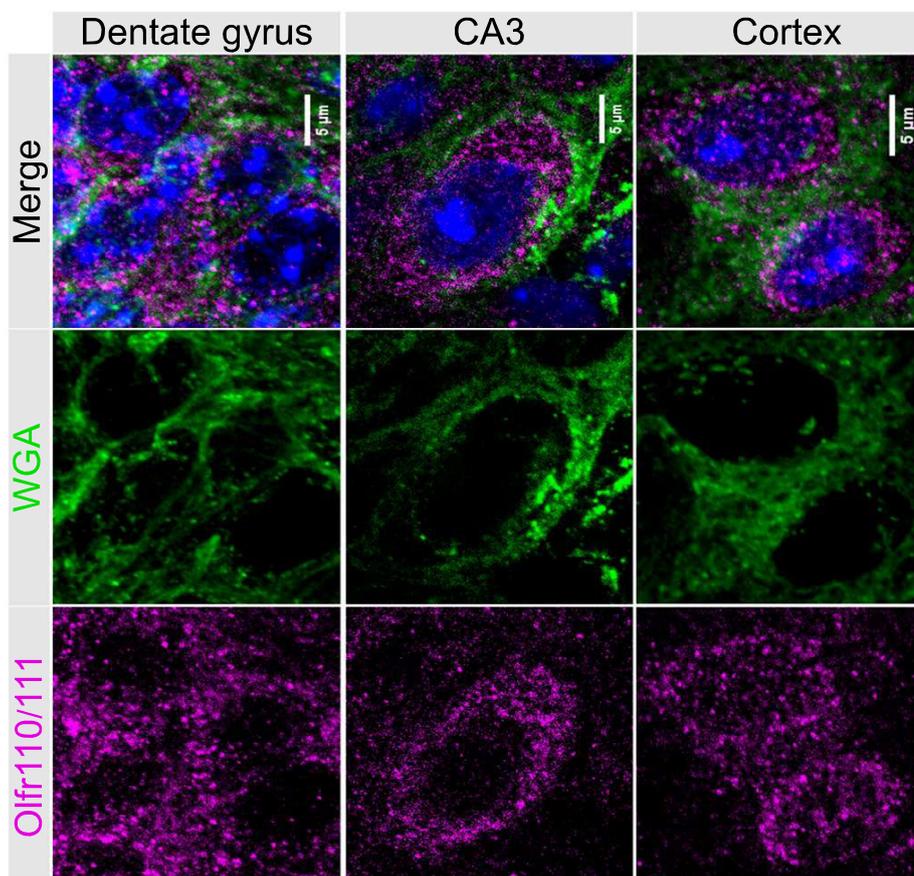
**b**



**d**

**e**

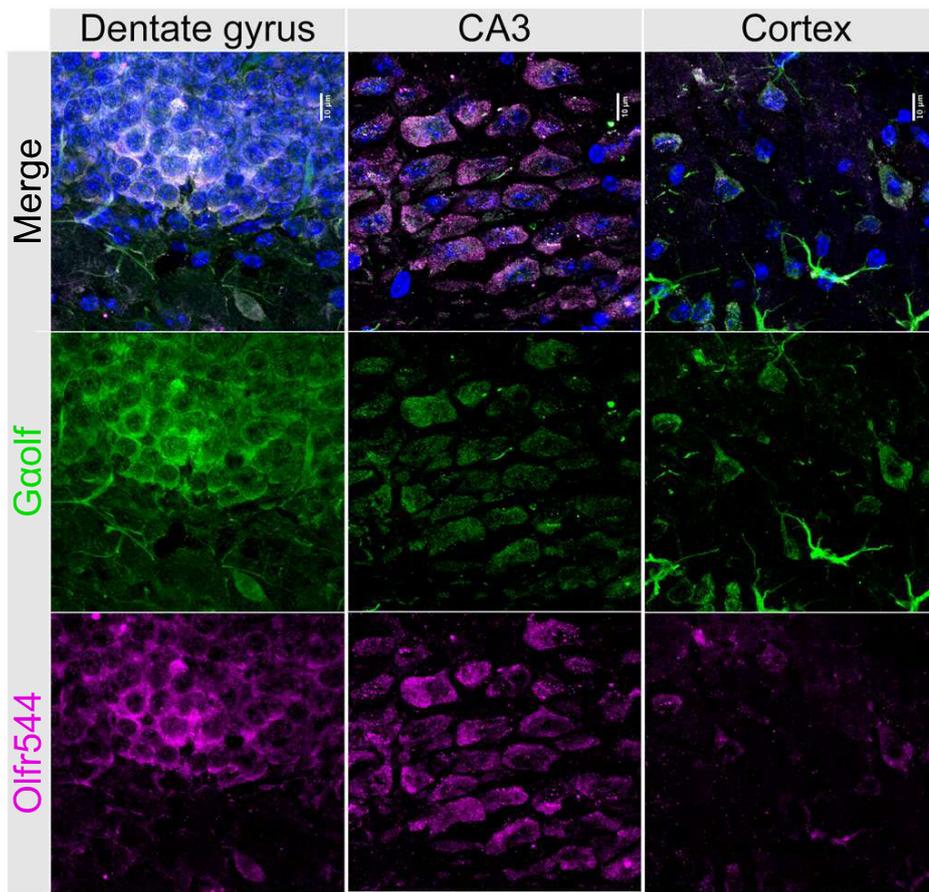
**f**



**a**

**b**

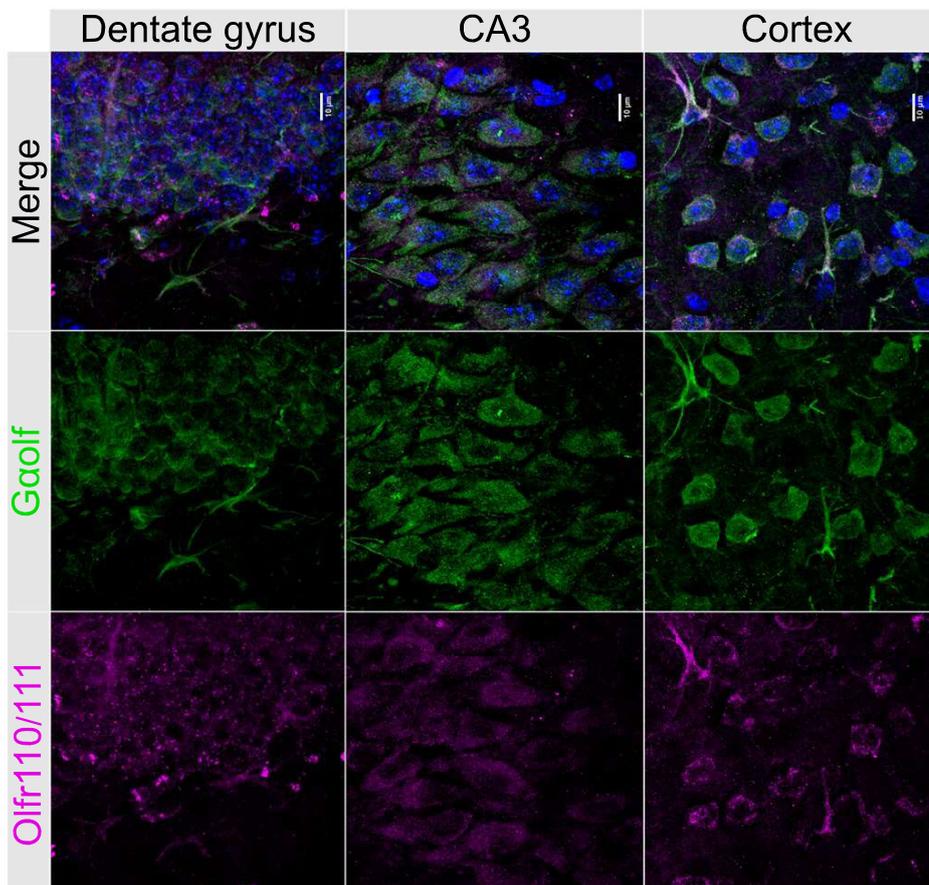
**c**



**d**

**e**

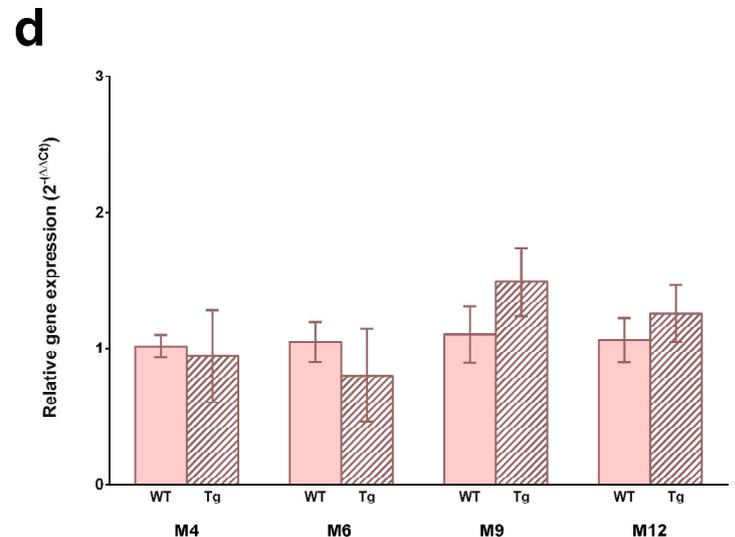
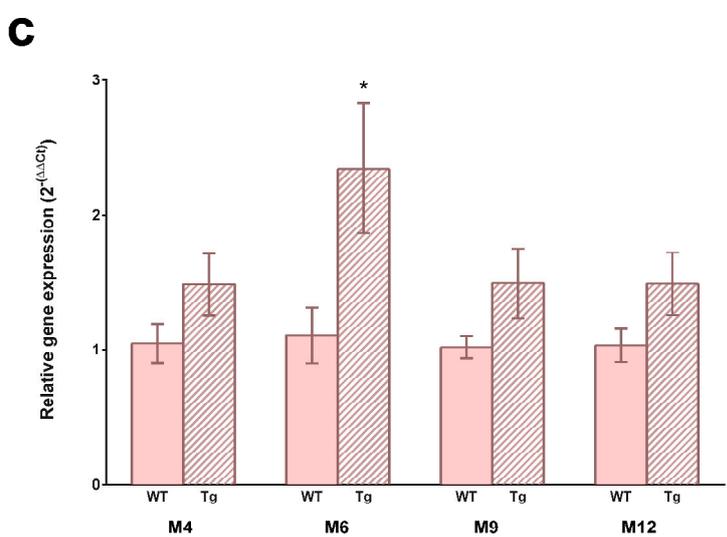
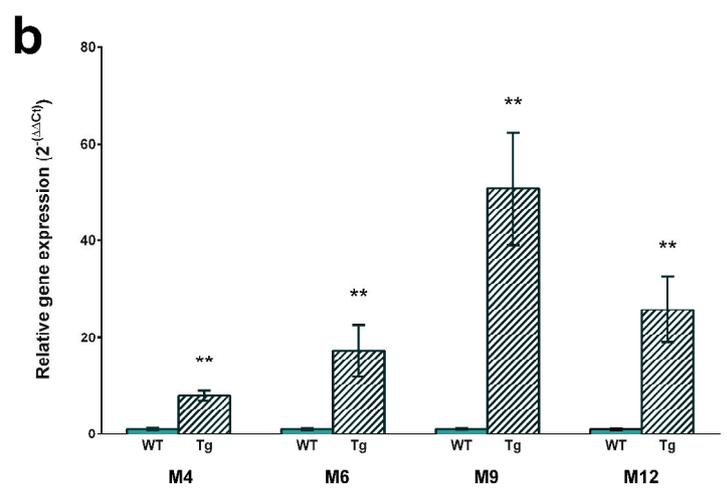
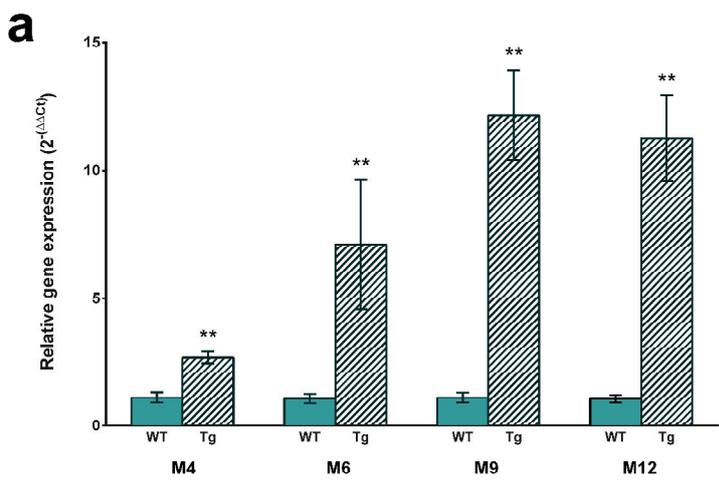
**f**



**a**

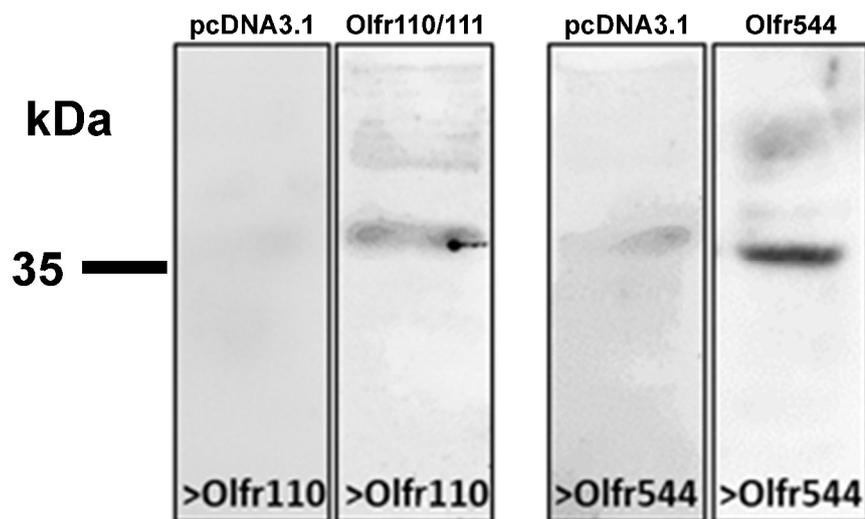
**b**

**c**



Supplementary Figure 7

## Transfected HEK293T cells



## Article 2

### **Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice**

**Gaudel F.**, Stephan D., Landel V., Sicard G., Féron F.\* & Guiraudie-Capraz G.\*

*Publié : Molecular Neurobiology.*

#### **1. Contexte et objectifs**

Comme décrit dans l'introduction de ce manuscrit, des récepteurs olfactifs dits «ectopiques» ont été retrouvés dans des tissus et organes non chimiosensoriels de rongeurs et d'humains. Cette découverte a suscité un vif intérêt et de nombreuses études ont permis de déterminer que ces récepteurs y jouent une variété de rôles. Par exemple, les récepteurs olfactifs pancréatiques régulent la glycémie, ceux de la peau sont impliqués dans la prolifération cellulaire et la régénération des monocouches kératinocytaires, et au niveau des spermatozoïdes, des récepteurs olfactifs favorisent la motilité (Busse et al., 2014; Kang et al., 2015b; Spehr, 2003) (**Figure 21**). Dans le système nerveux central, de nombreux gènes encodant les récepteurs olfactifs humains et murins sont exprimés (voir l'introduction ou pour revue Ferrer et al., 2016). Au niveau protéique, seulement 4 récepteurs olfactifs (OR2A4, OR2H2, OR6B2 et OR6K3) ont été identifiés dans le système nerveux humain au niveau des

cellules satellites des ganglions des racines dorsales et à celui des neurones du cortex cérébral, du thalamus, du tronc cérébral et du cervelet (Flegel et al., 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 23 C-H** et **Tableau 2**). Une seule étude a démontré à ces niveaux l'expression protéique de deux de leurs partenaires canoniques de signalisation,  $G\alpha_{olf}$  et AC3 (Garcia-Esparcia et al., 2013). De plus, une expression anormale des récepteurs olfactifs humains a été observée dans plusieurs pathologies telles que les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt-Jakob, la paralysie supranucléaire progressive et la schizophrénie (Ansoleaga et al., 2013, 2015; Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 25**). Cependant, nous ne possédons quasiment aucune information sur leur cinétique d'expression, les types cellulaires qui les produisent et leurs fonctions physiologiques et physiopathologiques potentielles.

Ainsi, nous avons cherché à savoir où et quand deux récepteurs olfactifs – *Olf110/111* et *Olf544* – ainsi que leur partenaire canonique  $G\alpha_{olf}$ , sont exprimés dans le cerveau au cours du vieillissement chez des souris sauvages ou modèles de la maladie d'Alzheimer.

## 2. Méthodes

Pour cette étude, nous avons utilisé des souris sauvages et des souris transgéniques mimant certains symptômes de la maladie d'Alzheimer (modèle 5xFAD), âgées de 4, 6, 9 et 12 mois. Pour comparer l'expression des transcrits entre ces deux groupes d'animaux, une puce à ADN a été réalisée dans un premier temps. Elle a révélé que l'expression de nombreux gènes codant pour les récepteurs olfactifs murins varie chez les souris transgéniques. Ces premiers résultats ont été vérifiés à tous les âges en utilisant la technique d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel (RT-qPCR), permettant d'isoler 2 gènes d'intérêt dont l'expression varie au cours de la pathologie : *Olf110/111* et *Olf544*. Ainsi, les cinétiques d'expression de ces deux gènes ainsi que celle du gène  $G\alpha_{olf}$  ont été réalisées par RT-qPCR sur des échantillons de muqueuse olfactive (contrôle positif), cortex, hippocampe, cervelet et œil (contrôle négatif)

des deux groupes de souris. Par la suite, l'expression protéique d'Olf110/111 et Olf544 a été étudiée par immunohistochimie dans l'hippocampe et le cortex de souris sauvages et 5xFAD âgées de 4, 6 et 9 mois. J'ai utilisé des anticorps spécifiques de ces deux récepteurs olfactifs en conjugaison avec des marqueurs des différents types cellulaires cérébraux (neurones, astrocytes, oligodendrocytes, microglie, cellules endothéliales) afin de cartographier leur expression cérébrale. La spécificité des anticorps anti-Olf a été contrôlée par western blot en créant des lignées cellulaires HEK293 exprimant l'un ou l'autre des deux récepteurs possédant un épitope FLAG et en effectuant des marquages immunohistochimiques dans la muqueuse olfactive de jeunes souris. De plus, j'ai évalué la fonctionnalité potentielle de ces protéines, tout d'abord en déterminant si elles sont exprimées à la membrane des cellules en utilisant les anticorps spécifiques des récepteurs olfactifs en conjugaison d'un marqueur membranaire, la *wheat-germ agglutinin* (WGA). Par la suite, j'ai réalisé une seconde série de co-marquages en combinant, cette fois, les anticorps des récepteurs olfactifs à celui de la protéine  $G_{\alpha_{olf}}$ . Enfin, j'ai examiné des relations potentielles entre les marquages protéiques d'Olf110/111 et les plaques amyloïdes caractéristiques de la maladie d'Alzheimer et retrouvées chez les souris 5xFAD. Pour ce faire, j'ai encore une fois combiné les anticorps des récepteurs olfactifs au marqueur 6E10, spécifique d'un fragment du peptide A $\beta$  composant ces plaques.

### **3. Résultats et conclusion**

Cette étude visait donc à caractériser les profils d'expression génétique et protéique de deux récepteurs olfactifs dans le cerveau de souris, dans des conditions physiologiques mais également dans un contexte neurodégénératif. Ce travail, à notre connaissance, est le premier à offrir une caractérisation aussi avancée de l'expression de récepteurs olfactifs cérébraux.

En utilisant les méthodes décrites ci-dessus, nous montrons pour la première fois que les protéines des récepteurs olfactifs Olf110/111 et Olf544 sont principalement exprimées par

les neurones et, bien que dans une moindre mesure, par les astrocytes, la microglie, les oligodendrocytes (*Olf110/111* seulement) et les cellules endothéliales, dans les régions du cortex et de l'hippocampe. Chez les souris 5xFAD, l'expression neuronale, astrocytaire et microgliale des récepteurs olfactifs semble exacerbée. Nous avons également été en mesure de déterminer que ces deux récepteurs olfactifs sont potentiellement fonctionnels au niveau de ces cellules. Leurs protéines sont en effet présentes au niveau de la membrane cellulaire et du cytoplasme, et co-exprimées avec la protéine  $G\alpha_{olf}$ .

L'étude de l'expression transcriptomique d'*Olf110/111* et *Olf544* m'a aussi permis de déterminer qu'ils sont exprimés, en plus du cortex et de l'hippocampe, au niveau du cervelet et des yeux chez les souris sauvages et 5xFAD, bien que faiblement par rapport à leur expression au sein de la muqueuse olfactive. À ce niveau l'expression d'*Olf110/111* est plus forte que celle d'*Olf544* et inversement, l'expression d'*Olf544* rapportée à celle dans la muqueuse olfactive est plus forte que celle d'*Olf110/111* dans le cortex, l'hippocampe, le cervelet et les yeux.

Par ailleurs, nous avons constaté que l'expression de l'ARNm codant pour *Olf110/111* tend à augmenter avec l'âge dans le cortex et l'hippocampe des souris sauvages et 5xFAD. En effet, chez les souris sauvages, ce récepteur est surexprimé dès le 9<sup>ème</sup> mois de vie dans le cortex et à 12 mois chez les souris sauvages. Ceci contredit la seule étude de cinétique d'expression cérébrale d'un récepteur olfactif, qui démontrait que l'expression du transcrit *Olf110* ne varie pas avec l'âge chez les souris sauvages (Ansoleaga et al., 2013) (**Figure 25 A**). De plus, nos résultats montrent que l'expression d'*Olf110/111* est nettement altérée dans le cerveau des souris modèles de la maladie d'Alzheimer. En effet, l'expression corticale et hippocampique de ce récepteur est surélevée dès 6 mois dans le cortex et 9 mois dans l'hippocampe. Les résultats les plus frappants sont obtenus en comparant l'expression d'*Olf110/111* chez les souris 5xFAD par rapport aux souris sauvages. Le transcrit de ce récepteur est en effet significativement surexprimé à tous les âges (4, 6, 9 et 12 mois) chez les souris transgéniques.

L'expression de ce transcrite atteint son niveau extrême à 9 mois chez les souris 5xFAD et est 12 fois (dans le cortex) et 50 fois (dans l'hippocampe) supérieure à l'expression d'*Olf110/111* observée dans les mêmes régions cérébrales des souris sauvages. Un profil différent est observé pour *Olf544*. Son transcrite est en effet statistiquement surexprimé dans le cortex et l'hippocampe des deux groupes de souris âgées de 9 mois. De plus, en comparant les groupes d'animaux, une surexpression significative d'*Olf544* a uniquement été observée dans le cortex des souris 5xFAD âgées de 6 mois. Cependant, une tendance à la surexpression de ce transcrite a été observée dans les 3 autres tranches d'âges dans le cortex et à 9 mois dans l'hippocampe.

Enfin, l'utilisation du marqueur des plaques amyloïdes 6E10 chez la souris transgénique a révélé l'expression protéique des deux récepteurs olfactifs à proximité des plaques amyloïdes. Ce marquage des récepteurs olfactifs était localisé sur des petites cellules présentant des prolongements fins et ressemblant fortement à des cellules microgliales. Ceci indique donc que les récepteurs olfactifs, comme nous l'avons démontré probablement fonctionnels au niveau cérébral, pourraient être impliqués dans le contexte inflammatoire de la maladie d'Alzheimer. Les cellules microgliales sont en effet connues comme représentant la principale forme de défense immunitaire résidente du cerveau, et sont très sensibles à toute altération de l'homéostasie cérébrale. Dans ce contexte neurodégénératif d'accumulation extracellulaire des plaques amyloïdes, les récepteurs olfactifs microgliaux pourraient participer à la chimiotaxie de ces cellules en les guidant vers les sites saturés de peptides A $\beta$  agglomérés. Une fois sur place, les cellules microgliales pourraient phagocyter ces dépôts pour tenter de rétablir l'homéostasie du tissu cérébral.

Ceci n'est cependant qu'une hypothèse et des études supplémentaires seront nécessaires afin d'établir avec précision le rôle des récepteurs olfactifs cérébraux en conditions physiologiques et physiopathologiques. Dans l'ensemble, ces résultats pionniers fournissent des preuves excitantes que ces récepteurs pourraient jouer des rôles importants dans le fonctionnement du cerveau, dans des conditions normales et pathologiques. Les récepteurs olfactifs

constituent en effet la moitié de la superfamille des RCPG chez l'homme, superfamille dont l'activité est d'ores et déjà modulée par plus de 30% des médicaments sur le marché. On pourrait imaginer, sur le long terme, la possibilité d'un ciblage thérapeutique de l'activité des récepteurs olfactifs cérébraux pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, mais également de celles de nombreuses autres maladies neurodégénératives, si les études futures confirment nos hypothèses sur le rôle crucial de ces récepteurs au niveau du système nerveux.

# The brain smells and tastes the self – Lessons from the Allen Brain Atlas

**Gaudel F., Vergez A., Guiraudie-Capraz G. <sup>\*\*</sup> & Féron F. <sup>#</sup>**

Aix Marseille Univ, CNRS, INP, Inst Neurophysiopathol, Marseille, France

<sup>#</sup>Féron F. and Guiraudie-Capraz G. supervised equally this work.

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel.: + 33 (0) 4 91 69 89 10; fax: + 33 (0) 4 91 25 89 70.

*E-mail address:* gaelle.guiraudie@univ-amu.fr

Animals strongly rely on chemical senses to uncover the outside world and adjust their behaviour. Chemical signals are perceived by facial sensitive chemosensors that can be clustered into three families, namely the gustatory (TASR), olfactory (OR, TAAR), and pheromonal (VNR, FPR) receptors. Over the recent decades, chemoreceptors were identified in non-facial parts of the body, including the brain. In order to map chemoreceptors within the encephalon, we performed a study based on data from the Allen Brain Atlas. We analysed, in 13 brain areas of healthy and demented human brains, the expression of members from the three chemoreceptor families and their canonical partners. We observed that the transcripts of all chemoreceptor families are expressed in the central nervous system, particularly in the limbic system. Their canonical transduction partners (G proteins, ion channels) are also expressed in all studied brain areas, reinforcing the suggestion that cerebral chemoreceptors are functional. In addition, we noticed that i) the brain displays a preference for bitterness and is equipped to sense trace amine and pheromonal cues and ii) chemoreceptor expression varies with age but not dementia or brain trauma. Extensive studies are now required to further understand how the brain makes sense of endogenous chemicals.

Chemical senses, first on the scene during evolution, play a key role in major functions. They are essential for finding food, identifying poisons, detecting mates, offspring and predators, recognizing territories, avoiding danger and triggering the appropriate responses<sup>1-11</sup>. Canonically, a molecule or a cocktail of molecules bind to chemoreceptors (CRs) located in the nasal and oral areas, and induce chemical and electrical signals that are decoded by the central nervous system. However, the academic view of chemical senses, making only sense of the external world, has been broadened by the discovery of ectopic CRs at the turn of the 21<sup>st</sup> century (for a recent review, <sup>12</sup>). In other words, chemical senses are exteroceptive as well as interoceptive senses: they taste and smell the non-self and the self.

Taste and olfactory receptors have been found in nearly every assessed organ. In most cases, these ectopic receptors do not exert any function in interoception, defined as the sense of the internal state of the body<sup>13,14</sup>, since the tissue that is hosting them is not connected to the nervous system. However, they are involved in physiological functions, as demonstrated in a few recent examples. Bitter taste receptors have been identified in human and mouse airway smooth muscles. They reduce airway obstruction in a mouse model of asthma by producing smooth muscle relaxation when activated<sup>15</sup>. Identified specific olfactory receptors play a part in spermatozoid mobility<sup>16</sup>, skin repair<sup>17,18</sup> and may work as sentinels in the lungs and the gastrointestinal tract<sup>19,20</sup>. It seems that the gut “tastes” parasites before initiating immune responses<sup>21</sup> and kidneys “smell” fatty acids and respond by regulating blood pressure<sup>22</sup>. Expectedly, chemoreceptors are also observed in the central nervous system (for a recent review, <sup>23,24</sup>). For example, 6 taste receptors and 12 olfactory receptors are observed in the human frontal cortex and their expression is modulated during neurodegenerative diseases, such as, Alzheimer’s disease, progressive supranuclear palsy, Creutzfeldt-Jakob disease, Parkinson’s disease or schizophrenia, thus suggesting a role for these chemoreceptors in neuropathologies<sup>25-28</sup>. Very recently, our team also reported that the expression of two olfactory receptors - Olfr110/111 and Olfr544 – is markedly impaired in the brain (cortex, hippocampus) of a mouse model of Alzheimer’s disease<sup>29</sup>. Nonetheless, no study has ever exhaustively mapped chemoreceptors within the encephalon. Taking advantage of the freely accessible Allen brain atlas (<http://www.brain-map.org>), provided by the Allen Institute, we decided to use the transcriptome data, obtained *via* cDNA microarray and RNA sequencing, to chart human cerebral chemoreceptors. For that purpose, we assessed the expression of taste receptors (TAS1R, TAS2R), pheromone-associated receptors (VNRs, FPRs), pheromone- and odour-associated receptors (TAARs) and olfactory receptors (ORs) as well as their canonical partners (G proteins, ion channels and elements of the transduction pathway) in 13 cerebral areas.

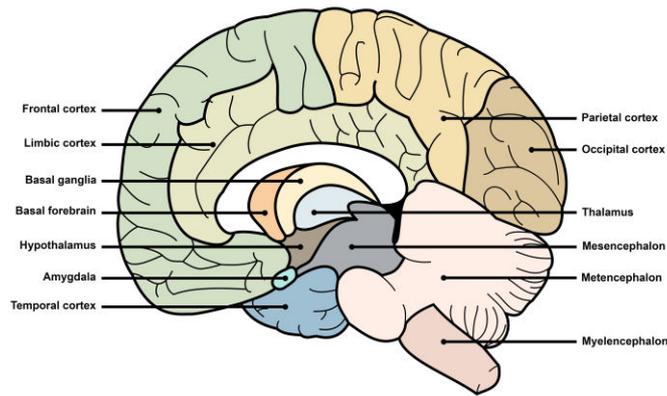
### Olfactory receptors

Class I	Cerebral areas	References
OR51A4		
OR51A7		
OR51E1	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-28
OR52B6		
OR52E8		
OR52H1	EC, PFC, FC, Cb	27
OR52K1	Homolog of Olfr544, found in cortex and hippocampus	29
OR52K2	Homolog of Olfr544, found in cortex and hippocampus	29
OR52L1	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-28
OR52M1	EC, PFC, FC, Cb	27
Class II	Cerebral areas	References
OR2D2	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-28
OR2L13	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-28
OR2T1	EC, PFC, FC, Cb	27
OR2T33	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-28
OR4F4	EC, PFC, FC, SN, Cb	26-28
OR5V1	Homolog of Olfr110/111, found in cortex and hippocampus	26,29
OR6F1	EC, PFC, FC, Cb	27
OR10A2		
OR10G8	EC, PFC, FC, SN, Cb	26-28
OR11H1	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28

### Taste receptors

Type 1	Cerebral areas	References
TAS1R1		
TAS1R2		
TAS1R3		
Type 2	Cerebral areas	References
TAS2R1		
TAS2R4	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28
TAS2R5	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28
TAS2R10	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28
TAS2R13	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28
TAS2R14	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28
TAS2R31		
TAS2R38		
TAS2R45		
TAS2R50	EC, PFC, FC, SN, Cb	25-26,28

**Table 1. Selection of the olfactory receptors (OR) and taste receptors (TASR) genes used in the study.** The human OR family includes 396 members, clustered into class I, “fish-like”, and class II, “tetrapod-like”, while TASR family is sub-divided into “sweet” type 1 (TAS1R, 3 members), and “sour” type 2 (TAS2R, 25 members). Large families were restricted to 10 genes. EC: entorhinal cortex, PFC: prefrontal cortex, FC: frontal cortex, SN: *substantia nigra*, Cb: cerebellum.



Frontal cortex	Limbic cortex	Occipital cortex	Amygdala	Thalamus	Mesencephalon
Anterior orbital gyrus	Frontal part	Cuneus / striate	Central nucleus	Anterior group of nuclei	Midbrain raphe nuclei
Frontal operculum	Parietal part	Cuneus / peristriate	Basomedial nucleus	Dorsal lateral geniculate nucleus	Midbrain reticular formation
Gyrus rectus	Retrosplenial part	Inferior occipital gyrus	Basolateral nucleus	Lateral group of nuclei, anterior	Oculomotor nuclear complex
Inferior frontal gyrus / opercular part	Subcallosal cingulate gyrus	Lingual gyrus / striate	Lateral nucleus	Lateral group of nuclei, posterior	Red nucleus
Inferior frontal gyrus / triangular part	Dentate gyrus	Lingual gyrus / peristriate		Medial geniculate complex	Substantia nigra pars compacta
Inferior frontal gyrus / orbital part	CA1 field	Occipito-temporal gyrus	<b>Basal forebrain</b>	Medial group of nuclei	Substantia nigra pars reticulata
Inferior rostral gyrus	CA3 field	Superior occipital gyrus	Septal nuclei	Posterior group of nuclei	
Lateral orbital gyrus	CA4 field		Substantia innominata	Reticular nucleus of thalamus	<b>Metencephalon</b>
Medial orbital gyrus	CA4 field	<b>Temporal cortex</b>			Cerebellar cortex
Middle frontal gyrus	Subiculum	Fusiform gyrus	<b>Basal ganglia</b>	<b>Hypothalamus</b>	Cerebellar nuclei
Paracentral lobule (anterior part)	Parahippocampal gyrus	Heschl's gyrus	Globus pallidus	Lateral hypothalamic area / anterior region	Pontine nuclei
Parolfactory gyri	Piriform cortex	Inferior temporal gyrus	Striatum / caudate nucleus	Lateral hypothalamic area / mammillary region	Abducens nucleus
Posterior orbital gyrus		Middle temporal gyrus	Striatum / nucleus accumbens	Lateral hypothalamic area / tuberal region	Facial motor nucleus
Precentral gyrus	<b>Parietal cortex</b>	Planum polare	Striatum / putamen	Anterior hypothalamic area	Pontine raphe nucleus
Superior frontal gyrus	Inferior parietal lobule / angular gyrus	Planum temporale		Paraventricular nucleus	Paramedian pontine reticular formation
Superior rostral gyrus	Inferior parietal lobule / supramarginal gyrus	Superior temporal gyrus		Supraoptic nucleus	Trigeminal nuclei
	Post-central gyrus	Temporal pole		Mammillary body	
	Precuneus	Transverse gyri		Tuberomammillary nucleus	<b>Myelencephalon</b>
	Superior parietal lobule			Preoptic region	Vestibular nuclei
				Dorsomedial hypothalamic nucleus	Inferior olivary complex
				Ventromedial hypothalamic nucleus	Medullary reticular formation
					Raphe nuclei of medulla
					Spinal trigeminal nucleus

**Figure 1. Areas of the human brain included in the study.** Visual representation of the human brain with arrows indicating the main areas (top). Table detailing the sub-structures included in each main zone (bottom).

## Results

**Human facial chemoreceptor transcripts are expressed in the brain.** The human face harbours numerous olfactory receptor-associated genes – 396 coding genes and 425 pseudogenes – a smaller number of taste receptor-associated genes – 28 coding genes and 11 pseudogenes – a few number of trace amine-associated receptors – 6 coding genes and 3 pseudogenes - and a variety of pheromone receptor-associated genes – 7 coding genes and 200 pseudogenes. The Allen Brain transcriptome reveals that most of the chemoreceptor-related coding genes are expressed in the human brain. Figure 2 summarises the main findings: 95% (376/396) of ORs genes and 100% of TASRs, TAARs, VNRs and FPRs genes are observed. Conversely, the human brain excludes most if not all chemoreceptor-linked pseudogenes: only 2% of ORs and 1% of VNRs pseudogenes are detected in the central nervous system.



**Figure 2. Genome versus transcriptome comparison of human chemoreceptors (CRs).** The number of genes and pseudogenes expressed in the whole genome (left pie charts) was compared to those found to be transcribed (right pie charts), for all CR families: olfactory receptors (a, green), taste receptors (b, blue), trace amine-associated receptors (c, purple), vomeronasal receptors (d, red), and formyl peptide receptors (e, brown), The coloured areas correspond to coding genes and dark grey areas to pseudogenes. The census of genes expressed in the brain transcriptome was carried out using data from all 5 subjects available in the Allen brain atlas.

**The limbic system smells the self.** Both families of ORs – class I “fish-like” and class II “tetrapod-like” – are expressed with an average log<sub>2</sub> expression of  $1.99 \pm 0.04$  and  $2.46 \pm 0.04$ , respectively (Figure 3a, b, h). On average, class II ORs are significantly more expressed than class I ORs (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ) (Supplementary Figure 1). Altogether, ORs are predominantly expressed in the limbic system, namely amygdala, basal forebrain, basal ganglia, limbic cortex, and hypothalamus. For the 10 selected class I ORs, their mean expression varies according to the brain area, as follows: amygdala ( $2.32 \pm 0.17$ ), hypothalamus ( $2.16 \pm 0.13$ ), basal forebrain

(2.13 ± 0.14), limbic cortex (2.05 ± 0.27), basal ganglia (2.01 ± 0.21), frontal cortex (1.96 ± 0.29), temporal cortex (1.95 ± 0.30), parietal cortex (1.94 ± 0.30), occipital cortex (1.91 ± 0.29), mesencephalon (1.91 ± 0.22), thalamus (1.86 ± 0.19), myelencephalon (1.83 ± 0.25), metencephalon (1.82 ± 0.22) (Figure 3a).

Similarly, for the 10 selected class II ORs, the following mean expression is observed: amygdala (2.72 ± 0.24), basal forebrain (2.63 ± 0.27), hypothalamus (2.60 ± 0.26), basal ganglia (2.52 ± 0.27), myelencephalon (2.49 ± 0.35), limbic cortex (2.48 ± 0.31), thalamus (2.45 ± 0.34), metencephalon (2.42 ± 0.34), occipital cortex (2.41 ± 0.35), parietal cortex (2.34 ± 0.32), mesencephalon (2.34 ± 0.33), temporal cortex (2.34 ± 0.31), frontal cortex (2.28 ± 0.32) (Figure 3b).

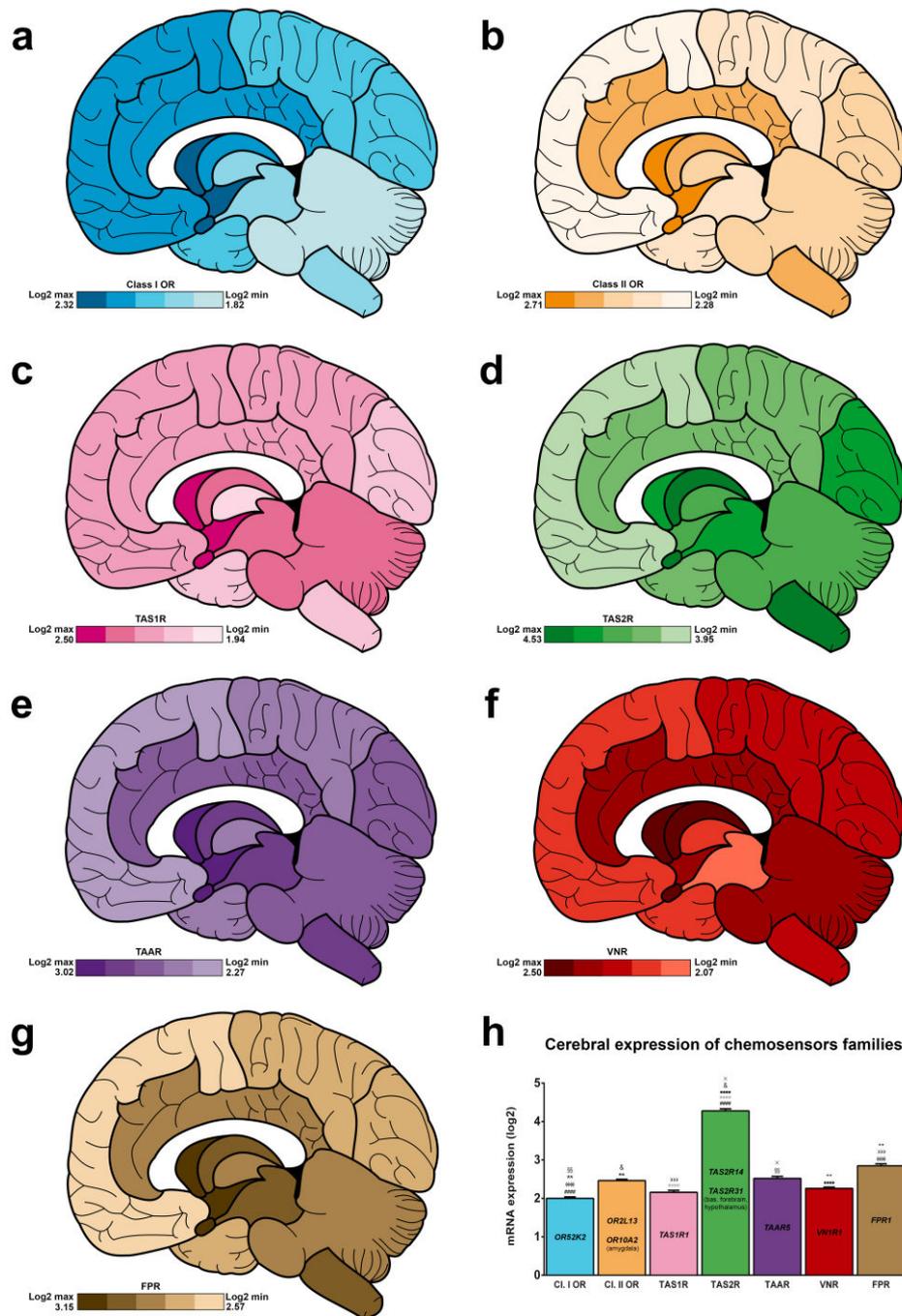
Within these two subfamilies of ORs, *OR52K2* (3.82 ± 0.17) and *OR2L13* (4.56 ± 0.09) stand out as the most expressed class I and class II transcripts in all studied areas, respectively (Figure 3h). Of note, within the amygdala, the strongest expression is associated to *OR10A2*. (Supplementary Figure 2).

**The limbic system tastes the self, with a preference for bitterness.** Both type 1 (sweet- and umami-sensing) and type 2 (bitter-sensing) taste receptors are expressed in the human brain, with a mean expression of 2.16 ± 0.05 and 4.28 ± 0.05, respectively (Figure 3c, d, h). As shown on Supplementary Figure 1, TAS2 receptors are significantly more expressed than TAS1 receptors (\*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ).

TASRs are predominantly expressed in the limbic system. The mean expression of TAS1 receptors varies according to the brain area, as follows: basal forebrain (2.50 ± 0.44), amygdala (2.42 ± 0.41), hypothalamus (2.39 ± 0.41), basal ganglia (2.25 ± 0.55), mesencephalon (2.21 ± 0.54), metencephalon (2.13 ± 0.45), limbic cortex (2.11 ± 0.47), frontal cortex (2.04 ± 0.40), parietal cortex (2.04 ± 0.44), occipital cortex (2.03 ± 0.39), temporal cortex (2.01 ± 0.44), myelencephalon (1.99 ± 0.46), and thalamus (1.94 ± 0.36) (Figure 3c). For the TAS2 receptors, the following mean expression is noticed: basal ganglia (4.53 ± 0.55), amygdala (4.49 ± 0.51), myelencephalon (4.46 ± 0.62), basal forebrain (4.45 ± 0.52), mesencephalon (4.39 ± 0.60), occipital cortex (4.36 ± 0.57), metencephalon (4.30 ± 0.59), hypothalamus (4.21 ± 0.50), thalamus (4.20 ± 0.56), parietal cortex (4.18 ± 0.53), limbic cortex (4.13 ± 0.54), temporal cortex (3.96 ± 0.51), and frontal cortex (3.95 ± 0.52) (Figure 3d).

In addition, two genes coding for ion channels – *ASIC2* and *KCNK3* (also known as *TASK-1*) – are associated to sour perception. Both transcripts are observed in the human brain with an average expression of 5.62 ± 0.16 (*ASIC2* 6.55 ± 0.21, *KCNK3* 4.69 ± 0.23) (Supplementary Figure 3a). Unlike other taste receptors, they are predominantly expressed in the cortex and the myel-, met- and mes-encephalon: frontal cortex (6.03 ± 1.10), temporal cortex (5.97 ± 1.12), myelencephalon (5.95 ± 0.69), metencephalon (5.83 ± 0.08), parietal cortex (5.80 ± 1.09), mesencephalon (5.75 ± 0.78), hypothalamus (5.76 ± 1.02), limbic cortex (5.61 ± 1.38), basal forebrain (5.55 ± 1.28), thalamus (5.53 ± 0.49), occipital cortex (5.43 ± 1.09), amygdala (5.15 ± 1.08), and basal ganglia (4.74 ± 0.89) (Supplementary Figure 3b).

Within the first two taste receptor families, *TAS1R1* and *TAS2R14* stand out as the most expressed transcripts (2.97 ± 0.07 and 6.66 ± 0.07, respectively), when averaging all studied areas, while *TAS2R31* displays the highest expression in the basal forebrain and hypothalamus (Figure 3h, Supplementary Figure 4). Among the sour-associated genes, *ASIC2* reaches an acme with a mean log2 expression of 6.55 ± 0.21 in the whole brain (Supplementary Figure 3).



**Figure 3. Regionalised mean expression of chemoreceptors in a human brain collected from a 31-year-old Caucasian subject.** a-g, log2 expression for class I (a, blue) and class II (b, orange) olfactory receptors, type 1 (c, pink), and type 2 (d, green) taste receptors, trace amine-associated receptors (e, purple), vomeronasal receptors (f, red), and formyl peptide receptors (g, brown). The maximum and minimum expression levels are indicated in the bottom left panel for each family representation. h, histogram showing the average expression for each family in the whole brain (n=13 main areas). The most expressed members for each family is indicated inside each bar. 1 symbol:  $p < 0.05$ , 2 symbols:  $p < 0.01$ , 3 symbols:  $p < 0.001$ , 4 symbols  $p < 0.0001$  (Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparisons post hoc test).

## The human brain is capable of sensing trace amines and pheromonal cues.

Trace amine and pheromonal cues sensation is mediated *via* three CR families – TAARs, VNRs, and FPRs – that are all present in the human brain, with an average log<sub>2</sub> expression of  $2.52 \pm 0.06$ ,  $2.26 \pm 0.04$ , and  $2.85 \pm 0.05$ , respectively. Their cerebral area-related distribution is as follows:

*TAAR*: amygdala ( $3.02 \pm 0.49$ ), basal forebrain ( $2.72 \pm 0.43$ ), hypothalamus ( $2.66 \pm 0.43$ ), basal ganglia ( $2.64 \pm 0.44$ ), mesencephalon ( $2.52 \pm 0.54$ ), myelencephalon ( $2.52 \pm 0.49$ ), limbic cortex ( $2.47 \pm 0.47$ ), metencephalon ( $2.43 \pm 0.45$ ), occipital cortex ( $2.39 \pm 0.41$ ), thalamus ( $2.38 \pm 0.46$ ), temporal cortex ( $2.38 \pm 0.44$ ), parietal cortex ( $2.34 \pm 0.42$ ), and frontal cortex ( $2.27 \pm 0.41$ ) (Figure 3e).

*VNR*: amygdala ( $2.50 \pm 0.57$ ), basal forebrain ( $2.48 \pm 0.61$ ), basal ganglia ( $2.36 \pm 0.70$ ), hypothalamus ( $2.31 \pm 0.54$ ), metencephalon ( $2.29 \pm 0.56$ ), limbic cortex ( $2.25 \pm 0.68$ ), occipital cortex ( $2.24 \pm 0.78$ ), myelencephalon ( $2.23 \pm 0.59$ ), parietal cortex ( $2.18 \pm 0.78$ ), frontal cortex ( $2.17 \pm 0.74$ ), thalamus ( $2.16 \pm 0.55$ ), temporal cortex ( $2.16 \pm 0.76$ ), and mesencephalon ( $2.07 \pm 0.53$ ) (Figure 3f).

*FPR*: hypothalamus ( $3.15 \pm 0.90$ ), basal forebrain ( $3.07 \pm 0.98$ ), amygdala ( $3.06 \pm 0.73$ ), mesencephalon ( $2.97 \pm 1.16$ ), basal ganglia ( $2.29 \pm 0.85$ ), myelencephalon ( $2.92 \pm 1.16$ ), metencephalon ( $2.83 \pm 1.07$ ), limbic cortex ( $2.79 \pm 0.90$ ), thalamus ( $2.77 \pm 1.07$ ), temporal cortex ( $2.68 \pm 0.79$ ), parietal cortex ( $2.60 \pm 0.79$ ), occipital cortex ( $2.64 \pm 0.80$ ), and frontal cortex ( $2.57 \pm 0.73$ ) (Figure 3g).

Within these three trace amine- and pheromone-associated receptor families, *TAAR5*, *VN1R1* and *FPR1* stand out as the most expressed transcripts with a mean log<sub>2</sub> score of  $4.03 \pm 0.06$ ,  $4.18 \pm 0.09$ , and  $4.65 \pm 0.12$ , respectively (Figure 3h).

**Canonical chemoreceptor partners are expressed in the brain.** With the exception of sour perception-associated ion channels, all CRs belong to the G Protein-Coupled Receptor (GPCR) superfamily which couples with Gas, Gαq and Gαi/o G Protein families. Gαq family is the most widely expressed with an average log<sub>2</sub> score of  $7.30 \pm 0.05$ , followed by the Gαi/o ( $6.88 \pm 0.05$ ) and Gαq ( $5.97 \pm 0.12$ ) families (Figure 4g). Their cerebral area-related distribution is as follows:

*Gas*: amygdala ( $6.67 \pm 2.19$ ), basal forebrain ( $6.54 \pm 2.20$ ), hypothalamus ( $6.38 \pm 2.35$ ), myelencephalon ( $6.25 \pm 2.42$ ), mesencephalon ( $6.15 \pm 2.43$ ), basal ganglia ( $6.14 \pm 2.24$ ), metencephalon ( $5.97 \pm 2.30$ ), thalamus ( $5.85 \pm 2.22$ ), limbic cortex ( $5.67 \pm 2.05$ ), occipital cortex ( $5.55 \pm 1.96$ ), parietal cortex ( $5.50 \pm 1.96$ ), frontal cortex ( $5.46 \pm 1.85$ ), and temporal cortex ( $5.44 \pm 1.92$ ) (Figure 4a).

*Gαq*: amygdala ( $7.58 \pm 0.21$ ), limbic cortex ( $7.51 \pm 0.39$ ), mesencephalon ( $7.41 \pm 0.25$ ), metencephalon ( $7.39 \pm 0.42$ ), myelencephalon ( $7.38 \pm 0.27$ ), basal ganglia ( $7.35 \pm 0.29$ ), parietal cortex ( $7.28 \pm 0.68$ ), thalamus ( $7.28 \pm 0.36$ ), basal forebrain ( $7.26 \pm 0.10$ ), occipital cortex ( $7.26 \pm 0.69$ ), frontal cortex ( $7.17 \pm 0.67$ ), temporal cortex ( $7.14 \pm 0.63$ ), and hypothalamus ( $6.92 \pm 0.21$ ) (Figure 4b).

*Gαi/o*: mesencephalon ( $7.21 \pm 0.43$ ), metencephalon ( $7.16 \pm 0.44$ ), myelencephalon ( $7.14 \pm 0.43$ ), parietal cortex ( $6.95 \pm 0.39$ ), basal ganglia ( $6.87 \pm 0.35$ ), thalamus ( $6.85 \pm 0.39$ ), basal forebrain ( $6.84 \pm 0.44$ ), frontal cortex ( $6.84 \pm 0.41$ ), temporal cortex ( $6.82 \pm 0.39$ ),

occipital cortex ( $6.79 \pm 0.41$ ), limbic cortex ( $6.66 \pm 0.46$ ), hypothalamus ( $6.73 \pm 0.46$ ), and amygdala ( $6.56 \pm 0.42$ ) (Figure 4c).

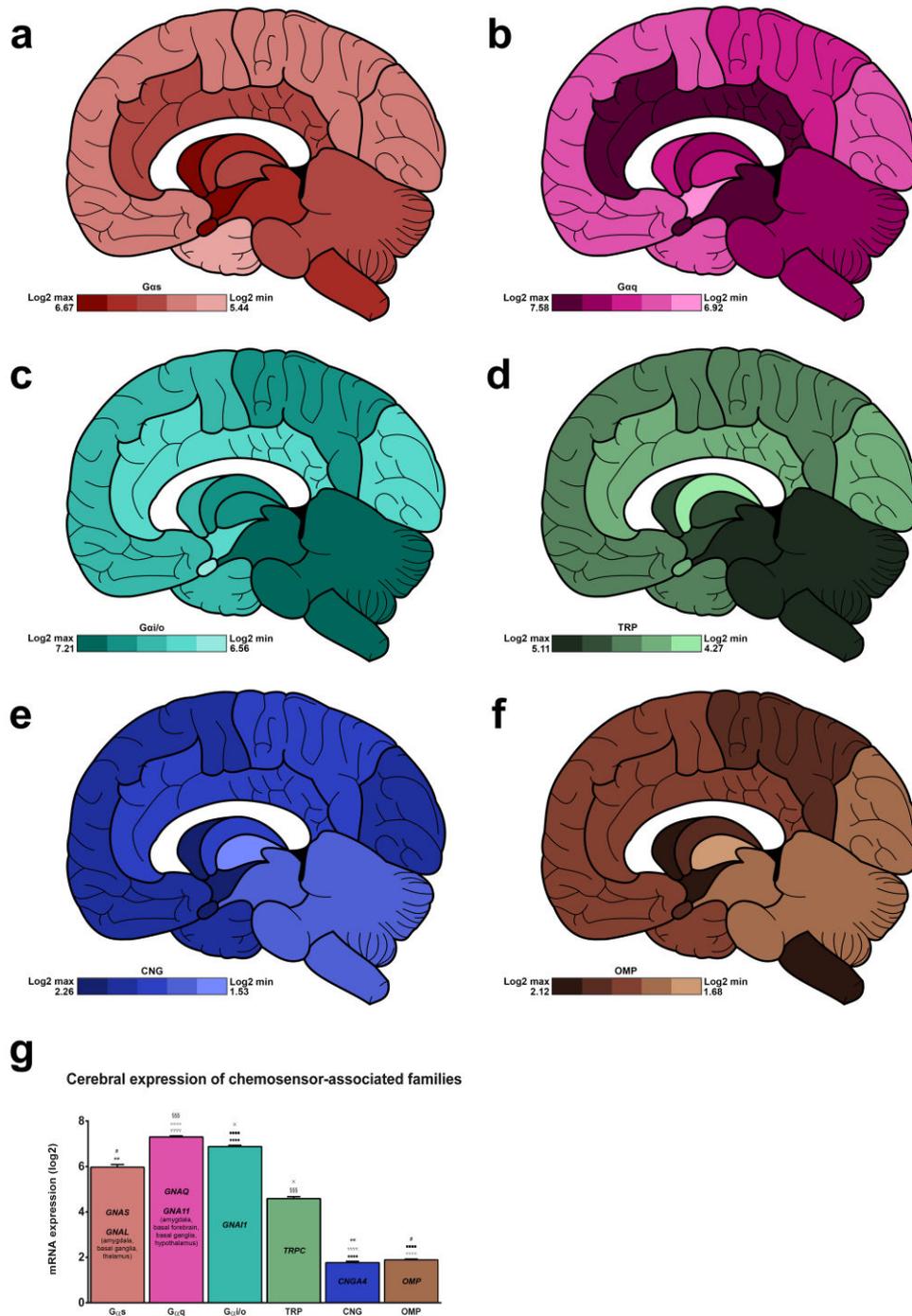
Within each G protein family, *GNAS*, *GNAQ*, and *GNA11* are the most expressed transcripts, reaching a log<sub>2</sub> score of  $8.64 \pm 0.19$ ,  $7.58 \pm 0.11$ , and  $8.06 \pm 0.07$ , respectively (Figure 4g). However, *GNAL* is predominantly expressed in the amygdala, basal ganglia and thalamus while *GNA11* expression is salient in the amygdala, basal forebrain, basal ganglia and hypothalamus (Supplementary Figures 5 and 6).

**Canonical chemoreception transducers are expressed in the brain.** *TRP* and *CNG* channels display an average log<sub>2</sub> expression of  $4.59 \pm 0.09$  and  $1.77 \pm 0.06$  (Figure 4g). Their cerebral area-related distribution is as follows:

*TRP*: metencephalon ( $5.11 \pm 1.29$ ), myelencephalon ( $5.05 \pm 1.27$ ), mesencephalon ( $5.05 \pm 1.22$ ), thalamus ( $4.84 \pm 1.20$ ), hypothalamus ( $4.63 \pm 2.31$ ), basal forebrain ( $4.46 \pm 2.23$ ), temporal cortex ( $4.41 \pm 1.24$ ), frontal cortex ( $4.39 \pm 1.25$ ), parietal cortex ( $4.36 \pm 1.23$ ), amygdala ( $4.36 \pm 2.18$ ), occipital cortex ( $4.36 \pm 1.26$ ), limbic cortex ( $4.34 \pm 1.25$ ), and basal ganglia ( $4.27 \pm 2.14$ ) (Figure 4d).

*CNG*: amygdala ( $2.26 \pm 1.60$ ), basal forebrain ( $2.01 \pm 1.42$ ), hypothalamus ( $1.89 \pm 1.34$ ), occipital cortex ( $1.87 \pm 1.32$ ), temporal cortex ( $1.77 \pm 1.25$ ), frontal cortex ( $1.77 \pm 1.25$ ), basal ganglia ( $1.72 \pm 1.22$ ), parietal cortex ( $1.72 \pm 1.22$ ), limbic cortex ( $1.70 \pm 1.20$ ), metencephalon ( $1.60 \pm 1.13$ ), mesencephalon ( $1.56 \pm 1.10$ ), myelencephalon ( $1.55 \pm 1.10$ ), and thalamus ( $1.53 \pm 1.08$ ) (Figure 4e). *TRPC1* and *CNGA2* are the most expressed transcripts, reaching a log<sub>2</sub> score of  $8.39 \pm 0.07$  and  $1.54 \pm 0.05$  (Figure 4g).

A privileged partner of the olfactory transduction pathway (olfactory marker protein, OMP) is expressed in the human brain: its average log<sub>2</sub> expression was found to be  $1.89 \pm 0.04$ . Its cerebral distribution is as follows, from the highest to the lowest expression: hypothalamus ( $2.12 \pm 0.08$ ), myelencephalon ( $2.04 \pm 0.44$ ), basal forebrain ( $2.03 \pm 0.12$ ), parietal cortex ( $2.01 \pm 0.13$ ), basal ganglia ( $1.99 \pm 0.12$ ), amygdala ( $1.92 \pm 0.16$ ), temporal cortex ( $1.85 \pm 0.04$ ), limbic cortex ( $1.82 \pm 0.07$ ), frontal cortex ( $1.81 \pm 0.06$ ), mesencephalon ( $1.76 \pm 0.14$ ), occipital cortex ( $1.75 \pm 0.04$ ), metencephalon ( $1.74 \pm 0.12$ ), and thalamus ( $1.68 \pm 0.09$ ) (Figure 4f, g).

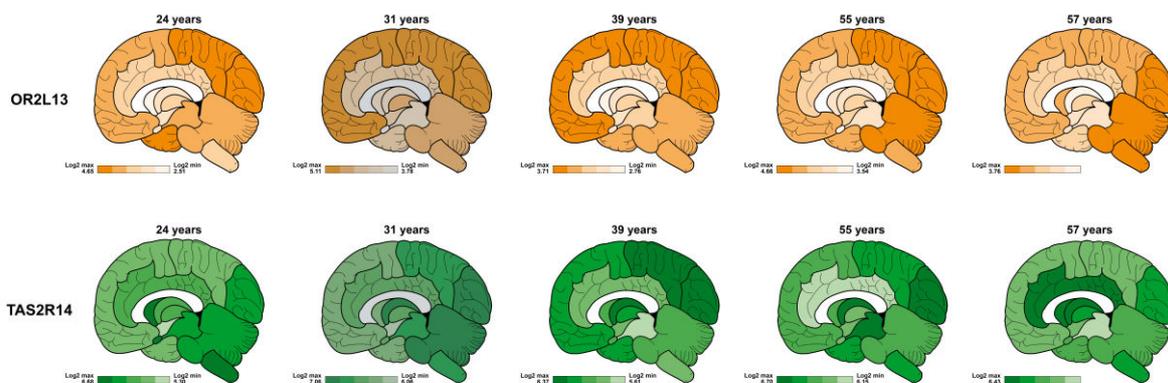


**Figure 4. Regionalised mean expression of chemoreceptor-associated partners in a human brain collected from a 31-year-old Caucasian subject.** a-f, log2 expression for *Gas* (a, red), *Gaq* (b, pink), *Gai/o* (c, light blue), transient receptor potential channels (d, green), cyclic nucleotide-gated channels (e, dark blue), and olfactory marker protein (f, brown). The maximum and minimum expression levels are indicated in the bottom left panel for each family. g, Mean expression for each family in the whole brain (n=13 main areas). The most expressed members for each family is indicated inside each bar. 1 symbol: p<0.05, 2 symbols: p<0.01, 3 symbols: p<0.001, 4 symbols p<0.0001 (Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparisons post hoc test).

## Expression of chemoreceptors varies with age but not brain diseases.

Our study is principally based on the brain of a 31-year-old male Caucasian. However, to assess the extent of inter-individual variations, we compared the cerebral expression of two chemoreceptors in 5 donors of different ages and ethnic backgrounds. Figure 5 indicates a relatively stable regional expression of *OR2L13*, the most produced class II OR transcript. Overall, *OR2L13* expression reaches a zenith in cortices – frontal, parietal, occipital – and a nadir in amygdala, basal forebrain and hypothalamus (Figure 5, top). Conversely, the regional expression of *TAS2R14*, the most expressed TAS2R, varies greatly between donors (Figure 5, bottom). Apropos of age, variations are also observed. The overall cerebral expression of *OR2L13* –  $3.70 \pm 0.16$  (24 years),  $4.56 \pm 0.09$  (31 years),  $3.25 \pm 0.09$  (39 years),  $4.11 \pm 0.10$  (55 years),  $3.29 \pm 0.10$  (57 years) – and *TAS2R14* –  $6.13 \pm 0.11$  (24 years),  $6.66 \pm 0.08$  (31 years),  $6.04 \pm 0.06$  (39 years),  $6.42 \pm 0.05$  (55 years),  $6.14 \pm 0.08$  (57 years) – indicates that both chemoreceptors mRNA are produced in lower quantity in the eldest donor. However, this finding cannot be fully associated to a more advanced age since a low expression is also noticed in the 39 year-old brain.

The Allen brain database also includes transcript values from individuals with dementia ( $n = 50$ ) and/or traumatic brain injury ( $n = 50$ ). Statistically significant differences in transcript expression were observed when pathological or traumatized brains were compared to control individuals. However, no chemoreceptor RNA was found to be significantly deregulated.



**Figure 5. Inter-individual variation in transcript expression.** Five subjects of various ages were compared. *OR2L13*, one of the most expressed class II ORs in the human brain, is over-expressed in the frontal, parietal and occipital cortices and under-expressed in regions of the limbic system such as the amygdala, basal ganglia, or hypothalamus, in all subjects (top). In contrast, the expression pattern of *TAS2R14* varies a lot between subjects (bottom). Maximum and minimum expression values are indicated in the bottom left panel for each representation.

## Discussion

To the best of our knowledge, the current study is the first to comprehensively assess and quantitate the transcript expression of all known CR families in the human brain. The cross examination of the Allen brain atlas data leads to the following conclusions: i) most if not all genes coding for CRs - TASRs, TAARs, VNRs, FPRs - are expressed in the central nervous system, although at a rather low level, ii) class I and class II ORs, type 1 and type 2 TASRs, TAARs and VNRs are mostly expressed in the limbic system, iii) canonical CR-associated partners and transducer genes are transcribed in the brain, iv) inter-individual variations are observed for some CRs, but no significant difference in CR expression is found when demented or traumatized brains are compared to control individuals.

Previous studies indicate that some CRs are expressed in the central nervous system. For example, several ORs and TASRs transcripts are expressed in the human entorhinal, frontal, prefrontal cortices as well as *substantia nigra* and cerebellum<sup>25-28</sup>. With respect to trace amine and pheromone receptors, TAAR1 is involved in the regulation of dopaminergic neurotransmission in rodents and primates (for review, see <sup>33</sup>), while human astrocytes and microglial cells express FPR1 and FPR2<sup>34</sup>. Nonetheless, we show here for the first time that 95% of OR transcripts (376 out of 396) and 100% of other chemoreceptor mRNAs – TASRs, TAARs, VNRs, and FPRs – are expressed in all studied human brain areas. Interestingly, even a few OR and VNR pseudogenes are transcribed in the human brain (respectively 10 and 2, out of 425 and 200 in the whole human genome), a finding in line with two previous studies<sup>35,36</sup>. Although they are unable to produce fully functional proteins, pseudogenes can play diverse roles. Pseudogene-bound transcripts regulate the expression of their non-pseudogenic counterparts in human cancer cells<sup>37</sup> and, in *Drosophila*, pseudogene-derived ORs were found to be bound to proteins with a tissue-dependent expression<sup>38</sup>. It can be surmised that the 10 OR and 2 VNR pseudogenes transcribed in the human brain play a regulatory role in gene expression. Nevertheless, further studies are required to determine whether these pseudogene-derived CR transcripts are translated into functional proteins.

Overall, ectopic CR transcripts are poorly expressed<sup>39</sup>. More specifically, as reported in one of our previous studies, cerebral mRNAs coding for two ORs display a multifold diminished expression when compared to those produced in the olfactory mucosa<sup>29</sup>. The current study confirms and extends this finding. However, mean global values could be misleading since the distribution of the various neural cell types varies considerably from one tissue to another. For instance, we showed that Olfr110/111 and Olfr544 are mostly expressed by cerebral neurons that are outnumbered by glial cells, a feature not observed in the nasal cavity<sup>29</sup>. Similarly, the TAAR family, which plays an important role in cerebral physiology and pathology<sup>40</sup>, is expressed by a minority of neural cells, as demonstrated for TAAR1<sup>41</sup>. In other words, a more detailed study on cell type-associated expression is required to further assess the roles of cerebral CRs.

None of the brain areas under investigation in the current study is devoid of CR transcripts. However, their expression is most prominent in the limbic system and the brainstem. This finding does not come up as a major surprise since chemical senses, appearing before physical senses during evolution, are strongly associated to the primal and paleo-mammalian brains. The olfactory mucosa, which harbours olfactory and pheromone receptors, is linked to the limbic system *via* the olfactory bulb and the piriform cortex<sup>42</sup>. The tongue and its taste buds convey chemical information to the nucleus of the solitary tract of

the brainstem and then the amygdala, thalamus and hypothalamus, through the cranial nerves VII, IX, X<sup>42</sup>. Olfaction and taste are of major importance to lead behaviour and survival functions. Therefore, it is tempting to assume that cerebral CRs play a role in self-preservation and several limbic system-associated functions, namely memory and regulation of autonomic and endocrine metabolisms, in response to emotional stimuli.

In support of this close association between brain CRs and limbic system, it can be noticed that the pattern of expression of Gas - canonically involved, *via* Gaolf, in the OR and TAAR signalling cascades<sup>43,44</sup> - is very close to CR mapping. This almost perfect juxtaposition between CRs and Gas is however not true for all the second messengers. For example, FPRs and VNRs are known to be associated to the Gai/o family<sup>45-47</sup>, but they are more consistently expressed in mesencephalic structures and the hindbrain (metencephalon, myelencephalon) than in the limbic system. Likewise, the expression of TRPs and other G proteins is ubiquitous, an unsurprising finding since these effectors are associated to many receptors not linked to chemoperception. In respect of functionality, it can be noticed that the coupling of CRs to G proteins varies and, *in vitro*, ORs can be coupled with Gas, Gaolf and Ga15/16 proteins<sup>48</sup>. In sensory olfactory neurons, the OR-Gaolf coupling ensures the recognition of odours and the local sorting of axons, while the OR-Gas association promotes axon targeting of the appropriate glomerulus within the olfactory bulb, during maturation<sup>49</sup>.

As demonstrated in the current study through the examples of *OR2L13* and *TAS2R14*, patterns of expression of brain CRs can be similar or vary, in an age- and individual-specific manner. Nevertheless, the size of our cohort is too small to draw any valid conclusion. In parallel, previous studies indicated that the expression of some cerebral ORs and TASRs is modulated in patients with neuropathologies, such as Alzheimer's, Parkinson's and Creutzfeldt-Jakob diseases, schizophrenia, and progressive supranuclear palsy<sup>25-28</sup>. Then, we assessed CR expression in brains of individuals with dementia or after a traumatic brain injury. Intriguingly, no significant variation in CR expression was observed. Such a discordant finding indicates that additional studies, using complementary techniques, are required to enlighten this issue.

Although exhaustive, the current study is hampered by several limitations. First, the regionalized expression of CRs and their partners is mainly based on data from a 31-year-old Caucasian male. This work would gain additional credit if data from more donors are subsequently added. Second, although we studied all members of the TASR, TAAR, VNR and FPR families, we limited to 10 the number of genes belonging to the classes I and II OR and TAS2R families. Studying these whole OR and TASR families would provide a more accurate information. Third, we deplore the lack of data about gene expression in the choroid plexus. This would have been of great interest, as two studies reported the expression of ORs and TASRs in this brain area, suggesting the ability of CRs to detect the composition of the cerebrospinal fluid under physiological and pathological conditions<sup>50,51</sup>.

In summary, we performed the first comprehensive analysis of expression in the human brain of facial CRs using a freely accessible genomic expression database. For the first time, we highlight that all members of the TASR, TAAR, VNR and FPR families, as well as 95% of the OR family, are expressed in the brain areas studied. Moreover, this study reveals that CR genes are mainly expressed in the limbic system, underlying the importance of CRs in self-preservation. Their expression patterns seem to be gene-dependent in the different brain zones, which could indicate that they have different cerebral functions. In addition, we also

found CRs' canonical transduction partners expressed in the investigated areas, supporting the idea that CRs may be functional in the human brain. This work clearly suggests that (i) CRs are expressed, beyond of the sensory organs, in the brain, and (ii) CRs could be involved in different physiological and pathological cellular mechanisms still unknown. In the central nervous system, they could act as biosensors to detect pathological states in the brain (such as inflammation, necrosis, tumorigenesis, ischemia) and to trigger the adapted answer. Nevertheless, such hypothesis underlie the need of more comprehensive studies to understand their potential implications that could lead to therapeutic advances.

## Methods

This study aimed to assess and regionally detail the cerebral expression of several rhinolaryngeal chemoreceptors (CRs) in a non-pathologic human brain.

**Gene selection.** Human chemoreceptor family includes 396 ORs<sup>30</sup>, clustered in class I, "fish-like", and class II, "tetrapod-like", ORs. Given this large number, we limited our study to ten class I, and ten class II ORs. *OR2D2*, *OR2L13*, *OR2T1*, *OR2T33*, *OR4F4*, *OR6F1*, *OR10G8*, *OR11H1*, *OR51E1*, *OR52H1*, *OR52L1*, and *OR52M1* were documented as expressed in the human brain<sup>26,27</sup>. *OR5V1* shares 81% identity with the murine *Olf110/111*. *OR52K1* and *OR52K2* share 82% and 80% identity, respectively, with *Olf544*. Both *Olf* genes are expressed in the mouse brain<sup>26,29</sup>. *OR10A2*, *OR51A4*, *OR51A7*, *OR52B6*, and *OR52E8* were randomly selected to reach a total of 10 OR per class. Taste receptors (TASRs) are classified in "sweet" type 1 (TAS1R) which includes 3 members *TAS1R1*, *TAS1R2* and *TAS1R3*<sup>31</sup>, and "bitter" type 2 (TAS2R) that comprises 25 members<sup>32</sup>. *TAS2R4*, *TAS2R5*, *TAS2R10*, *TAS2R13*, *TAS2R14*, and *TAS2R50* are found in the human brain<sup>26,27</sup>. Other TAS2R (*TAS2R1*, *TAS2R31*, *TAS2R38*, and *TAS2R45*) were randomly selected to reach a total of 10 TAS2R (Table 1). Expression of vomeronasal receptors (VNRs) is controversial in humans. However, we report here the expression of *VN1R1*, *VN1R2*, *VN1R4* and *VN1R5* in the human brain. The cerebral expression of the six functional trace amine-associated receptors (TAARs) - *TAAR1*, *TAAR2*, *TAAR5*, *TAAR6*, *TAAR8*, *TAAR9* - and the three formyl peptide receptors (FPRs) - *FPR1*, *FPR2*, *FPR3* - was quantified. We also explored the brain expression of several CR-associated G proteins - *GNAL*, *GNAT3*, *GNAS*, *GNAQ*, *GNA11*, *GNAI1*, *GNAI2*, *GNAI3*, *GNAO* - and partners - *CNGA2*, *CNGA4*, *OMP*, *TRPC1*, *TRPM4*, *TRPM5*, *TRPV2*, *TRPV4* - channels.

**The Allen Human Brain gene expression analysis.** All data were obtained from the Allen Brain Institute's (ABI, <https://www.brain-map.org/>). The Allen Human Brain Atlas (<http://human.brain-map.org>) includes RNA microarray data collected from post-mortem brains of 6 donors, with no known neuropsychiatric or neuropathological history. Around 500 samples per subject, per hemisphere, were tested for expression profiles of 29,191 genes represented by 58,692 probes. The expression profiles were normalized across samples and across different brains as described previously (ALLEN Human Brain Atlas Normalization, Microarray Data, 2013).

In our analysis, we used the brain of a 31-year-old Caucasian male donor. Cerebral expressions of selected CRs and CR-associated partners were then assessed using microarray

data available on the Allen Institute's Allen Brain Atlas, a freely available dataset that reports the expression level of the mRNA of the majority of the genes in the human genome, in several brain regions (<http://human.brain-map.org/microarray/search>). Technical details and related documentation are available on the Allen Institute's website (<http://help.brain-map.org/display/humanbrain/documentation>). Briefly, the log<sub>2</sub> level of expression was collected for the 62 genes included in this study and associated to each brain area mapped by the Allen Brain Atlas (97 areas, see Figure 1). Different probes were used to detect the genes of interest, allowing to average the log<sub>2</sub> levels obtained, and the results for each CR family were compiled in Excel tables.

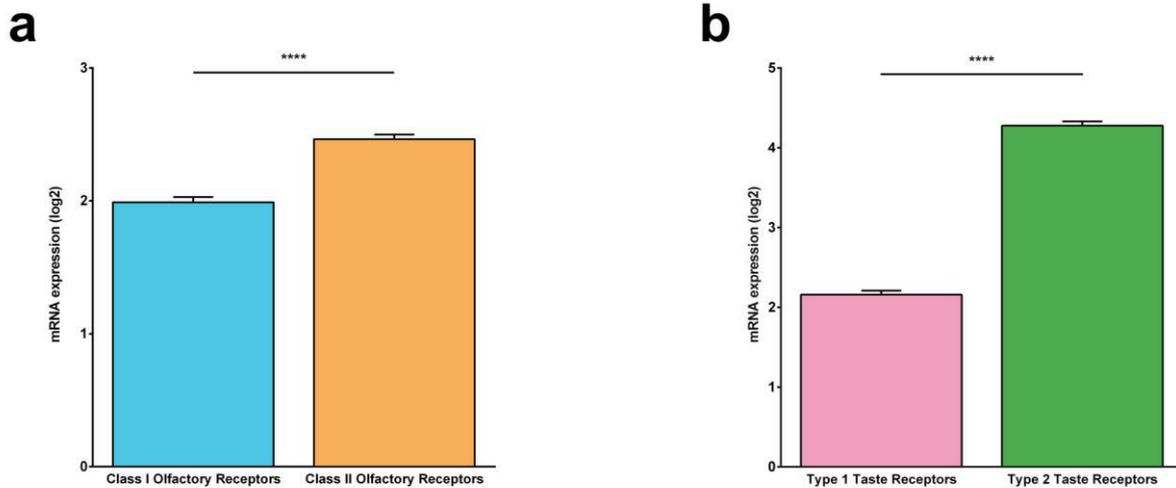
**Statistical analysis and visual representation.** All data are presented as means ± SEM and were analysed using GraphPad Prism6 software. Statistical analyses to assess significance of the multiple groups, *i.e.* cerebral chemosensors and chemosensors-associated families, were performed using non-parametric one-way ANOVAs (Kruskal-Wallis) and the post-hoc Dunn's multiple comparison test. Mann and Whitney non-parametric significance test was used to assess significance between groups presented in Supplementary Figure 1. Differences between mean values were considered statistically significant when  $p < 0.05$  (\*),  $p < 0.01$  (\*\*),  $p < 0.001$  (\*\*\*),  $p < 0.0001$  (\*\*\*\*) with different symbols than "\*" to discriminate significance between groups. Visuals were made using GraphPad Prism6, Inkscape and Adobe Photoshop software.

## References

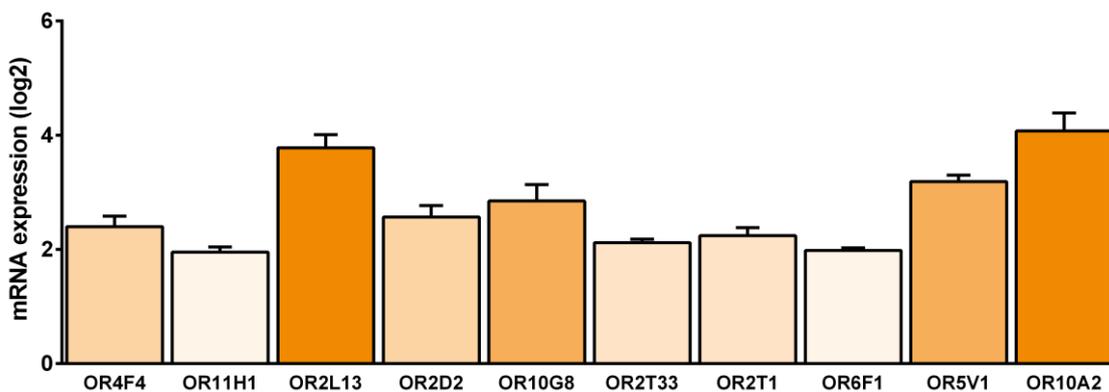
1. Blomquist, G. & Vogt, R. *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*. (Elsevier, 2003). doi:10.1016/B978-0-12-107151-6.X5000-2
2. Doty, R. L. *Handbook of olfaction and gustation*. (Marcel Dekker, 2003).
3. Wyatt, T. D. *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste*. (Cambridge University Press, 2003). doi:10.1017/CBO9780511615061
4. Brennan, P. A. & Zufall, F. Pheromonal communication in vertebrates. *Nature* **444**, 308–315 (2006).
5. Hallem, E. A., Dahanukar, A. & Carlson, J. R. Insect odor and taste receptors. *Annu. Rev. Entomol.* **51**, 113–135 (2006).
6. Wilson, D. A. & Stevenson, R. J. *Learning to smell: olfactory perception from neurobiology to behavior*. (Johns Hopkins University Press, 2006).
7. Ihara, S., Yoshikawa, K. & Touhara, K. Chemosensory signals and their receptors in the olfactory neural system. *Neuroscience* **254**, 45–60 (2013).
8. Liberles, S. D. Mammalian pheromones. *Annu. Rev. Physiol.* **76**, 151–175 (2014).
9. Barish, S. & Volkan, P. C. Mechanisms of olfactory receptor neuron specification in *Drosophila*. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* **4**, 609–621 (2015).
10. Li, Q. & Liberles, S. D. Aversion and attraction through olfaction. *Curr. Biol. CB* **25**, R120–R129 (2015).
11. Wicher, D. Olfactory signaling in insects. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **130**, 37–54 (2015).
12. Chen, Z., Zhao, H., Fu, N. & Chen, L. The diversified function and potential therapy of ectopic olfactory receptors in non-olfactory tissues. *J. Cell. Physiol.* **233**, 2104–2115 (2018).
13. Khalsa, S. S. *et al.* Interoception and Mental Health: A Roadmap. *Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging* **3**, 501–513 (2018).

14. Khalsa, S. S. & Lapidus, R. C. Can Interoception Improve the Pragmatic Search for Biomarkers in Psychiatry? *Front. Psychiatry* **7**, 121 (2016).
15. Deshpande, D. A. *et al.* Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat. Med.* **16**, 1299–1304 (2010).
16. Spehr, M. Identification of a Testicular Odorant Receptor Mediating Human Sperm Chemotaxis. *Science* **299**, 2054–2058 (2003).
17. Griffin, C. A., Kafadar, K. A. & Pavlath, G. K. MOR23 Promotes Muscle Regeneration and Regulates Cell Adhesion and Migration. *Dev. Cell* **17**, 649–661 (2009).
18. Busse, D. *et al.* A Synthetic Sandalwood Odorant Induces Wound-Healing Processes in Human Keratinocytes via the Olfactory Receptor OR2AT4. *J. Invest. Dermatol.* **134**, 2823–2832 (2014).
19. Breer, H., Eberle, J., Frick, C., Haid, D. & Widmayer, P. Gastrointestinal chemosensation: chemosensory cells in the alimentary tract. *Histochem. Cell Biol.* **138**, 13–24 (2012).
20. Gu, X. *et al.* Chemosensory Functions for Pulmonary Neuroendocrine Cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **50**, 637–646 (2014).
21. Jeon, T.-I., Seo, Y.-K. & Osborne, T. F. Gut bitter taste receptor signalling induces ABCB1 through a mechanism involving CCK. *Biochem. J.* **438**, 33–37 (2011).
22. Pluznick, J. L. *et al.* Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 4410–4415 (2013).
23. Ferrer, I. *et al.* Olfactory Receptors in Non-Chemosensory Organs: The Nervous System in Health and Disease. *Front. Aging Neurosci.* **8**, (2016).
24. Maßberg, D. & Hatt, H. Human Olfactory Receptors: Novel Cellular Functions Outside of the Nose. *Physiol. Rev.* **98**, 1739–1763 (2018).
25. Garcia-Esparcia, P. *et al.* Functional Genomics Reveals Dysregulation of Cortical Olfactory Receptors in Parkinson Disease: Novel Putative Chemoreceptors in the Human Brain. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **72**, 524–539 (2013).
26. Ansoleaga, B. *et al.* Dysregulation of brain olfactory and taste receptors in AD, PSP and CJD, and AD-related model. *Neuroscience* **248**, 369–382 (2013).
27. Ansoleaga, B. *et al.* Decrease in olfactory and taste receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex in chronic schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* **60**, 109–116 (2015).
28. Grison, A. *et al.* Mesencephalic dopaminergic neurons express a repertoire of olfactory receptors and respond to odorant-like molecules. *BMC Genomics* **15**, 729 (2014).
29. Gaudel, F. *et al.* Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice. *Mol. Neurobiol.* (2018). doi:10.1007/s12035-018-1196-4
30. Matsui, A., Go, Y. & Niimura, Y. Degeneration of Olfactory Receptor Gene Repertoires in Primates: No Direct Link to Full Trichromatic Vision. *Mol. Biol. Evol.* **27**, 1192–1200 (2010).
31. Nelson, G. *et al.* Mammalian sweet taste receptors. *Cell* **106**, 381–390 (2001).
32. Adler, E. *et al.* A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* **100**, 693–702 (2000).
33. Jing, L. & Li, J.-X. Trace amine-associated receptor 1: A promising target for the treatment of psychostimulant addiction. *Eur. J. Pharmacol.* **761**, 345–352 (2015).
34. Migeotte, I., Communi, D. & Parmentier, M. Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* **17**, 501–519 (2006).
35. Niimura, Y. & Nei, M. Evolution of olfactory receptor genes in the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 12235–12240 (2003).
36. Liman, E. R. Use it or lose it: molecular evolution of sensory signaling in primates. *Pflugers Arch.* **453**, 125–131 (2006).
37. Kalyana-Sundaram, S. *et al.* Expressed pseudogenes in the transcriptional landscape of human cancers. *Cell* **149**, 1622–1634 (2012).
38. Prieto-Godino, L. L. *et al.* Olfactory receptor pseudo-pseudogenes. *Nature* **539**, 93–97 (2016).

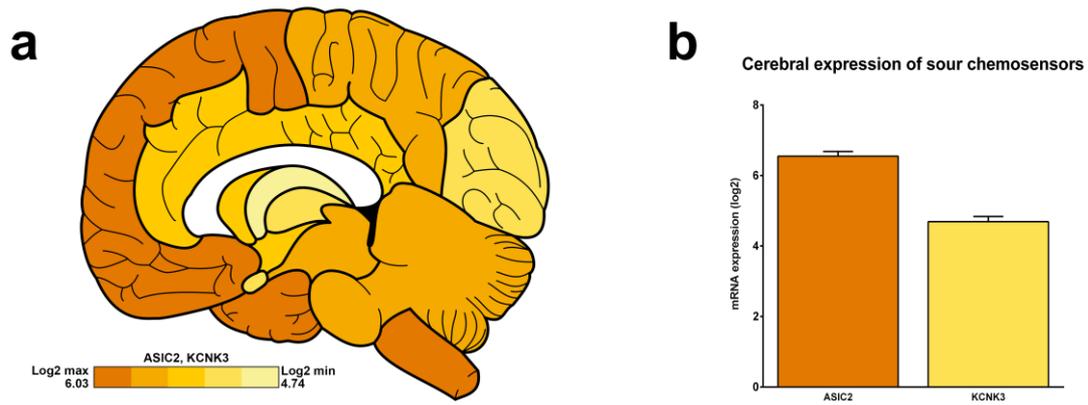
39. Flegel, C., Manteniotis, S., Osthold, S., Hatt, H. & Gisselmann, G. Expression Profile of Ectopic Olfactory Receptors Determined by Deep Sequencing. *PLoS ONE* **8**, e55368 (2013).
40. Khan, M. Z. & Nawaz, W. The emerging roles of human trace amines and human trace amine-associated receptors (hTAARs) in central nervous system. *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* **83**, 439–449 (2016).
41. Borowsky, B. et al. Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 8966–8971 (2001).
42. Buck, L. B. & Bargmann, C. Smell and taste: The chemical senses. in *Principles of neural science*, Kandel (2000).
43. Jones, D. T. & Reed, R. R. Golf: An Olfactory Neuron-Specific G-Protein Involved in Odorant Signal Transduction. **244**, 6 (1989).
44. Liberles, S. D. & Buck, L. B. A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature* **442**, 645–650 (2006).
45. Rabié, M.-J., Huet, E. & Boulay, F. The N-formyl peptide receptors and the anaphylatoxin C5a receptors: an overview. *Biochimie* **89**, 1089–1106 (2007).
46. Norlin, E. M., Gussing, F. & Berghard, A. Vomeronasal phenotype and behavioral alterations in G alpha i2 mutant mice. *Curr. Biol. CB* **13**, 1214–1219 (2003).
47. Tanaka, M., Treloar, H., Kalb, R. G., Greer, C. A. & Strittmatter, S. M. G(o) protein-dependent survival of primary accessory olfactory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 14106–14111 (1999).
48. Kajiyama, K. et al. Molecular bases of odor discrimination: Reconstitution of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, 6018–6025 (2001).
49. Imai, T. & Sakano, H. Odorant receptor-mediated signaling in the mouse. *Curr. Opin. Neurobiol.* **18**, 251–260 (2008).
50. Gonçalves, I. et al. 'Smelling' the cerebrospinal fluid: olfactory signaling molecules are expressed in and mediate chemosensory signaling from the choroid plexus. *FEBS J.* **283**, 1748–1766 (2016).
51. Tomás, J., Santos, C. R. A., Quintela, T. & Gonçalves, I. 'Tasting' the cerebrospinal fluid: Another function of the choroid plexus? *Neuroscience* **320**, 160–171 (2016).



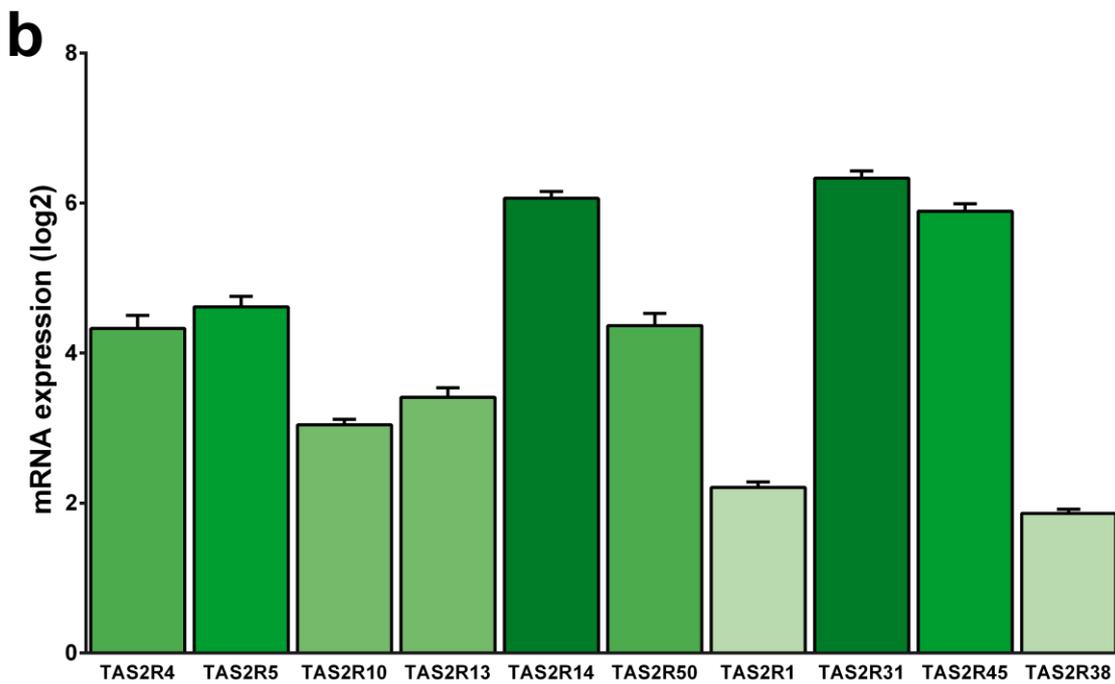
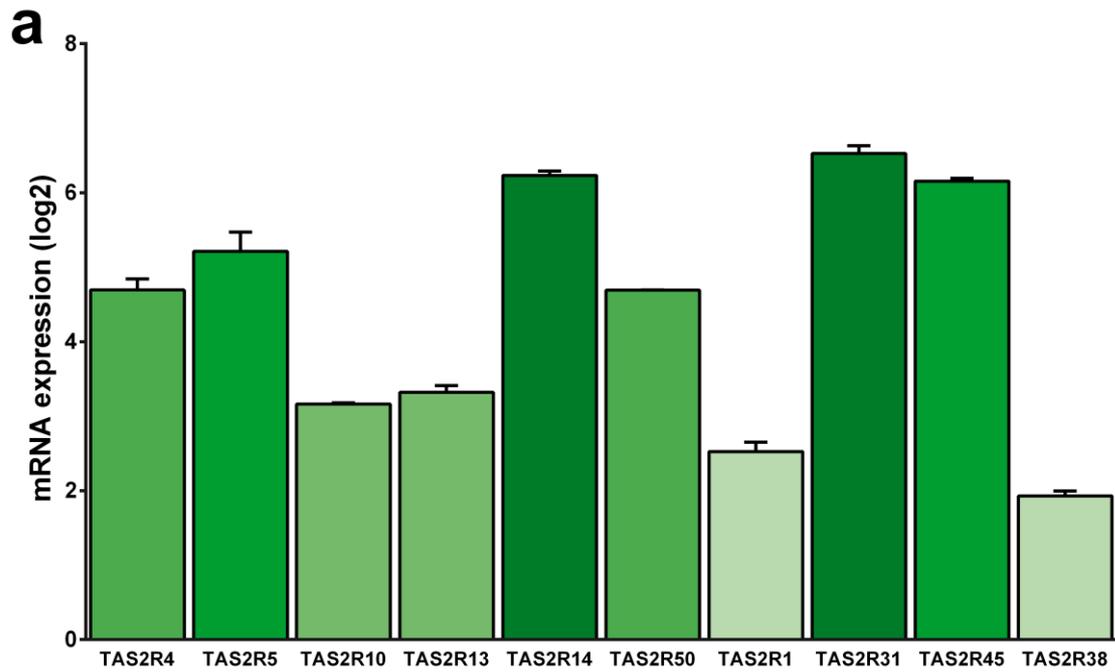
**Supplementary Figure 1. Comparative expression of olfactory and taste receptor transcripts in the brain of a 31-year-old Caucasian male.** a, class I (blue), class II (orange) ORs, and b, type 1 (pink) and type 2 (green) TASRs. \*\*\*\*:  $p < 0.0001$  (non-parametric Mann and Whitney test).



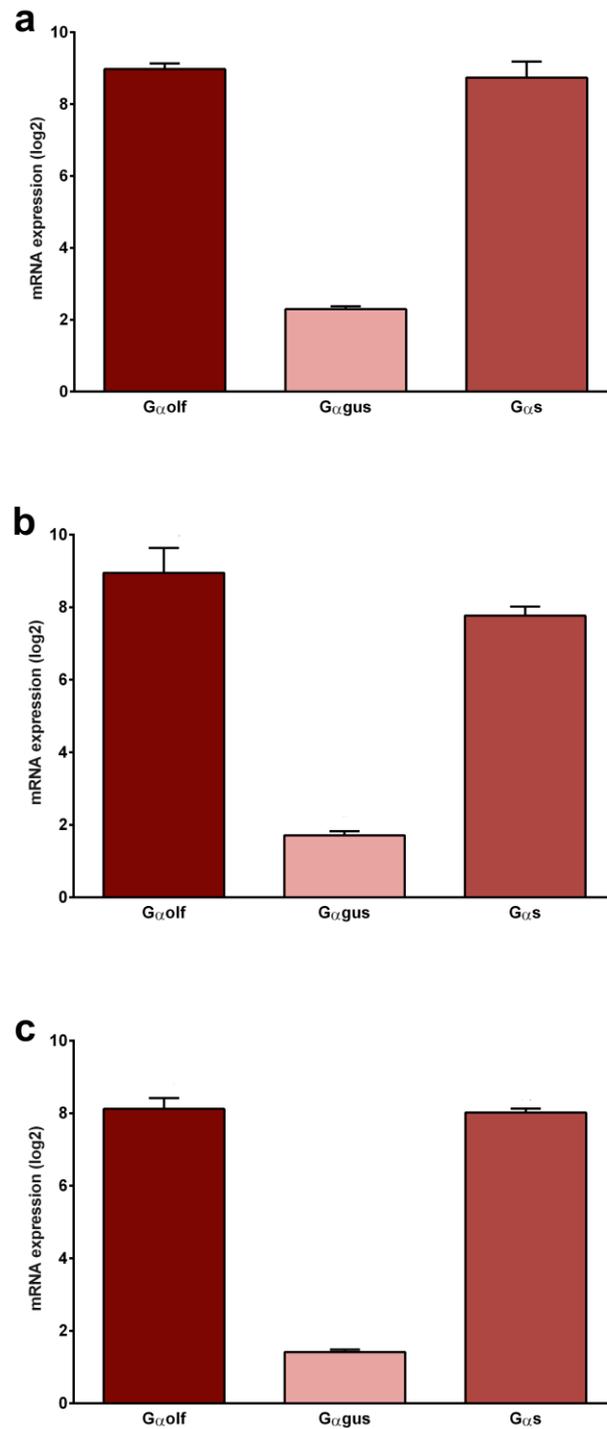
**Supplementary Figure 2. Expression of class II olfactory receptor genes in the human amygdala.** Mean expression of all selected class II olfactory receptor genes in the amygdala of a 31-year-old male Caucasian.



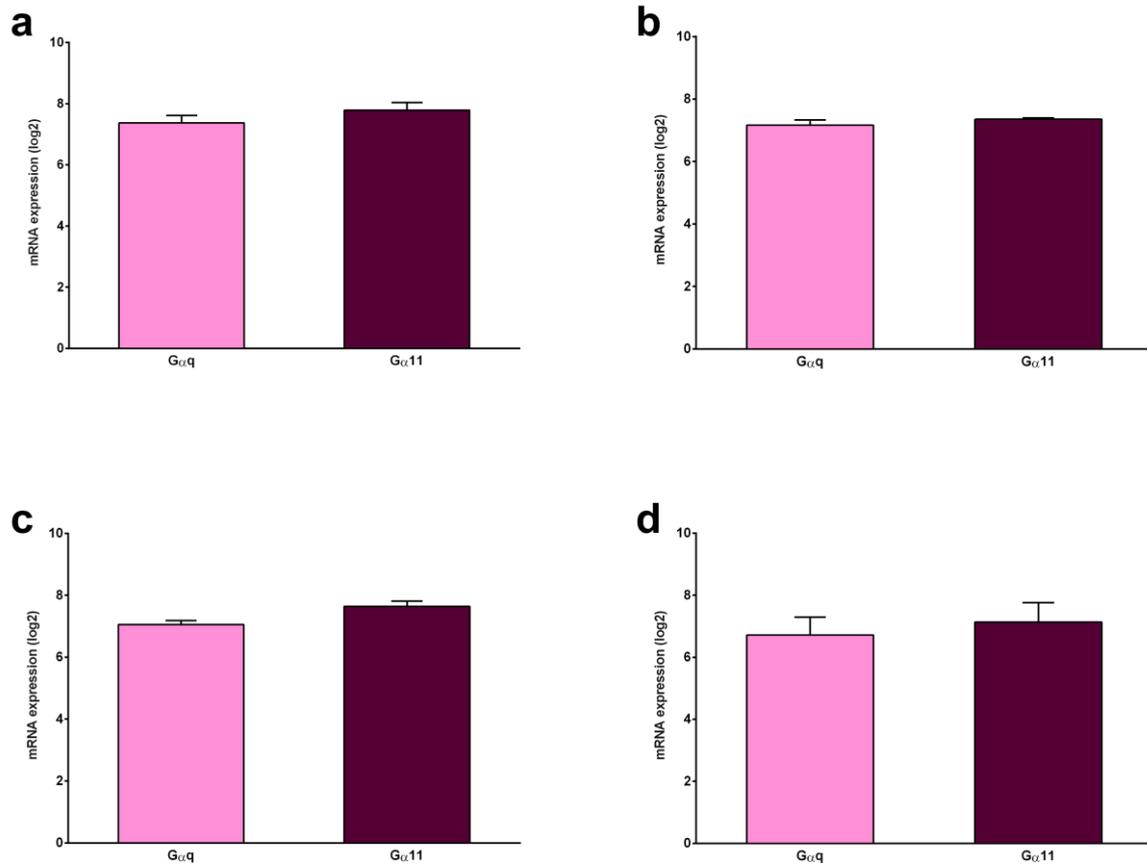
**Supplementary Figure 3. Expression of sour chemoreceptor genes in the human brain. a,** regionalised mean expression of *ASIC2* and *KCNK3* in a 31-year-old Caucasian male. The maximum and minimum values are indicated in the bottom left panel. **b,** detailed values of the cerebral expression of *ASIC2* (orange) and *KCNK3* (yellow).



Supplementary Figure 4. Expression of type 2 taste receptor genes in the human basal forebrain and hypothalamus. Mean expression values for all type 2 taste receptor genes included in the study, in the basal forebrain (a) or hypothalamus (b) of a 31-year-old Caucasian male.



**Supplementary Figure 5. Expression of the Gas family genes in the human amygdala, basal ganglia and thalamus.** Mean expression values of the three genes of the Gas family (*Gaolf* in dark red, *Gagus* in light red, *Gas* in red) in the amygdala (a), basal ganglia (b) and hypothalamus (c) of a 31-year-old Caucasian male.



**Supplementary Figure 6. Expression of the Gαq family genes in the human amygdala, basal forebrain, basal ganglia, and hypothalamus.** Mean expression values of the three genes of the Gαq family (*Gαq* in light pink, *Gα11* in dark pink) in the amygdala (a), basal forebrain (b), basal ganglia (c), and hypothalamus (d) of a 31-year-old Caucasian male.

## **Discussion**

### **1. Le cerveau humain pourrait « se sentir » et « se goûter »**

Mes travaux d'analyse du transcriptome des chimiorécepteurs cérébraux humains ont permis de montrer que l'immense majorité des familles de chimiosenseurs d'origine rhino-laryngée sont également exprimés au niveau du cerveau. En effet, 95% des transcrits codant pour des récepteurs olfactifs ainsi que la totalité de ceux codant pour les récepteurs gustatifs, aux amines traces, aux peptides formylés et voméronasaux sont exprimés au niveau du télencéphale à des niveaux assez faibles. Néanmoins, même faiblement, c'est au niveau du système limbique et du tronc cérébral qu'ils sont le plus exprimés. De façon étonnante, des pseudogènes appartenant aux familles des récepteurs olfactifs et voméronasaux sont exprimés dans toutes les régions étudiées et pourraient donc y jouer un rôle. Les transcrits des pseudogènes sont par exemple capables d'influencer l'activité d'autres gènes traduits en protéines et ainsi d'en altérer l'expression. Enfin, l'expression de ces différentes familles de chimiorécepteurs rhino-laryngés est accompagnée par celle de leurs partenaires canoniques de transduction, ce qui met en perspective leur fonctionnalité potentielle dans la physiologie cérébrale humaine et éventuellement dans des neuropathologies. Au sein de leurs tissus d'origine, les chimiorécepteurs sont impliqués dans l'extéroception, sensation du monde extérieur. Cependant, le cerveau humain étant isolé de l'environnement, les chimiorécepteurs cérébraux seraient donc probablement plus impliqués dans l'intéroception, définie comme la sensation du statut interne du corps (Khalsa et al., 2018).

## 1.1. Expression cérébrale des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée

Ce travail complète le manque de connaissances concernant ces récepteurs, dont la localisation cérébrale n'était que très partiellement connue. En effet, chez l'homme seuls quelques membres de la famille des récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs ont précédemment été mis en évidence dans un nombre limité d'aires cérébrales (cortices frontal, préfrontal, entorhinal, substance noire et cervelet). De plus, cette identification n'a été menée que dans des contextes pathologiques comme les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt-Jakob, la paralysie supranucléaire progressive ou la schizophrénie (voir **Tableaux 1 à 3** ou pour revue Ferrer et al., 2016 et Gaudel et al., 2018a, soumis à Scientific Reports).

### 1.1.1. Régionalisation cérébrale des chimiorécepteurs

L'étude que j'ai menée a montré qu'aucune zone du cerveau n'est dépourvue de transcrits de chimiorécepteurs. Cependant, leur expression est globalement supérieure dans le système limbique et le tronc cérébral. Cette découverte n'est pas une surprise puisque les sens chimiques apparaissent tôt dans l'évolution et sont fortement associés au cerveau primitif et paléo-mammifère. Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la muqueuse olfactive, qui abrite les récepteurs olfactifs et phéromonaux, est reliée au système limbique par le bulbe olfactif et le cortex piriforme. La langue et ses papilles gustatives transmettent l'information chimique au noyau du tractus solitaire du tronc cérébral, puis à l'amygdale, au thalamus et à l'hypothalamus par les nerfs crâniens VII, IX, X (Buck et Bargmann, 2000) (**Figure 3**). L'olfaction et le goût sont d'une importance capitale et permettent d'engendrer des comportements adéquats nécessaires à la survie. Il est donc tentant de supposer que les chimiorécepteurs cérébraux jouent un rôle dans l'autoconservation en permettant aux cellules cérébrales les exprimant de détecter des composés chimiques locaux éventuellement néfastes et de permettre au cerveau d'y réagir. De plus, les chimiorécepteurs pourraient assurer différentes fonctions associées au système limbique, notamment la mémoire et la régulation des métabolismes autonomes et endocriniens, en réponse aux stimuli émotionnels.

### 1.1.2. Partenaires de signalisation des chimiorécepteurs

Le schéma d'expression de la famille  $G\alpha_s$ , canoniquement impliquée *via*  $G\alpha_{olf}$  dans les cascades de signalisation des récepteurs olfactifs et des TAAR, est très proche de celui des chimiorécepteurs puisque cette famille est majoritairement retrouvée au niveau de plusieurs zones du système limbique. Cette juxtaposition presque parfaite entre le motif d'expression des transcrits de chimiorécepteurs et celui de la famille  $G\alpha_s$  n'est cependant pas constatée pour tous les partenaires canoniques de signalisation des chimiorécepteurs rhino-laryngés. Par exemple, les récepteurs aux peptides formylés et les récepteurs voméronasaux sont canoniquement associés à la famille  $G\alpha_{i/o}$  (Norlin et al., 2003; Rabiet et al., 2007; Tanaka et al., 1999), qui est globalement plus exprimée dans les structures mésencéphaliques et le cerveau postérieur (métencéphale, myélocéphale) que dans le système limbique. De plus, l'expression cérébrale des ARNm des protéines G et des TRP est forte et omniprésente, ce qui n'est pas surprenant puisque ces acteurs sont associés à de nombreux autres RCPG cérébraux comme les récepteurs à la dopamine, au GABA, ou les récepteurs métabotropiques au glutamate.

Il est cependant important de préciser que le couplage des chimiorécepteurs aux protéines G peut varier. Par exemple, *in vitro* les récepteurs olfactifs peuvent se coupler aux protéines  $G\alpha_s$ ,  $G\alpha_{olf}$  et  $G\alpha_{15/16}$  (Kajiya et al., 2001). Dans les neurones olfactifs, le couplage récepteur olfactif- $G\alpha_{olf}$  assure la reconnaissance des odeurs et le tri local des axones, tandis que pendant le développement, l'association récepteur olfactif- $G\alpha_s$  favorise le guidage des axones des neurones olfactifs jusqu'aux glomérules du bulbe olfactif pour assurer la convergence glomérulaire (Imai et Sakano, 2007, 2008). Par ailleurs, les récepteurs olfactifs peuvent utiliser une voie de signalisation non-canonique coexistant avec la voie de l'AMPC au sein du même neurone olfactif et pouvant être activée par le même récepteur olfactif de façon ligand-dépendante, à l'image d'Olfr73 et de  $G\alpha_o$  (Scholz et al., 2016).

Ainsi, même si les profils d'expression des chimiorécepteurs et des protéines G, qui leur sont canoniquement associées, ne sont pas exactement superposés, il est envisageable que les

chimiorécepteurs puissent être en quelque sorte opportunistes et soient capables de s'associer à d'autres protéines G pour fonctionner dans le cerveau, peut-être même de façon ligand-spécifique.

### 1.1.3. Expression de pseudogènes

Mes travaux soulèvent des questions quant à l'expression cérébrale de 10 pseudogènes de la famille des récepteurs olfactifs et 2 de la famille des récepteurs voméronasaux. Les pseudogènes sont définis comme incapables de produire une protéine fonctionnelle suite à une mutation ou une duplication incorrecte de leur séquence. Cependant, de plus en plus d'études montrent que des longs ARN non-codants issus de pseudogènes sont impliqués dans la promotion ou la répression de la transcription de leurs équivalents codants. Par exemple, la transcription du pseudogène *ABCC6P*, appartenant à la famille des transporteurs membranaires sensibles à l'ATP (*ATP-binding cassette*), est positivement corrélée à celle de son équivalent fonctionnel *ABCC6* (Piehler et al., 2008). En revanche, un ARN de pseudogène peut empêcher la traduction de l'ARN de son équivalent codant, en entrant en compétition pour la liaison des protéines de stabilisation des ARN ou en prenant la forme d'ARN antisens (Hu et al., 2018).

De plus, une étude récente a démontré que chez un sous-groupe de mouches du vinaigre (*Drosophila sechellia*) le gène du récepteur olfactif *Ir75a*, qui confère aux antennes de la *Drosophila melanogaster* une sensibilité à l'acide acétique, est un pseudogène. Cependant, chez *D. sechellia*, la protéine correspondant au pseudogène *Ir75a* est exprimée sélectivement dans les neurones grâce à une permissivité accrue de la machinerie de transcription neuronale (Prieto-Godino et al., 2016). Ainsi, au niveau du cerveau humain, la transcription de pseudogènes de la famille des récepteurs olfactifs et des récepteurs voméronasaux pourrait favoriser ou réprimer l'expression de leurs équivalents codants, ou posséder une fonctionnalité propre en étant traduits en protéines dans certaines cellules.

#### 1.1.4. Niveaux d'expression

L'expression cérébrale des transcrits de chimiorécepteurs rhino-laryngés constatée lors de cette étude est globalement faible. Cependant, les données utilisées ont été obtenues sur des échantillons d'ARN extraits de zones cérébrales entières. Par conséquent, il est possible que ces chimiorécepteurs soient fortement exprimés dans des sous-populations cellulaires, représentant une petite fraction de l'aire étudiée. Un tel modèle d'expression, appelé «expression mosaïque», est démontré pour *TAAR1* dans le cerveau (Borowsky et al., 2001). Ainsi, une expression mosaïque de l'ensemble des gènes de chimiorécepteurs rhino-laryngés pourrait refléter l'implication dans une fonction spécifique d'une population cellulaire exprimant un certain type de chimiorécepteurs. Cette hypothèse est également appuyée par la description de l'expression ectopique de récepteurs olfactifs par seulement quelques cellules au sein de tissus complexes. Par exemple, 4 récepteurs olfactifs (*OR1D2*, *OR1E3*, *OR1G1* et *OR6B1*) ont été détectés dans les cellules entérochromaffines gastro-intestinales humaines, qui ne constituent qu'une faible proportion de l'épithélium intestinal total, et ont une distribution diffuse au sein de ce tissu (Braun et al., 2007).

En outre, l'expression basale des chimiorécepteurs dans le cerveau peut aussi souligner l'importance que les variations de leurs niveaux d'expression pourraient avoir dans les neuropathologies et mettre en lumière leur importance physiologique pour combattre ou accentuer les pathologies du système nerveux central. En effet, leur faible expression basale peut ainsi rendre des petites variations d'expression considérables. En d'autres termes, il est envisageable que de petites variations engendrent des réponses physiologiques importantes puisqu'ils sont normalement très faiblement exprimés, c'est ce qu'on appelle plus communément «l'effet papillon».

## 2. Récepteurs olfactifs cérébraux physiologiques et pathologiques

Le second volet de mon travail de thèse a été consacré à la caractérisation de deux récepteurs olfactifs, Olfr110/111 et Olfr544, au niveau du cerveau murin. La présence de récepteurs olfactifs au niveau cérébral étant faiblement documentée dans la littérature, j'ai au cours de cette étude établi une description exhaustive de l'expression cinétique et de la localisation cellulaire de ces deux récepteurs olfactifs candidats. L'emploi de puces à ADN, de PCR quantitative en temps réel et d'immunohistochimie m'a permis d'étudier la localisation cellulaire et sous-cellulaire d'Olfr110/111 et Olfr544, ainsi que leur expression temporelle dans diverses zones du cerveau chez des souris sauvages et transgéniques imitant la maladie d'Alzheimer (souris 5xFAD) (Gaudel et al., 2018b).

### 2.1. Expression neuronale majeure des récepteurs olfactifs

La technique d'immunohistochimie m'a permis de montrer que les protéines Olfr110/111 et Olfr544 sont fortement exprimées par les neurones dans les régions corticales et hippocampiques. Ce résultat est en accord avec l'expression documentée des récepteurs olfactifs au sein de leur tissu de référence : le neuroépithélium olfactif (Buck, 1996). Comme nous l'avons vu dans l'introduction, l'expression de tels récepteurs a également été décrite dans plusieurs tissus nerveux tels que les ganglions du système nerveux autonome, la moelle allongée, le striatum, le cortex ou les ganglions des racines dorsales (Conzelmann et al., 2000; Gong et al., 2015; Grison et al., 2014; Otaki et al., 2004; Weber et al., 2002) (**Figure 23 A-B** et **Tableau 2**). Bien que mon travail se soit concentré sur les régions corticales et l'hippocampe, des zones marquées sont visibles à plusieurs autres niveaux, tels que le striatum ou le cervelet, conformément à une étude précédente (Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 23 C-H**). D'autres types cellulaires sont par ailleurs positifs pour le marquage Olfr110/111 et/ou Olfr544. Dans les deux groupes de souris, les astrocytes, la microglie et les oligodendrocytes exhibent une

expression, bien que faible, d'Olf110/111 et Olf544. Le marquage astrocytaire et microglial semble cependant plus prononcé chez les souris 5xFAD âgées de 9 mois. Enfin, seul l'anticorps dirigé contre Olf110/111 semble marquer les oligodendrocytes. Ces résultats sont particulièrement intéressants : deux études similaires antérieures ont, révélé pour l'une, un marquage exclusivement neuronal et pour l'autre, une expression neuronale rarement accompagnée de la détection rare de récepteurs olfactifs au niveau des cellules gliales (Garcia-Esparcia et al., 2013; Grison et al., 2014) (**Figure 23 H**).

## 2.2. Olf110/111 et Olf544 sont potentiellement fonctionnels au niveau cérébral

Lors d'une seconde partie d'expériences d'immunohistochimie, je me suis intéressée à la localisation sous-cellulaire des protéines Olf110/111 et Olf544. En utilisant un marqueur des membranes cellulaires, la *wheat-germ agglutinin* (WGA), j'ai démontré que ces récepteurs sont partiellement exprimés au niveau des membranes neuronales, dans leur partie somatique. Ces récepteurs olfactifs sont également exprimés au niveau du cytosol. L'étude menée par Garcia-Esparcia et collaborateurs mentionne uniquement une expression cytoplasmique du récepteur OR6K3 dans les neurones humains (Garcia-Esparcia et al., 2013). J'ai ensuite vérifié si les récepteurs olfactifs candidats étaient associés avec leur partenaire canonique de signalisation, la protéine  $G\alpha_{olf}$ , au niveau cérébral. En utilisant un anticorps spécifique de cette protéine en combinaison avec les anticorps anti-Olf110/111 et Olf544, j'ai démontré une superposition partielle de leurs marquages. Ces résultats indiquent donc qu'Olf110/111 et Olf544 sont potentiellement fonctionnels de par leur couplage probable à la protéine  $G\alpha_{olf}$  et sont en accord avec l'étude de Garcia-Esparcia qui montre une expression neuronale de cette protéine (Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 23 C-H**).

### 2.3. Potentielle implication des récepteurs olfactifs en tant que sentinelles de neuropathologies

Pour conclure les expériences d'immunohistochimie, j'ai souhaité observer si le marquage d'Olf110/111 et Olf544 coïncidait avec des altérations histologiques caractéristiques de la maladie d'Alzheimer. Les souris 5xFAD imitant cette maladie n'exhibent pas de tauopathie mais présentent une accumulation prononcée de fibrilles amyloïdes formées par des agrégats, ou plaques amyloïdes, composées de peptide A $\beta$  pouvant être immunodéecté. J'ai donc utilisé le marqueur 6E10 (dirigé contre un fragment du peptide A $\beta$ ) sur des coupes de cerveau de souris 5xFAD, en combinaison avec les anticorps de récepteurs olfactifs afin d'observer une éventuelle relation entre les deux marquages. Ceci m'a permis de constater qu'au niveau de la région CA1 de l'hippocampe des souris 5xFAD, les plaques amyloïdes sont entourées par des cellules positives pour le marquage Olf110/111 ou Olf544. Ces cellules présentent des corps cellulaires ramassés et de petits prolongements caractéristiques des cellules microgliales, pointant donc vers une expression microgliale des récepteurs olfactifs dans ce contexte pathologique. Une hypothèse pouvant expliquer cette observation serait que les récepteurs olfactifs, au niveau des cellules microgliales, soient utilisés comme des guides chimiotactiques orientant ces cellules vers les sites pathologiques par détection de molécules néfastes. Ainsi, les récepteurs olfactifs pourraient être impliqués dans les phénomènes d'inflammation et dans l'immunité cérébrale.

### 2.4. Expression dépendante de l'âge et de la pathologie

Dans le dernier volet de cette étude, j'ai étudié l'expression cinétique de l'ARNm d'*Olf110/111*, *Olf544* et *G $\alpha_{olf}$*  dans les groupes de souris sauvages ou 5xFAD d'âges différents (4, 6, 9 et 12 mois) en utilisant la technique de RT-qPCR. Ceci m'a permis de déterminer l'influence potentielle du vieillissement physiologique et pathologique sur l'expression de ces récepteurs.

J'ai basé mon analyse sur des échantillons de muqueuse olfactive, de cortex, d'hippocampe, de cervelet et d'œil pour chaque groupe de souris. Mes résultats ont permis de démontrer que l'expression d'*Olf110/111* dans la muqueuse olfactive est supérieure à celle d'*Olf544* et que ces deux récepteurs sont faiblement exprimés au niveau cérébral par rapport à la muqueuse olfactive. Ce résultat est en accord avec les nombreuses publications rapportant une expression ectopique faible de récepteurs olfactifs (pour revue, voir Kang et Koo, 2012; Maßberg et Hatt, 2018). De plus, mes résultats montrent que l'expression du transcrite *Olf110/111* tend à augmenter avec l'âge dans le cortex et l'hippocampe des souris sauvages et transgéniques. Ce résultat contredit les travaux précédemment menés au niveau cortical chez les souris APP/PS1, un autre modèle de la maladie d'Alzheimer, qui ne montrent pas d'augmentation de l'expression d'*Olf110* avec l'âge chez les souris sauvages (Ansoleaga et al., 2013). Cette dernière étude montre cependant une surexpression corticale d'*Olf110* débutant à 3 mois et exacerbée avec l'âge chez les souris APP/PS1 (**Figure 25 A**). Mon étude a permis de retrouver ce résultat dès 4 mois dans le cortex cérébral de souris 5xFAD. Par ailleurs, *Olf110/111* est également surexprimé dans l'hippocampe de manière croissante avec le vieillissement chez les souris transgéniques comparées aux animaux contrôles. Un profil différent est observé pour *Olf544*, dont la surexpression n'est constatée que dans le cortex des animaux sauvages ou 5xFAD âgés de 9 mois. La modulation de l'expression cérébrale des récepteurs olfactifs avec le vieillissement et/ou une neuropathologie pourrait donc représenter une cause, ou une conséquence, des différents phénomènes de vieillissement cérébral physiologiques et/ou pathologiques.

## 2.5. Conclusions

Cette étude visait à caractériser les profils d'expression de deux récepteurs olfactifs dans le cerveau murin, dans des conditions physiologiques et un contexte neurodégénératif. Elle démontre pour la première fois l'expression des transcrits et des protéines d'Olfr110/111 et d'Olfr544 dans le cortex et l'hippocampe de souris. Ces deux récepteurs sont principalement exprimés par les neurones hippocampiques et corticaux mais aussi par les astrocytes, la microglie, les oligodendrocytes et les cellules endothéliales. Leurs protéines sont par ailleurs probablement associées à la protéine  $G\alpha_{olf}$ , leur conférant une fonctionnalité potentielle au niveau cérébral. L'expression des transcrits des deux récepteurs est également dérégulée dans le modèle transgénique 5xFAD de la maladie d'Alzheimer. Cette étude représente donc un nouvel apport stimulant dans le domaine des neuropathologies et en particulier de la maladie d'Alzheimer. D'autres études seront nécessaires pour mieux comprendre les implications et rôles cérébraux d'Olfr110/111 et d'Olfr544, avec des possibilités de résultats prometteurs pour le développement de nouveaux médicaments ciblant ces récepteurs.

## 3. Fonctions cérébrales potentielles des chimiorécepteurs rhino-laryngés

Mes travaux ne permettent pas de tirer de conclusions sur la fonctionnalité des différents chimiorécepteurs au niveau du cerveau humain, l'expression observée étant seulement transcriptomique. D'autres études seront nécessaires afin de déterminer si les protéines correspondant à ces différents gènes sont effectivement traduites et dans quels contextes. Ces familles de chimiorécepteurs, originellement extéroceptrices en étant impliquées dans la perception de l'environnement, pourraient voir leurs fonctions initiales détournées et ils pourraient agir comme intérocepteurs de l'état interne du cerveau. De nombreuses fonctions cruciales dans la physiologie et la pathologie cérébrales sont imaginables. Les hypothèses

quant aux fonctions potentielles des chimiorécepteurs rhino-laryngés cérébraux seront discutées dans les parties suivantes.

### 3.1. Embryogenèse, maturation cellulaire et des réseaux neuronaux

L'expression de chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée a été identifiée dans de nombreux tissus, où ils jouent un rôle dans l'embryogenèse et le développement. De nombreux travaux ont en effet prouvé leur implication dans divers processus cellulaires tels que la prolifération, la migration, la différenciation des cellules et la mise en place finale des tissus matures. Ils ont également été impliqués dans la régénération tissulaire consécutive à une lésion ou une pathologie.

#### 3.1.1. Embryogenèse

Le transcrite du récepteur *Olr1654* a été retrouvé au niveau du cœur chez le rat au stade embryonnaire, avec un taux d'expression maximal lors des stades postnataux, indiquant un rôle probable dans la morphogenèse cardiaque (Drutel et al., 1995). De façon plus frappante, le récepteur *COR7b* est exprimé transitoirement dans la notochorde des embryons de poulet où il serait impliqué dans la reconnaissance cellulaire permettant le positionnement correct du tube neural (Nef et Nef, 1997). L'expression de plusieurs récepteurs olfactifs a aussi été observée au niveau du placenta chez la souris, où ils serviraient de récepteurs de surface pour plusieurs classes de petites molécules produites par la mère et/ou le fœtus et réguler la sécrétion de facteurs de croissance (Itakura et al., 2006; Mao et al., 2010). L'activation du récepteur OR1D2 présent au niveau des spermatozoïdes modifie indirectement leur expression génétique, l'impliquant dans les événements transcriptionnels précoces suivant la fertilisation (Neuhaus et al., 2006). Plusieurs transcrits antisens de récepteurs olfactifs sont aussi exprimés par ces cellules, laissant penser qu'ils pourraient intervenir comme régulateurs de la transcription et influencer l'embryogenèse précoce (Flegel et al., 2016).

### 3.1.2. Prolifération, migration et différenciation cellulaire

Les chimiorécepteurs murins et humains peuvent moduler la prolifération et/ou la migration cellulaire dans plusieurs tissus. En effet, 13 récepteurs olfactifs murins favorisent la prolifération des myoblastes, qui sont les cellules progénitrices des myocytes (Griffin et al., 2009). Ces récepteurs olfactifs seraient également capables de réguler la différenciation des myoblastes murins en myocytes composant les muscles squelettiques, leur expression ayant été retrouvée durant la myogenèse régénérative consécutive à une lésion. L'activation de l'un d'entre eux, Olfr16, par une mixture de muscle broyé favorise la régénération musculaire en influençant le branchement et la fusion des myoblastes en fibres musculaires (Griffin et al., 2009). Chez l'homme, l'expression des récepteurs OR2A4/7, OR2AT4, OR3A4, OR10J5, OR51B5 et FPR1 est associée à la prolifération des cellules endothéliales, des kératinocytes, des poils et des cellules cancéreuses (Busse et al., 2014; Chéret et al., 2018; Guo et al., 2016; Kim et al., 2015; Li et al., 2017; Tsai et al., 2017) (**Figure 21 A**). Au contraire, certains récepteurs olfactifs diminuent la prolifération, comme OR51B4 au niveau de cellules cancéreuses colorectales (Weber et al., 2017). Certains récepteurs ont un rôle binaire pro- ou antiprolifératif dans certains tissus : l'activation du récepteur OR51E2 favorise la prolifération des cellules pigmentaires rétiniennes, mais diminue celle des cellules cancéreuses de la prostate et des muscles lisses des voies aériennes (Aisenberg et al., 2016; Jovancevic et al., 2017; Neuhaus et al., 2009). Les chimiorécepteurs rhino-laryngés semblent également impliqués dans la promotion de la migration de différents types cellulaires. De nombreux récepteurs olfactifs sont exprimés au niveau protéique dans les spermatozoïdes dont ils favorisent, entre autres, la motilité (Flegel et al., 2016) (**Figure 20**). En effet, l'activation d'OR1D2 par le bourgeonal favorise la motilité cellulaire et la chimiotaxie des spermatozoïdes en augmentant leurs battements flagellaires et leur vélocité, favorisant ainsi leur déplacement vers la source émettrice (Spehr, 2003; Veitinger et al., 2011). De la même façon, la délétion de la sous-unité gustative T1R3 altère la motilité des spermatozoïdes de souris (Mosinger et al., 2013).

Les trois récepteurs de la famille T1R sont exprimés au niveau des précurseurs des ostéoclastes murins. L'hétérodimère T1R2/T1R3 en particulier aurait un rôle dans la répression de l'ostéogenèse car les souris *knocked-out* (KO) pour ces récepteurs présentent une masse osseuse augmentée (Eaton et al., 2018). Les protéines Fpr1 et Fpr2 sont surexprimées par les cellules souches neurales murines et favoriseraient leur migration et leur différenciation en neurones matures (Wang et al., 2016; Zhang et al., 2017).

### 3.1.3. Maturation des réseaux neuronaux

Plusieurs récepteurs olfactifs ont été détectés dans les neurones pyramidaux du cortex au stade postnatal chez la souris, où ils pourraient être utilisés comme des molécules développementales en régulant la mise en place postnatale des réseaux neuronaux (Otaki et al., 2004) (**Figure 23 B**). Un rôle des récepteurs T1R dans la mise en place des réseaux cérébraux et dans la morphologie neuronale est également documenté. Une dérégulation de l'expression des protéines synaptiques est trouvée chez les souris KO pour l'expression de *Tas1r3*, entraînant une modification de l'architecture synaptique à l'origine de l'altération des fonctions d'apprentissage et de mémorisation, ainsi que du comportement social (Martin et al., 2017) (**Figure 17 A**). De plus, les membres de la famille des récepteurs aux peptides formylés pourraient être déterminants pour la mise en place et le maintien de réseaux neuronaux. La protéine Fpr2 est présente au niveau des terminaisons axonales immatures du tronc cérébral et de différentes structures du système limbique chez le rat. Elle y jouerait un rôle dans la croissance axonale et la formation des synapses, son KO altérant les fonctions d'apprentissage, de mémorisation, d'équilibre et de nociception (Ho et al., 2018).

### 3.1.4. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans l'embryogenèse, la maturation cellulaire et neuronale

Comme nous l'avons vu dans les parties précédentes, les récepteurs olfactifs ont un rôle important dans l'embryogenèse. Conformément à l'observation de Nef et Nef chez le poulet,

ces récepteurs pourraient favoriser le développement des cellules de la plaque neurale, jouant ainsi un rôle dans la mise en place des structures nerveuses embryonnaires (Nef et Nef, 1997). Ces récepteurs olfactifs, et de façon similaire d'autres chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée, pourraient être impliqués à différentes étapes du neurodéveloppement. Lors de stades précoces de l'embryogenèse, ils pourraient moduler la libération de facteurs de croissance ou reconnaître des morphogènes, tels que *Sonic hedgehog*, régulant la transcription génétique et donc déterminant l'identité cellulaire. Par la suite, conformément à l'hypothèse «d'indicatif régional» énoncée à propos des récepteurs olfactifs par Dreyer, les chimiorécepteurs pourraient favoriser le guidage fin et le positionnement des cellules neurales néoformées (Dreyer, 1998). Les récepteurs olfactifs sont déjà connus pour participer au guidage des axones des neurones olfactifs vers les bulbes olfactifs au sein du système olfactif en développement (Barnea, 2004; Mombaerts et al., 1996). De telles fonctions pourraient être conservées au sein du cerveau adulte. Les récepteurs olfactifs et autres chimiorécepteurs rhino-laryngés pourraient agir de façon similaire lors des processus de maintenance cellulaire physiologiques ou en réaction à un traumatisme ou une pathologie. Ils pourraient en effet y détecter des morphogènes et induire la différenciation cellulaire des cellules souches neurales en neurones, astrocytes ou oligodendrocytes et plus tard permettre leur intégration au tissu cérébral mature ou aux circuits neuronaux préexistants. Une hypothèse quant à un tel rôle des chimiorécepteurs lors du développement cérébral et de la neurogenèse est appuyée par mes travaux. En effet, les résultats de ma première étude chez l'homme montraient que l'expression des récepteurs gustatifs, olfactifs et phéromonaux était plus forte au niveau du système limbique qui renferme la seule zone de neurogenèse humaine, située au niveau de l'hippocampe (Gaudel et al., 2018a, soumis à *Scientific Reports*). De plus, j'ai observé une expression neuronale des protéines Olfr110/111 et Olfr544 au niveau des neurones hippocampiques chez les souris sauvages et 5xFAD, au niveau des couches sous-granulaire et granulaire (Gaudel et al., 2018b). Ainsi, au niveau cérébral les récepteurs olfactifs et autres

chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée seraient potentiellement capables de guider la migration et/ou d'assigner un emplacement final à un neurone néoformé.

### 3.2. Régulation du métabolisme cérébral et du comportement alimentaire

De nombreuses indications d'un rôle métabolique des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée ont été suggérées expérimentalement et concernent en majorité la régulation de la glycémie.

Chez la souris, les transcrits *Tas1r1*, *Tas1r2* et *Tas1r3* sont surexprimés au niveau des neurones glucosenseurs hypothalamiques après une privation alimentaire, indiquant leur implication dans le métabolisme cérébral du glucose (Ren et al., 2009). L'hétérodimère T1R2/T1R3 participe également à la glucosensibilité des tanycytes bordant le 3<sup>ème</sup> ventricule cérébral et étendant des processus jusqu'à l'hypothalamus (Benford et al., 2017). Suite à une ischémie cérébrale chez le rat, la forme protéique du dimère T1R2/T1R3 est surexprimée au niveau des astrocytes hippocampiques, permettant de favoriser l'expression de transporteurs du glucose pour contrer la déprivation glucidique des neurones (Shin et al., 2010). Chez le rat, les protéines T2R4 et  $G\alpha_{t3}$  sont fortement exprimées au niveau du tronc cérébral et en particulier par les neurones du noyau du tractus solitaire. L'activation de ce récepteur par la quinine, un alcaloïde naturel, déclenche la sécrétion d'hormones régulatrices de la prise alimentaire comme la cholécystokinine, ou hormone de satiété (Dehkordi et al., 2012; Singh et al., 2011) (**Figure 19 A**). Par ailleurs, les cellules entéroendocrines du côlon de patients obèses ou en surpoids exhibent une surexpression du transcrit et de la protéine encodés par *TAS2R38* (Latorre et al., 2016) (**Figure 18**).

Par ailleurs, la famille TAAR, que j'ai trouvée exprimée chez l'homme au niveau du système limbique – dont l'hypothalamus – ainsi qu'au niveau du tronc cérébral, pourrait être impliquée dans de telles fonctions. Elle pourrait agir, par exemple, sur la régulation de la capture de

différents nutriments *via* les pieds astrocytaires. L'expression de Taar1 a en effet été reportée comme régulant la sécrétion hormonale en réponse aux nutriments au niveau des cellules  $\beta$ -pancréatiques et entéroendocrines intestinales, où il possède un rôle hypoglycémique (Raab et al., 2016) (**Figure 22**).

Il n'existe pas de donnée à propos d'un rôle métabolique des récepteurs olfactifs au niveau cérébral, cependant ce type de fonction a été documenté au niveau du foie et du pancréas. Olfr544 est en effet exprimé au niveau des hépatocytes, où son activation par l'acide azélaïque, provenant des céréales, entraîne la cétogenèse et l'oxydation des acides gras (Wu et al., 2017). Dans le pancréas, l'activation d'Olfr15 exprimé par les cellules  $\beta$ -pancréatiques par l'acide octanoïque, provenant de la noix de coco, potentialise la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose (Leem et al., 2018; Munakata et al., 2018). Au niveau des cellules  $\alpha$ -pancréatiques, l'activation d'Olfr544 augmente la sécrétion de glucagon (Kang et al., 2015b) (**Figure 21 B-C**). Enfin, il a été montré que le lactate, métabolite de la dégradation du glucose, s'accumule dans le sang lors du phénomène d'hypoxie et active le récepteur Olfr78 exprimé au niveau des glomus carotidiens, ce qui produit une hyperventilation (Chang et al., 2015).

Au sein du cerveau humain, mes données montrent que les chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée sont plus exprimés au niveau du système limbique, dont fait partie l'hypothalamus. Cette structure étant entre autres impliquée dans le contrôle de la prise alimentaire, il est fortement probable que des récepteurs au goût de la famille T1R exprimés à ce niveau soient impliqués dans cette fonction chez l'homme. La famille T2R, bien que moins exprimée que les T1R au niveau hypothalamique humain, pourrait également jouer un rôle dans la régulation du métabolisme nutritionnel. Mes résultats montrent en effet une expression importante de T2R au niveau du tronc cérébral, composé de nombreux noyaux régulant de nombreuses fonctions vitales, dont l'alimentation.

Bien qu'il soit facile de formuler des hypothèses quant au rôle métabolique cérébral potentiel des récepteurs gustatifs au vu de leurs fonctions cérébrales déjà documentées, l'implication

d'autres chimiorécepteurs comme les récepteurs olfactifs et phéromonaux dans cette fonction est encore incertaine. L'hypothèse pourrait être formulée que, suite à une activité neuronale intense, différents chimiorécepteurs astrocytaires puissent être activés par des produits issus du métabolisme neuronal du glucose comme le malate ou le CO<sub>2</sub>, à l'image de l'activation d'Olf78 par le lactate (Chang et al., 2015). Cette activation pourrait entraîner une augmentation de l'expression des transporteurs du glucose au niveau des pieds astrocytaires afin de potentialiser la capture de glucose sanguin. Les astrocytes jouent en effet un rôle nutritionnel important pour les neurones en leur fournissant du lactate, molécule cruciale pour la production d'ATP. Un tel rôle peut être suggéré par l'immunodétection d'Olf110/111 et Olf544 au niveau de quelques pieds astrocytaires constatée lors de mon étude (Gaudel et al., 2018b).

### 3.3. Communication cellulaire et humorale, modulation de la neurotransmission

#### 3.3.1. Communication intercellulaire et humorale

Une libération d'ATP par les kératinocytes est engendrée par l'activation de leur récepteur olfactif OR2AT4 et est à l'origine de l'activation des récepteurs purinergiques des neurones sensoriels voisins, établissant ainsi une forme de dialogue entre ces derniers et les kératinocytes (Sondersorg et al., 2014). Chez l'homme, l'activation de récepteurs olfactifs au niveau des cellules entéroendocrines et entérochromaffines intestinales par différents ligands issus d'épices induit la libération de sérotonine. Cette neurohormone joue un rôle dans la régulation de la motilité du tractus gastro-intestinal en permettant la contraction des muscles lisses entériques (Braun et al., 2007; Leja et al., 2009; Priori et al., 2015). Chez la souris, les cellules entéroendocrines du côlon expriment le récepteur Olf78 dont l'activation par le propionate pourrait réguler la sécrétion hormonale de ces cellules et contribuer au maintien de l'homéostasie intestinale. Ces cellules sont en effet capables de libérer des hormones aux effets variés, telles que le glucagon, le GLP-1, le peptide insulino-trope dépendant du glucose,

la sécrétine, la neurotensine, la somatostatine et la cholécystokinine (Fleischer et al., 2015). Un rôle similaire a été démontré pour le récepteur T1R3 exprimé au niveau des cellules pariétales de l'estomac humain, où il induit une libération de sérotonine permettant de moduler les sécrétions gastriques et la motilité locales (Zopun et al., 2018). L'hétérodimère T1R2/T1R3 exprimé au niveau des cellules entéroendocrines duodénales de souris est responsable de la sécrétion de GLP-1 et améliore la tolérance au glucose (Jang et al., 2007) (**Figure 17 G-H**). Par ailleurs, il a été démontré que l'hétérodimère responsable de la perception du goût sucré, T1R2/T1R3, est exprimé au niveau de l'urothélium vésical. Son activation par des édulcorants entraîne la libération de molécules, non identifiées mais probablement neurohormonales, par les cellules urothéliales. Ces dernières permettent la contraction du détrusor, muscle lisse permettant la vidange de la vessie (Elliott et al., 2011). Chez la souris, l'activation du récepteur Olfr78 par des acides gras favorise la libération de rénine par les cellules juxtaglomérulaires, à l'origine d'une vasoconstriction et d'une augmentation du taux de filtration glomérulaire (Pluznick et al., 2013).

### 3.3.2. Modulation de la neurotransmission

La famille des récepteurs TAAR semble posséder un rôle très important dans la modulation de la neurotransmission. Au sein de cette famille, *TAAR1* est connu pour ne pas être impliqué dans l'olfaction et est exprimé au niveau du système limbique humain. Dans ces structures, et en particulier au niveau de l'amygdale, il modulerait les neurotransmissions dopaminergique, noradrénergique et sérotoninergique, importantes pour la régulation de l'humeur (Borowsky et al., 2001; Lindemann et al., 2008). Chez l'homme, les polymorphismes du pseudogène *TAAR4* exprimé au niveau du système limbique seraient associés à une susceptibilité à la schizophrénie (Duan et al., 2004). L'ensemble des gènes de cette famille sont par ailleurs localisés sur un locus de susceptibilité à la schizophrénie au niveau du chromosome 6 humain (Cao et al., 1997). De plus, des modifications de l'activité cérébrale comparables à celles

produites par un médicament antipsychotique ont été observées en IRM chez les rats ayant reçu une injection d'un agoniste sélectif de Taar1 (Revel et al., 2013) (**Figure 24 C**).

### 3.3.3. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans la communication cellulaire et la modulation de la neurotransmission

L'expression cérébrale des chimiorécepteurs constatée lors de mes études pourrait être utilisée par différents types cellulaires dans un but similaire. La détection d'un composé toxique dans le sang par les cellules endothéliales ou les pieds astrocytaires, en contact avec les vaisseaux sanguins cérébraux, pourrait engendrer la génération d'un message chimique par ces types cellulaires. Par exemple, les cellules endothéliales pourraient produire différents facteurs vasoactifs, comme l'oxyde nitrique, qui peuvent jouer un rôle local d'hormones et influencer les cellules adjacentes (Vane et Botting, 1992). Mes travaux ont en effet démontré une expression protéique de récepteurs olfactifs au niveau des pieds astrocytaires, mais également au niveau de la surface des cellules endothéliales en contact avec le flux sanguin (Gaudel et al., 2018b). Les chimiorécepteurs astrocytaires pourraient aussi être activés par certains composés sanguins ou issus de l'activité neuronale et entraîner la libération de gliotransmetteurs, comme le glutamate, l'oxyde nitrique, l'ATP ou des prostaglandines, permettant de réguler l'activité neuronale.

Bien que l'observation de l'expression de chimiorécepteurs au niveau du cerveau humain ne nous permette pas de savoir quels types cellulaires les expriment, il est possible de formuler des hypothèses en se basant sur leur régionalisation. Une expression supérieure des récepteurs gustatifs, olfactifs et phéromonaux a été observée au niveau du système limbique. La famille TAAR ayant un rôle avéré dans la modulation de différents systèmes de neurotransmission, il est donc tentant d'imaginer que les autres familles de chimiorécepteurs rhino-laryngés puissent agir de façon similaire. Les récepteurs gustatifs tels que le récepteur à l'umami pourraient réagir aux neurotransmetteurs comme le glutamate et entraîner à leur

tour la production de neurotransmetteurs à effet inhibiteur, comme le GABA, ou augmenter la synthèse de glutamine, précurseur du glutamate fourni aux neurones par les astrocytes.

### 3.4. Immunité et processus inflammatoires

#### 3.4.1. Chimio-vigilance

Une étude chez le rat a montré que les T1R et T2R exprimés au niveau des cellules épithéliales des plexus choroïdes joueraient un rôle de surveillance de la composition chimique du liquide céphalo-rachidien et en particulier sur la présence de composés amers potentiellement toxiques (Tomás et al., 2016) (**Figure 19 B**). Plusieurs T2R sont exprimés au niveau des muscles lisses et des cellules endothéliales vasculaires murines et humaines, et joueraient un rôle dans la vasodilatation en permettant d'accélérer le flux sanguin et donc l'élimination des composés nocifs (Chen et al., 2017). Au niveau des cellules chimiosensorielles nasales solitaires, l'activation du récepteur au goût sucré supprime la sécrétion de peptides antimicrobiens relayée par les T2R en conditions physiologiques. En revanche, suite à une infection bactérienne, T1R2/T1R3 est désactivé en réponse à la consommation bactérienne de glucose, ce qui réduit l'inhibition T2R et entraîne la sécrétion de peptides antimicrobiens (Lee et Cohen, 2014). Le récepteur T2R38 est exprimé au niveau protéique dans différentes parties du placenta humain et son activation entraîne un influx calcique (Wölfle et al., 2016). L'un des ligands naturels de ce récepteur est l'acyl-homosérine lactone AHL-12, qui permet la détection du quorum des bactéries décrite dans les neutrophiles (Maurer et al., 2015). Ainsi, le T2R38 placentaire pourrait être impliqué dans la détection d'infections bactériennes (Wölfle et al., 2016). Au niveau du système digestif, les cellules à panache de l'intestin utilisent les récepteurs T1R et T2R pour orchestrer l'immunité de type 2 aux infections parasitiques (Gerbe et al., 2016).

Chez l'homme, l'expression protéique d'OR6B2 est détectée au niveau des cellules satellites des ganglions de la racine dorsale, où elle contrôlerait la composition chimique sanguine (Flegel et al., 2015). Comme les récepteurs gustatifs, plusieurs membres de la famille des récepteurs olfactifs sont détectés au niveau des plexus choroïdes chez le rat, où ils pourraient détecter des altérations de la composition du liquide céphalo-rachidien, permettant d'induire des réponses modulant et maintenant l'homéostasie cérébrale (Gonçalves et al., 2016). Enfin, plusieurs récepteurs olfactifs sont impliqués dans la production et la libération de facteurs inflammatoires comme les cytokines. L'activation des récepteurs OR1D2, OR2A4/7 et OR51B5 exprimés au niveau des muscles lisses des voies aériennes supérieures, des kératinocytes et des mélanocytes entraîne en effet la libération d'interleukine-1, -6, -8 et de GM-CSF (facteur de stimulation des colonies de granulocytes et macrophages) (Kalbe et al., 2016; Tsai et al., 2017).

#### 3.4.2. Traumatismes et neuropathologies

Il existe de nombreuses preuves de l'implication de récepteurs gustatifs et phéromonaux dans les phénomènes d'inflammation consécutifs à une lésion ou une neuropathologie.

Au sein de la famille des récepteurs gustatifs, l'activation de l'hétérodimère T1R1/T1R3 des neutrophiles entraîne leur migration chimiotactique ainsi qu'une atténuation de la réponse inflammatoire (Lee et al., 2014). Au niveau des granulocytes murins, l'activation de ce même dimère supprime la neuroinflammation déclenchée par ces cellules après une lésion de la moelle épinière en réduisant la libération d'interleukines pro-inflammatoires et d'espèces réactives de l'oxygène (Shi et al., 2017a). Concernant les récepteurs phéromonaux, les transcrits de tous les membres de la famille TAAR (sauf *TAAR8*) ont été détectés au niveau de différentes cellules immunitaires humaines, dont ils moduleraient plusieurs fonctions immunitaires telles que leur migration chimiotactique vers les sites d'inflammation ou la libération de cytokines et d'immunoglobulines (Babusyte et al., 2013). Le transcrit de *Taar8* est, lui, surexprimé au niveau des astrocytes et de la microglie murins après induction d'une

inflammation (D'Andrea et al., 2012). Par ailleurs, la famille FPR pourrait conserver au sein du cerveau son rôle canonique de détecteur de peptides formylés produits par des bactéries. Par exemple, les FPR pourraient être activés par une infection cérébrale causée par une méningite bactérienne ou une fracture ouverte et, à l'image d'un «système d'alarme», participer au déclenchement de la neuroinflammation en favorisant la chimiotaxie des cellules immunitaires vers les sites infectés, phénomène déjà décrit en périphérie (Migeotte et al., 2006). Au niveau des phagocytes mononucléaires, FPR2 répond à plusieurs formes de protéines amyloïdogéniques, comme le sérum amyloïde A, le peptide A $\beta$ 42 et le fragment de la protéine prion PrP106-126, et entraîne la libération de facteurs pro-inflammatoires neurotoxiques (Le et al., 2001). L'expression des protéines FPR1 et FPR2 a également été mise en évidence au niveau des astrocytes et des cellules microgliales humaines, ainsi qu'au niveau des neurones des systèmes moteur, sensoriel, cérébelleux, sympathique et parasympathique, dont elles réguleraient la migration et la sécrétion de cytokines (Becker et al., 1998; Le et al., 2002). Chez la souris, les mêmes récepteurs seraient impliqués dans la réponse inflammatoire précoce suite à une lésion hépatique en diminuant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Giebeler et al., 2014).

En revanche, il n'existe pour l'heure aucune preuve d'une implication directe des récepteurs olfactifs dans les phénomènes inflammatoires consécutifs à un traumatisme ou une lésion, mais quelques indices pointent vers cette hypothèse. Chez le rat, la surexpression de nombreux récepteurs olfactifs a été observée au niveau des cellules de Schwann des ganglions des racines dorsales dès 30 minutes après une lésion du nerf sciatique (Gong et al., 2015; Li et al., 2013b). La surexpression du récepteur *Olf110* est observée suite à l'induction d'une inflammation au niveau des cellules microgliales provenant de souris double transgéniques Tau/ApoE4, un modèle reproduisant la tauopathie de la maladie d'Alzheimer et surexprimant l'isoforme E4 de l'apolipoprotéine E (principal facteur de risque de la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer) (Shi et al., 2017b). Enfin, comme décrit de façon

extensive dans l'introduction, l'expression de nombreux gènes de récepteurs olfactifs (et gustatifs) est altérée lors de neuropathologies accompagnées de processus inflammatoires, comme la maladie d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt-Jakob ou la paralysie supranucléaire progressive (Ansoleaga et al., 2013; Garcia-Esparcia et al., 2013) (**Figure 25 B-E**). La surexpression corticale d'*Olf110* a également été décrite dans le modèle murin APP/PS1 de la maladie d'Alzheimer (Ansoleaga et al., 2013) (**Figure 25 A**).

### 3.4.3. Rôle(s) potentiel(s) des chimiorécepteurs rhino-laryngés dans la neuro-immunité et les processus de neuroinflammation

Les études présentées au cours de cette partie montrent qu'il est plus qu'envisageable de considérer que les chimiorécepteurs rhino-laryngés, et en particulier les récepteurs gustatifs T2R, comme des sentinelles de chimio-vigilance permettant la protection du système nerveux central. L'expression de récepteurs gustatifs et olfactifs au niveau des plexus choroïdes, responsables de la production du liquide céphalo-rachidien, est en effet démontrée (Gonçalves et al., 2016; Tomás et al., 2016) (**Figure 19 B**). Chez l'homme, l'expression de récepteurs gustatifs au niveau de régions cérébrales à l'interface avec les milieux extracellulaires tels que le liquide céphalo-rachidien ou le sang pourrait constituer un système d'alerte permettant de détecter et réagir rapidement à l'apparition d'une rupture de l'homéostasie cérébrale ou à la présence de composés toxiques. Ces derniers sont souvent qualifiés d'amers et peuvent donc être détectés par la famille de récepteurs sensibles à l'amertume : les T2R. Il est intéressant de constater que parmi toutes les familles de chimiorécepteurs rhino-laryngés décrites dans le cerveau humain par nos travaux, cette famille T2R est la plus exprimée. De plus, l'un des lieux préférentiels de son expression est le métencéphale, qui abrite notamment le 4<sup>ème</sup> ventricule cérébral. Mon étude de caractérisation de l'expression cérébrale des récepteurs olfactifs n'a pas permis de tirer une telle conclusion. Cependant, au cours d'expériences d'immunohistochimie complémentaires devant être reproduites, nous avons observé l'expression protéique d'*Olf544* au niveau des plexus choroïdes. Il est donc largement

envisageable que les récepteurs olfactifs, ainsi que différents récepteurs gustatifs ou phéromonaux, soient en effet exprimés au niveau des cellules épendymaires des plexus choroïdes. Dans des conditions physiologiques, ils pourraient réguler la composition du liquide céphalo-rachidien mais aussi agir comme de véritables détecteurs de l'apparition d'indicateurs pathologiques ou lésionnels, permettant des réponses adaptées à des ruptures de l'homéostasie cérébrale. Par exemple, des chimiorécepteurs choroïdaux détectant la forme soluble du peptide A $\beta$  pourraient, lors de la maladie d'Alzheimer, être surexprimés afin de maximiser les phénomènes de clairance de ce neurotoxique ou entraîner la libération de facteurs inflammatoires permettant le recrutement de cellules immunitaires.

Les altérations de l'expression des récepteurs olfactifs dans différentes neuropathologies abordées précédemment rappellent la surexpression cérébrale précoce d'*Olf110/111* et proportionnelle à la progression de la pathologie observée chez les souris 5xFAD (Gaudel et al., 2018b). La maladie d'Alzheimer est en effet connue pour engendrer une neuroinflammation au niveau du tissu cérébral. Il est intéressant de constater que chez la souris, le gène du récepteur olfactif *Olf110* est situé sur un locus du chromosome 17 contenant un grand nombre de gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, qui participe aux réponses immunitaires (Amadou et al., 2003). Par ailleurs, l'homologue humain d'*Olf110*, *OR5V1* (alias *hs6M1-21*), est également exprimé dans le cluster de gènes du CMH du chromosome 6 (Younger, 2001). *Olf110/111* est donc en toute probabilité impliqué dans la réponse neuroinflammatoire rencontrée au cours de la maladie d'Alzheimer. D'autre part, cette maladie est en partie caractérisée par l'accumulation extracellulaire de peptide A $\beta$  dans le cerveau qui perturbe l'homéostasie cérébrale. Ainsi, les récepteurs olfactifs et autres chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée exprimés par les cellules immunitaires résidentes, la microglie, les astrocytes et les neurones pourraient coopérer pour contrer ces déséquilibres physiologiques. Dans ce contexte, les dépôts de peptide A $\beta$  induisent en effet un phénomène de chimiotactisme, guidant la microglie vers eux (Rogers et Lue, 2001). Il est possible que

l'activation des récepteurs gustatifs, phéromonaux ou olfactifs participe à ce phénomène. Leur expression au niveau astrocytaire ou des cellules immunitaires résidentes, telles que les cellules microgliales ou les macrophages cérébraux, pourrait les impliquer en tant que médiateurs du phénomène d'inflammation cérébrale. Par exemple, des chimiorécepteurs microgliaux pourraient être activés par le peptide A $\beta$ , permettant la migration chimiotactique de la microglie et son accumulation, créant une barrière immunitaire autour des plaques amyloïdes pour contrer leur expansion. Cette hypothèse est appuyée par l'observation lors de mon étude de l'expression vraisemblablement microgliale des protéines Olfr110/111 et Olfr544, trouvées à proximité de plaques amyloïdes chez les souris 5xFAD, modèles de la maladie d'Alzheimer (Gaudel et al., 2018b).

Enfin, les chimiorécepteurs rhino-laryngés pourraient posséder une fonction cellulaire constitutive assurée sans besoin de lier un agoniste. En effet, plusieurs autres RCPG ont été décrits comme ayant un rôle physiologique sans même être activés par leur ligand, leur expression seule favorise en effet, divers mécanismes physio- ou pathologiques. L'expression du RCPG sérotoninergique 5HT<sub>4</sub> favorise le clivage de l'APP (*Amyloid Precursor Protein*) vers la voie non-amyloïdogénique, prévenant ainsi l'accumulation cérébrale du peptide A $\beta$  à l'origine des plaques amyloïdes de la maladie d'Alzheimer (Cochet et al., 2013). Par ailleurs, le RCPG orphelin GPR3 interagit indépendamment de la liaison d'un ligand avec la  $\gamma$ -sécrétase, ce qui lui procure un effet pro-amyloïdogénique (Thathiah et al., 2009). En faisant l'hypothèse que les chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée (qui sont, pour rappel, tous des RCPG), à l'image des récepteurs GPR3 ou 5HT<sub>4</sub>, participent en conditions physiologiques au clivage non-amyloïdogénique de l'APP, la diminution pathologique de leur expression favoriserait ainsi la voie pro-amyloïdogénique. À l'inverse, leur surexpression, comme celle d'Olfr110/111 observée lors de mon étude, pourrait constituer un effort cellulaire afin de favoriser le clivage non-amyloïdogénique.

### 3.5. Conclusion

L'expression des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée dans le système nerveux central est avérée. Leurs fonctions à ce niveau restent inconnues. Globalement, les récepteurs au goût sucré semblent majoritairement impliqués dans le métabolisme nutritionnel. Les récepteurs au goût amer, eux, semblent plutôt engagés dans la détection de composés pathologiques et la défense immunitaire. Cependant, les récepteurs olfactifs et phéromonaux dits «ectopiques» sont distribués dans tout le corps. Contrairement aux récepteurs gustatifs, il est difficile d'isoler une fonction dans laquelle ils semblent plus particulièrement impliqués. En effet, leur omniprésence et cette diversité de fonctions semblent plutôt pointer vers un rôle véritable de «sentinelles» cellulaires. À l'image des spermatozoïdes, les cellules d'un tissu pourraient exhiber une expression multigénique de chimiorécepteurs, leur procurant la capacité de réagir de façon variée à différents stimuli.

Dans l'ensemble, les expressions et fonctionnalités déjà démontrées des chimiorécepteurs rhino-laryngés «ectopiques» les ont d'ores et déjà établis comme de véritables intérocepteurs. Il est donc hautement probable qu'ils agissent également dans l'intéroception cérébrale et soient impliqués dans le fonctionnement physiologique du cerveau et qu'ils soient également capables d'entraîner des réponses adaptées dans différents contextes neuropathologiques (libération d'hormones, de neurohormones ou de neurotransmetteurs).

## Conclusions générales

Mes travaux de thèse représentent les premiers pas d'une recherche visant à mieux comprendre l'expression cérébrale des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée (récepteurs gustatifs et phéromonaux) et en particulier des récepteurs olfactifs.

La démonstration que ces familles de récepteurs sont exprimées presque au complet au sein du cerveau humain et accompagnées de leurs partenaires canoniques de signalisation nous a permis d'émettre de nombreuses hypothèses quant à leurs rôles potentiels dans la physiologie cérébrale et/ou les neuropathologies. De plus, l'observation des protéines «récepteurs olfactifs» au niveau de cerveaux murins sains ou malades, d'une part, et la modification de leur expression transcriptomique et protéique avec le vieillissement ou l'avancée pathologique, d'autre part, ouvrent de nombreuses perspectives d'études et pistes thérapeutiques.

Le cerveau étant isolé de l'environnement externe par la barrière hémato-encéphalique, aucun goût, phéromone ou odeur ne peut théoriquement y parvenir. Les chimiorécepteurs ne possèdent donc à priori aucun aspect gustatif ou olfactif à ce niveau en dehors de leur nom. Ainsi, au lieu de les qualifier seulement d'ectopiques et afin de refléter leur rôle probable d'intérocepteurs à fonctions variables selon le récepteur, je propose de les renommer TaLIN, PheLIN ou OLIN, pour «*Taste-Like Interoceptors*», «*Pheromone-Like Interoceptors*» ou «*Olfactory-Like Interoceptors*». Cette nouvelle dénomination permet de garder leur racine de fonctions canoniques mais ouvre également la porte à leurs nouvelles fonctionnalités, non-gustatives et non-olfactives, mais intéroceptives, au sein de tissus et organes non-chimiosensoriels.

Pour finir, peu d'efforts de recherche ont été concentrés sur les chimiorécepteurs cérébraux alors que de nombreuses fonctions leur ont été attribuées au sein d'une variété de tissus. Ces récepteurs ont en effet été extensivement décrits comme jouant des rôles tels que la

régénération cellulaire, la régulation du métabolisme ou bien le recrutement du système immunitaire. Ceci suggère que ces RCPG gustatifs, phéromonaux et olfactifs pourraient jouer un rôle physiologique et/ou physiopathologique plus profond au niveau central comme au niveau périphérique. La caractérisation de ces récepteurs dans des organes, tels que le cerveau, important du point de vue thérapeutique, souligne l'importance de caractériser ces acteurs, jusqu'ici plutôt méconnus, ainsi que leur grand potentiel. En effet, la plupart des médicaments modernes modifie la fonction des RCPG : il est donc imaginable, une fois leurs fonctions identifiées, de cibler les TaLIN, PheLIN et OLIN afin de moduler leurs effets à des fins thérapeutiques.

# Perspectives

## **1. Étude de l'expression des TaLIN, PheLIN et OLIN au niveau cérébral humain**

L'étude de l'expression des TaLIN, PheLIN et OLIN que j'ai effectuée n'étant basée que sur un cerveau, il serait intéressant d'étendre ces résultats à un groupe d'individus. Des banques de tissus telles que Neuro-CEB proposent des échantillons de cerveaux humains issus de larges groupes de patients. Il est donc envisageable de réitérer une étude de l'expression transcriptomique des chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée et de leurs partenaires canoniques en utilisant les techniques de RNA-seq ou de puces à ADN, à l'échelle de cerveaux humains de groupes d'au moins 6 personnes. Ceci permettrait l'obtention de résultats statistiquement plus fiables et robustes, ainsi que la comparaison des expressions entre, par exemple, un groupe jeune et un groupe âgé, des hommes et des femmes, des sujets sains et atteints d'une neuropathologie. L'expression des chimiorécepteurs au sein de tels groupes pourrait également être étudiée du point de vue protéique en utilisant différentes techniques permettant l'analyse quantitative et qualitative de l'expression, comme le western-blot et l'immunofluorescence. Il m'apparaît évident qu'il s'agit d'une première étape essentielle pour avérer de la fonctionnalité de ces chimiorécepteurs intéroceptifs dans le cerveau humain.

## **2. Caractérisation de la fonction des OLIN**

### 2.1. Désorphanisation

Comme de nombreux récepteurs olfactifs, Olfr110/111 est orphelin, c'est-à-dire qu'aucun ligand n'est connu pour ce récepteur. Olfr544 répond en revanche à l'application d'acide azélaïque (Kang et al., 2015b) (**Figure 21 B-C**). L'étude de la fonction d'un récepteur nécessite d'être capable de l'activer afin de déterminer sa chaîne de signalisation intracellulaire et ultimement les mécanismes cellulaires et tissulaires dans lesquels son activation est impliquée.

Dans les études de désorphanisation des récepteurs olfactifs, une méthode couramment utilisée implique l'utilisation du Henkel-100. Une centaine de composés odorants capables d'activer une vaste gamme de récepteurs olfactifs sont présents dans ce mélange, qui permet de déterminer rapidement par élimination le type d'odorant permettant d'activer un récepteur. L'utilisation de cette mixture permettrait l'étude rapide des fonctions principales d'Olf110/111 et Olf544 dans l'attente de l'identification de leurs agonistes naturels et physiologiquement significatifs.

Nous avons collaboré au cours de ma thèse avec l'équipe de J. Golebiowski, qui effectue des modélisations bioinformatiques des récepteurs olfactifs afin de déterminer leurs agonistes candidats (Bushdid et al., 2018). Ce travail de criblage virtuel a été effectué sur des modèles *in silico* d'Olf110 et Olf544 en utilisant la banque de données du métabolome humain HMDB (<http://www.hmdb.ca>), qui répertorie les biomolécules présentes dans les fluides biologiques tels que le sang ou le liquide céphalo-rachidien. Ces dernières pourraient activer de façon endogène ces récepteurs olfactifs au niveau cérébral. L'analyse des résultats fournis nous a permis d'établir qu'Olf110 posséderait une haute affinité pour des molécules de la famille des dérivés quinoliniques, ainsi que de celle des eicosanoïdes et des prostaglandines, impliquées dans de nombreux processus neuroinflammatoires. Olf544, lui, possède une haute affinité pour les hormones stéroïdes estrogènes ou androgènes impliquées dans la signalisation cellulaire liée à la reproduction.

Ces études de désorphanisation devront être menées *in vitro* dans un modèle cellulaire d'expression des récepteurs olfactifs, HEK293 ou Hana3a par exemple, exprimant Olf110/111 ou Olf544. Les cellules Hana3a sont de cellules HEK qui expriment des intermédiaires favorisant l'export des récepteurs olfactifs à la membrane, comme Ric8b ou RTP1, ainsi que la protéine  $G\alpha_{olf}$  (Zhuang et Matsunami, 2008). Les réponses des lignées cellulaires ainsi obtenues devraient être ensuite étudiées en quantifiant les variations des concentrations intracellulaires d'AMPC ou d'ions calcium obtenues en réponse à l'incubation des cellules à un

agoniste candidat. Ceci sera permis par l'utilisation de différents tests spectrofluorométriques tels que l'imagerie calcique ou le test luciférase.

Au cours d'expériences préliminaires d'imagerie calcique, j'ai essayé de reproduire l'activation d'Olf544, déjà documenté comme étant activé par l'acide azélaïque, au niveau de cultures cellulaires HEK293 surexprimant ce récepteur (Kang et al., 2015b) (**Figure 21 B-C**). En utilisant des concentrations d'acide azélaïque de l'ordre de 100  $\mu\text{M}$ , j'ai pu observer de longs plateaux d'élévation de la concentration de calcium au sein de ces cellules. Les analyses *in silico* ont révélé qu'Olf110 est potentiellement activé par des dérivés de la quinoline. L'un d'entre eux, l'acide quinolinique, est retrouvé à de hautes concentrations dans le cerveau au cours de la maladie d'Alzheimer (Heyes et al., 1992; Pierozan et al., 2018). Ainsi, j'ai mesuré les effets intracellulaires de l'application d'acide quinolinique sur des cellules HEK293T surexprimant Olf110. J'ai observé des augmentations rapides, sous forme de pics, de la concentration de calcium intracellulaire des cellules HEK293 en réponse à l'application de concentrations de 10 à 100  $\mu\text{M}$  d'acide quinolinique. Cependant, ces résultats pourtant prometteurs ont été nuancés par la constatation que l'acide azélaïque était capable d'activer les cellules HEK293/Olf110 de façon similaire aux cellules HEK293/Olf544. De même, l'application d'acide quinolinique induisait également des pics calciques rapides au sein des cellules HEK293/Olf544. De nouvelles expériences seront donc requises afin de déterminer de façon fiable les agonistes respectifs d'Olf110 et Olf544.

Ce verrou de l'identification d'agonistes des récepteurs olfactifs est important à lever car il est crucial d'identifier l'effet de leur activation dans un contexte particulier, comme par exemple l'inflammation, afin d'évaluer leur(s) rôle(s) précis, *in vitro* dans un premier temps puis éventuellement au sein d'un organisme.

## 2.2. Voies de signalisation

L'étude des voies de signalisation intracellulaire impliquées dans la transduction du message obtenu après activation d'Olf110/111 ou Olf544 nécessite l'utilisation d'un type cellulaire exprimant ces récepteurs de façon endogène. Au cours de ma thèse, j'ai mis en évidence que les neurones sont le type cellulaire cérébral exprimant le plus ces deux récepteurs, ainsi la mise en place de cultures de neurones murins semble représenter un excellent choix pour découvrir les voies de transduction des OLIN cérébraux. L'observation des réponses cellulaires en imagerie calcique après co-incubation avec l'agoniste du récepteur étudié et d'un bloqueur pharmacologique d'un élément potentiel de la chaîne de transduction permettra de déduire les différents acteurs de cette dernière. Par exemple, l'observation d'une abolition de la réponse du récepteur olfactif en présence de SQ22.536, bloqueur spécifique de l'AC3, permettrait de déterminer que la voie de transduction du récepteur est AMPc-dépendante. Ce procédé a été utilisé par une équipe allemande sur des cellules cancéreuses surexprimant le récepteur OR51B4 (Weber et al., 2017).

## 2.3. Fonctions cellulaires

L'identification de la voie de transduction d'un récepteur olfactif permet de donner des indices quant aux grandes fonctions cellulaires dans lesquelles il est impliqué, cependant quelques techniques permettraient cette identification *in vitro*. L'impact de l'activation du récepteur olfactif sur la prolifération et la chimiotaxie cellulaire pourrait être analysé par utilisation de sels de tétrazolium (type MTT) et de test de scratch, respectivement. De plus, l'analyse du sécrétome dans le surnageant des cultures de cellules exprimant un récepteur olfactif et exposées à un agoniste de ce récepteur pourrait révéler si ce dernier influe sur la libération de neurotransmetteurs ou de neuromodulateurs. De telles expériences permettraient alors d'émettre des hypothèses à confirmer concernant le rôle de ces récepteurs. Par ailleurs, afin

d'étudier l'impact d'un contexte pathologique sur la fonction cellulaire des récepteurs olfactifs, les mêmes expériences sont envisageables sur des cultures neuronales obtenues à partir de souris 5xFAD. De même, sur des cultures neuronales de souris sauvages, il est possible de créer un environnement imitant l'inflammation cérébrale en incluant des facteurs tels que l'interleukine-1 $\beta$  ou le TNF- $\alpha$  dans le milieu de culture. L'expression de ces récepteurs olfactifs pourrait également être abolie en utilisant les techniques d'interférence ARN ou de CRISPR-Cas9, ce qui permettra d'étudier d'éventuelles altérations du phénotype ou des fonctions cellulaires de base. Enfin, la génération de lignées de souris KO pour l'expression d'Olf110/111 ou Olf544 permettraient d'étudier d'éventuelles altérations comportementales, physiologiques, ou histologiques. Par ailleurs, nous disposons depuis peu au sein de l'équipe de lignées de souris exprimant le récepteur Olf134 de manière conjointe à celle de la GFP. L'utilisation d'un tel modèle est prometteuse vis-à-vis de la facilitation des techniques de détection immunohistochimiques et permettrait également de créer une lignée double transgénique Olf134-GFP/5xFAD ouvrant la possibilité de l'étude de l'implication pathologique éventuelle de ce récepteur. Il faudrait néanmoins au préalable étudier la cinétique d'expression du gène *Olf134* chez des souris sauvages et 5xFAD et vérifier son expression protéique au niveau cérébral, tout comme je l'ai fait pour Olf110/111 et Olf544.

Pour terminer, l'étude plus poussée et la compréhension des fonctions des différents chimiorécepteurs cérébraux d'origine rhino-laryngée et en particulier des récepteurs olfactifs/OLIN, a un grand potentiel thérapeutique. Comme nous l'avons vu, Olf110/111 et Olf544 sont exprimés au niveau protéique, sont potentiellement fonctionnels au niveau cérébral, et leur expression à ce niveau est altérée chez les souris 5xFAD. De plus, l'observation de leur expression à proximité des plaques amyloïdes chez les souris 5xFAD nous a conduits à penser qu'ils pourraient être impliqués dans la maladie d'Alzheimer et plus particulièrement dans le métabolisme de la protéine précurseur du peptide amyloïde (APP). Nous avons récemment obtenu des résultats préliminaires intéressants en utilisant des cellules HEK293

et Hana3a exprimant soit Olfr110, soit Olfr544. Vingt-quatre à quarante-huit heures après transfection, les protéines ont été extraites des cellules et des western blots ont permis de révéler que ces récepteurs pourraient posséder un rôle favorisant la voie non-amyloïdogénique de clivage de l'APP. Ce processus semble, de plus, indépendant de leur activation et pourrait faire appel à des événements similaires à ceux décrits pour le récepteur 5HT<sub>4</sub> (Cochet et al., 2013). En effet, les cellules exprimant ces récepteurs olfactifs contenaient plus de CTF- $\alpha$ , produit du clivage non-amyloïdogénique de la protéine précurseur du peptide amyloïde.

Enfin, en termes de nombre de gènes, les récepteurs olfactifs représentent à eux seuls la moitié des RCPG humains (396 sur ~800). Environ 34% des médicaments déjà sur le marché modulent l'activité de membres de cette superfamille et ils représentent les cibles médicamenteuses les plus étudiées, principalement en raison de leurs implications importantes dans la physiopathologie humaine. Le nombre d'inhibiteurs, de modulateurs allostériques et d'agonistes biaisés des RCPG ne fait qu'augmenter, leurs principales indications concernant le diabète, la maladie d'Alzheimer et différents autres troubles du fonctionnement du système nerveux central (Hauser et al., 2017). La modulation pharmacologique de l'activité des récepteurs olfactifs cérébraux, au vu de leurs implications physiopathologiques probables, est une piste thérapeutique extrêmement prometteuse. Toutefois, elle demeure encore plutôt lointaine du fait de la méconnaissance de leurs fonctions. Cette perspective encourage cependant la nécessité de multiplier les études qui permettront leur caractérisation extensive.

## Annexes

### 1. Liste des publications

- **Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice**  
**Fanny Gaudel**, Delphine Stephan, Véréna Landel, Gilles Sicard, François Féron, Gaëlle Guiraudie-Capraz  
**Molecular Neurobiology, 2018**
- **The Brain Smells and Tastes the Self : Lessons from the Allen Brain Atlas**  
**Fanny Gaudel**, Anita Vergez, Gaëlle Guiraudie-Capraz, François Féron  
Soumis à **Scientific Reports**
- **Chemoreceptors in the brain and putative cerebral functions**  
**Fanny Gaudel**, François Féron, Gaëlle Guiraudie-Capraz  
Revue en préparation

### 2. Liste des communications scientifiques

- **Welcome Day – 14 janvier 2016 – PhD program, Marseille**  
Présentation orale : Vieillissement cérébral et maladie d'Alzheimer: rôle(s) potentiel(s) des récepteurs cérébraux aux odeurs
- **Réunion annuelle du groupement de recherche O3 (odorant-odeur-olfaction) – du 6 au 7 octobre 2016 – GdR O3, Lyon – 2<sup>ème</sup> prix de présentation**  
Présentation orale : Vieillissement cérébral et maladie d'Alzheimer: rôle(s) potentiel(s) des récepteurs cérébraux aux odeurs
- **PhD day – 18 novembre 2016 – PhD program, Marseille**  
Présentation orale : Vieillissement cérébral et maladie d'Alzheimer: rôle(s) potentiel(s) des récepteurs cérébraux aux odeurs
- **NeuroFrance 2017 – International Meeting – du 17 au 19 mai 2017 – Société française des Neurosciences, Bordeaux**  
Poster: What do Olfactory Receptors do in the brain?  
**Fanny Gaudel**, Gilles Sicard, François Féron, Gaëlle Guiraudie-Capraz
- **25th Meeting of Doctoral School (1er juin 2017) – Campus de Luminy, Marseille**  
Poster: What do Olfactory Receptors do in the brain?  
**Fanny Gaudel**, Gilles Sicard, François Féron, Gaëlle Guiraudie-Capraz

## **Bibliographie**

- Ache, B.W. (2010). Odorant-Specific Modes of Signaling in Mammalian Olfaction. *Chem. Senses* 35, 533–539.
- Adams, D.R., and McFarland, L.Z. (1971). Septal olfactory organ in *Peromyscus*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 40, 971–974.
- Adipietro, K.A., Mainland, J.D., and Matsunami, H. (2012). Functional Evolution of Mammalian Odorant Receptors. *PLoS Genet.* 8, e1002821.
- Adler, E., Hoon, M.A., Mueller, K.L., Chandrashekar, J., Ryba, N.J., and Zuker, C.S. (2000). A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 100, 693–702.
- Aisenberg, W.H., Huang, J., Zhu, W., Rajkumar, P., Cruz, R., Santhanam, L., Natarajan, N., Yong, H.M., De Santiago, B., Oh, J.J., et al. (2016). Defining an olfactory receptor function in airway smooth muscle cells. *Sci. Rep.* 6.
- Akiba, Y., Watanabe, C., Mizumori, M., and Kaunitz, J.D. (2009). Luminal L-glutamate enhances duodenal mucosal defense mechanisms via multiple glutamate receptors in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 297, G781-791.
- Amadou, C., Younger, R.M., Sims, S., Matthews, L.H., Rogers, J., Kumánovics, A., Ziegler, A., Beck, S., and Fischer Lindahl, K. (2003). Co-duplication of olfactory receptor and MHC class I genes in the mouse major histocompatibility complex. *Hum. Mol. Genet.* 12, 3025–3040.
- Ansoleaga, B., Garcia-Esparcia, P., Llorens, F., Moreno, J., Aso, E., and Ferrer, I. (2013). Dysregulation of brain olfactory and taste receptors in AD, PSP and CJD, and AD-related model. *Neuroscience* 248, 369–382.
- Ansoleaga, B., Garcia-Esparcia, P., Pinacho, R., Haro, J.M., Ramos, B., and Ferrer, I. (2015). Decrease in olfactory and taste receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex in chronic schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* 60, 109–116.
- Antinucci, M., and Risso, D. (2017). A Matter of Taste: Lineage-Specific Loss of Function of Taste Receptor Genes in Vertebrates. *Front. Mol. Biosci.* 4, 81.
- Antunes, M.B., and Cohen, N.A. (2007). Mucociliary clearance—a critical upper airway host defense mechanism and methods of assessment. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 7, 5–10.
- Asai, H., Kasai, H., Matsuda, Y., Yamazaki, N., Nagawa, F., Sakano, H., and Tsuboi, A. (1996). Genomic Structure and Transcription of a Murine Odorant Receptor Gene: Differential Initiation of Transcription in the Olfactory and Testicular Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 221, 240–247.
- Ashida, S., Nakagawa, H., Katagiri, T., Furihata, M., Iizumi, M., Anazawa, Y., Tsunoda, T., Takata, R., Kasahara, K., Miki, T., et al. (2004). Molecular features of the transition from prostatic

- intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene-expression profiles of prostate cancers and PINs. *Cancer Res.* 64, 5963–5972.
- Avenet, P., and Lindemann, B. (1991). Noninvasive recording of receptor cell action potentials and sustained currents from single taste buds maintained in the tongue: the response to mucosal NaCl and amiloride. *J. Membr. Biol.* 124, 33–41.
- Babusyte, A., Kotthoff, M., Fiedler, J., and Krautwurst, D. (2013). Biogenic amines activate blood leukocytes via trace amine-associated receptors TAAR1 and TAAR2. *J. Leukoc. Biol.* 93, 387–394.
- Bakalyar, H., and Reed, R. (1990). Identification of a specialized adenylyl cyclase that may mediate odorant detection. *Science* 250, 1403–1406.
- Barnea, G. (2004). Odorant Receptors on Axon Termini in the Brain. *Science* 304, 1468–1468.
- Bartel, D.L., Sullivan, S.L., Lavoie, E.G., Sévigny, J., and Finger, T.E. (2006). Nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2 is the ecto-ATPase of type I cells in taste buds. *J. Comp. Neurol.* 497, 1–12.
- Baum, M.J. (2012). Contribution of pheromones processed by the main olfactory system to mate recognition in female mammals. *Front. Neuroanat.* 6, 20.
- Becker, E.L., Forouhar, F.A., Grunnet, M.L., Boulay, F., Tardif, M., Bormann, B.J., Sodja, D., Ye, R.D., Woska, J.R., and Murphy, P.M. (1998). Broad immunocytochemical localization of the formylpeptide receptor in human organs, tissues, and cells. *Cell Tissue Res.* 292, 129–135.
- Beites, C.L., Kawauchi, S., Crocker, C.E., and Calof, A.L. (2005). Identification and molecular regulation of neural stem cells in the olfactory epithelium. *Exp. Cell Res.* 306, 309–316.
- Belloir, C., Miller-Leseigneur, M.-L., Neiers, F., Briand, L., and Le Bon, A.-M. (2017). Biophysical and functional characterization of the human olfactory receptor OR1A1 expressed in a mammalian inducible cell line. *Protein Expr. Purif.* 129, 31–43.
- Belluscio, L., Gold, G.H., Nemes, A., and Axel, R. (1998). Mice Deficient in Golf Are Anosmic. *Neuron* 20, 69–81.
- Belluscio, L., Koentges, G., Axel, R., and Dulac, C. (1999). A map of pheromone receptor activation in the mammalian brain. *Cell* 97, 209–220.
- Ben-Arie, N., Lancet, D., Taylor, C., Khen, M., Walker, N., Ledbetter, D.H., Carrozzo, R., Patel, K., Sheer, D., and Lehrach, H. (1994). Olfactory receptor gene cluster on human chromosome 17: possible duplication of an ancestral receptor repertoire. *Hum. Mol. Genet.* 3, 229–235.
- Benford, H., Bolborea, M., Pollatzek, E., Lossow, K., Hermans-Borgmeyer, I., Liu, B., Meyerhof, W., Kasparov, S., and Dale, N. (2017). A sweet taste receptor-dependent mechanism of glucosensing in hypothalamic tanycytes. *Glia* 65, 773–789.

- Bezençon, C., le Coutre, J., and Damak, S. (2007). Taste-signaling proteins are coexpressed in solitary intestinal epithelial cells. *Chem. Senses* 32, 41–49.
- Bhatnagar, K.P., and Smith, T.D. (2001). The human vomeronasal organ. III. Postnatal development from infancy to the ninth decade. *J. Anat.* 199, 289–302.
- Bignetti, E., Tirindelli, R., Rossi, G.L., Bolognesi, M., Coda, A., and Gatti, G. (1985). Crystallization of an odorant-binding protein from cow nasal mucosa. *J. Mol. Biol.* 186, 211–212.
- Boer, J.C., Domanska, U.M., Timmer-Bosscha, H., Boer, I.G.J., de Haas, C.J.C., Joseph, J.V., Kruyt, F. a. E., de Vries, E.G.E., den Dunnen, W.F.A., van Strijp, J. a. G., et al. (2013). Inhibition of formyl peptide receptor in high-grade astrocytoma by Chemotaxis Inhibitory Protein of *S. aureus*. *Br. J. Cancer* 108, 587–596.
- Bojsen-Moller, F. (1975). Demonstration of terminalis, olfactory, trigeminal and perivascular nerves in the rat nasal septum. *J. Comp. Neurol.* 159, 245–256.
- Borowsky, B., Adham, N., Jones, K.A., Raddatz, R., Artymyshyn, R., Ogozalek, K.L., Durkin, M.M., Lakhani, P.P., Bonini, J.A., Pathirana, S., et al. (2001). Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 8966–8971.
- Boschat, C., Pélofi, C., Randin, O., Roppolo, D., Lüscher, C., Broillet, M.-C., and Rodriguez, I. (2002). Pheromone detection mediated by a V1r vomeronasal receptor. *Nat. Neurosci.* 5, 1261–1262.
- Bozza, T., Feinstein, P., Zheng, C., and Mombaerts, P. (2002). Odorant Receptor Expression Defines Functional Units in the Mouse Olfactory System. *J. Neurosci.* 22, 3033–3043.
- Braak, H., and Braak, E. (1991). Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., de Vos, R.A.I., Jansen Steur, E.N.H., and Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging* 24, 197–211.
- Bradford, E.M. (2016). Differential expression of pancreatic protein and chemosensing receptor mRNAs in NKCC1-null intestine. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 7, 138.
- Braun, T., Voland, P., Kunz, L., Prinz, C., and Gratzl, M. (2007). Enterochromaffin Cells of the Human Gut: Sensors for Spices and Odorants. *Gastroenterology* 132, 1890–1901.
- Brechbühl, J., Klaey, M., and Broillet, M.-C. (2008). Grueneberg ganglion cells mediate alarm pheromone detection in mice. *Science* 321, 1092–1095.
- Breer, H., Fleischer, J., and Strotmann, J. (2006). The sense of smell: multiple olfactory subsystems. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 63, 1465–1475.
- Brennan, P.A., and Zufall, F. (2006). Pheromonal communication in vertebrates. *Nature* 444, 308–315.

- Briand, L., Trotier, D., and Pernollet, J.-C. (2004). Aphrodisin, an aphrodisiac lipocalin secreted in hamster vaginal secretions. *Peptides* 25, 1545–1552.
- Buck, L.B. (1996). Information coding in the vertebrate olfactory system. *Annu. Rev. Neurosci.* 19, 517–544.
- Buck, L., and Axel, R. (1991). A Novel Multigene Family May Encode Odorant Receptors: A Molecular Basis for Odor Recognition. 13.
- Buck, L.B., and Bargmann, C. (2000). Smell and taste: The chemical senses. In *Principles of Neural Science*, Kandel, p.
- Bufe, B., Schumann, T., and Zufall, F. (2012). Formyl peptide receptors from immune and vomeronasal system exhibit distinct agonist properties. *J. Biol. Chem.* 287, 33644–33655.
- Bushdid, C., de March, C.A., Fiorucci, S., Matsunami, H., and Golebiowski, J. (2018). Agonists of G-Protein-Coupled Odorant Receptors Are Predicted from Chemical Features. *J. Phys. Chem. Lett.* 9, 2235–2240.
- Busse, D., Kudella, P., Grüning, N.-M., Gisselmann, G., Ständer, S., Luger, T., Jacobsen, F., Steinsträsser, L., Paus, R., Gkogkolou, P., et al. (2014). A Synthetic Sandalwood Odorant Induces Wound-Healing Processes in Human Keratinocytes via the Olfactory Receptor OR2AT4. *J. Invest. Dermatol.* 134, 2823–2832.
- Cao, Q., Martinez, M., Zhang, J., Sanders, A.R., Badner, J.A., Cravchik, A., Markey, C.J., Beshah, E., Guroff, J.J., Maxwell, M.E., et al. (1997). Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics* 43, 1–8.
- Cattaneo, F., Guerra, G., Parisi, M., Lucariello, A., De Luca, A., De Rosa, N., Mazzarella, G., Bianco, A., and Ammendola, R. (2015). Expression of Formyl-peptide Receptors in Human Lung Carcinoma. *Anticancer Res.* 35, 2769–2774.
- Chamero, P., Marton, T.F., Logan, D.W., Flanagan, K., Cruz, J.R., Saghatelian, A., Cravatt, B.F., and Stowers, L. (2007). Identification of protein pheromones that promote aggressive behaviour. *Nature* 450, 899–902.
- Chan, P., Gabay, M., Wright, F.A., Kan, W., Oner, S.S., Lanier, S.M., Smrcka, A.V., Blumer, J.B., and Tall, G.G. (2011). Purification of heterotrimeric G protein alpha subunits by GST-Ric-8 association: primary characterization of purified G alpha(olf). *J. Biol. Chem.* 286, 2625–2635.
- Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Ryba, N.J.P., and Zuker, C.S. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 444, 288–294.
- Chandrashekar, J., Kuhn, C., Oka, Y., Yarmolinsky, D.A., Hummler, E., Ryba, N.J.P., and Zuker, C.S. (2010). The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature* 464, 297–301.

- Chang, A.J., Ortega, F.E., Riegler, J., Madison, D.V., and Krasnow, M.A. (2015). Oxygen regulation of breathing through an olfactory receptor activated by lactate. *Nature* 527, 240–244.
- Chaudhari, N., and Roper, S.D. (2010). The cell biology of taste. *J. Cell Biol.* 190, 285–296.
- Chaudhari, N., Landin, A.M., and Roper, S.D. (2000). A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat. Neurosci.* 3, 113–119.
- Cheetham, S.A., Thom, M.D., Jury, F., Ollier, W.E.R., Beynon, R.J., and Hurst, J.L. (2007). The genetic basis of individual-recognition signals in the mouse. *Curr. Biol. CB* 17, 1771–1777.
- Chen, C., Kachramanoglou, C., Li, D., Andrews, P., and Choi, D. (2014). Anatomy and Cellular Constituents of the Human Olfactory Mucosa: A Review. *J. Neurol. Surg. Part B Skull Base* 75, 293–300.
- Chen, J.-G., Ping, N.-N., Liang, D., Li, M.-Y., Mi, Y.-N., Li, S., Cao, L., Cai, Y., and Cao, Y.-X. (2017). The expression of bitter taste receptors in mesenteric, cerebral and omental arteries. *Life Sci.* 170, 16–24.
- Chen, M.C., Wu, S.V., Reeve, J.R., and Rozengurt, E. (2006). Bitter stimuli induce Ca<sup>2+</sup> signaling and CCK release in enteroendocrine STC-1 cells: role of L-type voltage-sensitive Ca<sup>2+</sup> channels. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 291, C726-739.
- Chen, X., Xia, Z., and Storm, D.R. (2012). Stimulation of electro-olfactogram responses in the main olfactory epithelia by airflow depends on the type 3 adenylyl cyclase. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 15769–15778.
- Chen, Y., Sun, X.D., and Herness, S. (1996). Characteristics of action potentials and their underlying outward currents in rat taste receptor cells. *J. Neurophysiol.* 75, 820–831.
- Cheng, T.-Y., Wu, M.-S., Lin, J.-T., Lin, M.-T., Shun, C.-T., Hua, K.-T., and Kuo, M.-L. (2014). Formyl Peptide receptor 1 expression is associated with tumor progression and survival in gastric cancer. *Anticancer Res.* 34, 2223–2229.
- Chéret, J., Bertolini, M., Ponce, L., Lehmann, J., Tsai, T., Alam, M., Hatt, H., and Paus, R. (2018). Olfactory receptor OR2AT4 regulates human hair growth. *Nat. Commun.* 9.
- Chiellini, G., Frascarelli, S., Ghelardoni, S., Carnicelli, V., Tobias, S.C., DeBarber, A., Brogioni, S., Ronca-Testoni, S., Cerbai, E., Grandy, D.K., et al. (2007). Cardiac effects of 3-iodothyronamine: a new aminergic system modulating cardiac function. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 21, 1597–1608.
- Chiellini, G., Erba, P., Carnicelli, V., Manfredi, C., Frascarelli, S., Ghelardoni, S., Mariani, G., and Zucchi, R. (2012). Distribution of exogenous [125I]-3-iodothyronamine in mouse in vivo: relationship with trace amine-associated receptors. *J. Endocrinol.* 213, 223–230.

Christian, S.L., and Berry, M.D. (2018). Trace Amine-Associated Receptors as Novel Therapeutic Targets for Immunomodulatory Disorders. *Front. Pharmacol.* 9, 680.

Cisneros, I.E., and Ghorpade, A. (2014). Methamphetamine and HIV-1-induced neurotoxicity: role of trace amine associated receptor 1 cAMP signaling in astrocytes. *Neuropharmacology* 85, 499–507.

Clapp, T.R., Yang, R., Stoick, C.L., Kinnamon, S.C., and Kinnamon, J.C. (2004). Morphologic characterization of rat taste receptor cells that express components of the phospholipase C signaling pathway. *J. Comp. Neurol.* 468, 311–321.

Cochet, M., Donneger, R., Cassier, E., Gaven, F., Lichtenthaler, S.F., Marin, P., Bockaert, J., Dumuis, A., and Claeysen, S. (2013). 5-HT<sub>4</sub> receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and interact with ADAM10. *ACS Chem. Neurosci.* 4, 130–140.

Colombo, M., Trevisi, P., Gandolfi, G., and Bosi, P. (2012). Assessment of the presence of chemosensing receptors based on bitter and fat taste in the gastrointestinal tract of young pig. *J. Anim. Sci.* 90 *Suppl* 4, 128–130.

Colpaert, F.C., and Wiepkema, P.R. (1976). Effects of ventromedial hypothalamic lesions on spontaneous intraspecies aggression in male rats. *Behav. Biol.* 16, 117–125.

Conzelmann, S., Levai, O., Bode, B., Eisel, U., Raming, K., Breer, H., and Strotmann, J. (2000). A novel brain receptor is expressed in a distinct population of olfactory sensory neurons: A brain GPCR expressed in olfactory neurons. *Eur. J. Neurosci.* 12, 3926–3934.

Corvol, J.C., Studler, J.M., Schonn, J.S., Girault, J.A., and Hervé, D. (2001). G $\alpha$ olf is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum: G $\alpha$ olf-coupled striatal adenylyl cyclase. *J. Neurochem.* 76, 1585–1588.

Cui, M., Jiang, P., Maillet, E., Max, M., Margolskee, R.F., and Osman, R. (2006). The heterodimeric sweet taste receptor has multiple potential ligand binding sites. *Curr. Pharm. Des.* 12, 4591–4600.

Cui, T., Tsolakis, A.V., Li, S.-C., Cunningham, J.L., Lind, T., Öberg, K., and Giandomenico, V. (2013). Olfactory receptor 51E1 protein as a potential novel tissue biomarker for small intestine neuroendocrine carcinomas. *Eur. J. Endocrinol.* 168, 253–261.

Cummings, T.A., Powell, J., and Kinnamon, S.C. (1993). Sweet taste transduction in hamster taste cells: evidence for the role of cyclic nucleotides. *J. Neurophysiol.* 70, 2326–2336.

Dal Monte, M., Andreini, I., Revoltella, R., and Pelosi, P. (1991). Purification and characterization of two odorant-binding proteins from nasal tissue of rabbit and pig. *Comp. Biochem. Physiol.* B 99, 445–451.

Dando, R., and Roper, S.D. (2009). Cell-to-cell communication in intact taste buds through ATP signalling from pannexin 1 gap junction hemichannels. *J. Physiol.* 587, 5899–5906.

- D'Andrea, G., Terrazzino, S., Fortin, D., Farruggio, A., Rinaldi, L., and Leon, A. (2003). HPLC electrochemical detection of trace amines in human plasma and platelets and expression of mRNA transcripts of trace amine receptors in circulating leukocytes. *Neurosci. Lett.* *346*, 89–92.
- D'Andrea, G., D'Arrigo, A., Facchinetti, F., Del Giudice, E., Colavito, D., Bernardini, D., and Leon, A. (2012). Octopamine, unlike other trace amines, inhibits responses of astroglia-enriched cultures to lipopolysaccharide via a  $\beta$ -adrenoreceptor-mediated mechanism. *Neurosci. Lett.* *517*, 36–40.
- De la Cruz, O., Blekhman, R., Zhang, X., Nicolae, D., Firestein, S., and Gilad, Y. (2009). A signature of evolutionary constraint on a subset of ectopically expressed olfactory receptor genes. *Mol. Biol. Evol.* *26*, 491–494.
- Deckmann, K., Filipski, K., Krasteva-Christ, G., Fronius, M., Althaus, M., Rafiq, A., Papadakis, T., Renno, L., Jurastow, I., Wessels, L., et al. (2014). Bitter triggers acetylcholine release from polymodal urethral chemosensory cells and bladder reflexes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *111*, 8287–8292.
- Dehkordi, O., Rose, J.E., Fatemi, M., Allard, J.S., Balan, K.V., Young, J.K., Fatima, S., Millis, R.M., and Jayam-Trouth, A. (2012). Neuronal expression of bitter taste receptors and downstream signaling molecules in the rat brainstem. *Brain Res.* *1475*, 1–10.
- Del Punta, K., Rothman, A., Rodriguez, I., and Mombaerts, P. (2000). Sequence diversity and genomic organization of vomeronasal receptor genes in the mouse. *Genome Res.* *10*, 1958–1967.
- Del Punta, K., Leinders-Zufall, T., Rodriguez, I., Jukam, D., Wysocki, C.J., Ogawa, S., Zufall, F., and Mombaerts, P. (2002). Deficient pheromone responses in mice lacking a cluster of vomeronasal receptor genes. *Nature* *419*, 70–74.
- de March, C.A., Topin, J., Bruguera, E., Novikov, G., Ikegami, K., Matsunami, H., and Golebiowski, J. (2018). Odorant Receptor 7D4 Activation Dynamics. *Angew. Chem. Int. Ed.* *57*, 4554–4558.
- Deshpande, D.A., Wang, W.C.H., McIlmoyle, E.L., Robinett, K.S., Schillinger, R.M., An, S.S., Sham, J.S.K., and Liggett, S.B. (2010). Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat. Med.* *16*, 1299–1304.
- Desimone, J.A., Ren, Z., Phan, T.-H.T., Heck, G.L., Mummalaneni, S., and Lyall, V. (2012). Changes in taste receptor cell  $[Ca^{2+}]_i$  modulate chorda tympani responses to salty and sour taste stimuli. *J. Neurophysiol.* *108*, 3206–3220.
- Di Pizio, A., Levit, A., Slutzki, M., Behrens, M., Karaman, R., and Niv, M.Y. (2016). Comparing Class A GPCRs to bitter taste receptors: Structural motifs, ligand interactions and agonist-to-antagonist ratios. *Methods Cell Biol.* *132*, 401–427.

- Dinter, J., Mühlhaus, J., Wienchol, C.L., Yi, C.-X., Nürnberg, D., Morin, S., Grüters, A., Köhrle, J., Schöneberg, T., Tschöp, M., et al. (2015). Inverse agonistic action of 3-iodothyronamine at the human trace amine-associated receptor 5. *PLoS One* 10, e0117774.
- Doerfler, H., Hummel, T., Klimek, L., and Kobal, G. (2006). Intranasal trigeminal sensitivity in subjects with allergic rhinitis. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngol. Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngol. Soc. EUFOS Affil. Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngol. - Head Neck Surg.* 263, 86–90.
- Dong, D., Jin, K., Wu, X., and Zhong, Y. (2012). CRDB: Database of Chemosensory Receptor Gene Families in Vertebrate. *PLoS ONE* 7, e31540.
- Dotson, C.D., Zhang, L., Xu, H., Shin, Y.-K., Vignes, S., Ott, S.H., Elson, A.E.T., Choi, H.J., Shaw, H., Egan, J.M., et al. (2008). Bitter taste receptors influence glucose homeostasis. *PLoS One* 3, e3974.
- Doty, R.L. (2003). *Handbook of olfaction and gustation* (New York: Marcel Dekker).
- Doty, R.L., Brugger, W.E., Jurs, P.C., Orndorff, M.A., Snyder, P.J., and Lowry, L.D. (1978). Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol. Behav.* 20, 175–185.
- Døving, K.B., and Trotier, D. (1998). Structure and function of the vomeronasal organ. *J. Exp. Biol.* 201, 2913–2925.
- Dreyer, W.J. (1998). The area code hypothesis revisited: Olfactory receptors and other related transmembrane receptors may function as the last digits in a cell surface code for assembling embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 9072–9077.
- Drutel, G., Arrang, J.M., Diaz, J., Wisniewsky, C., Schwartz, K., and Schwartz, J.C. (1995). Cloning of OL1, a putative olfactory receptor and its expression in the developing rat heart. *Receptors Channels* 3, 33–40.
- Duan, J., Martinez, M., Sanders, A.R., Hou, C., Saitou, N., Kitano, T., Mowry, B.J., Crowe, R.R., Silverman, J.M., Levinson, D.F., et al. (2004). Polymorphisms in the trace amine receptor 4 (TRAR4) gene on chromosome 6q23.2 are associated with susceptibility to schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet.* 75, 624–638.
- Dulac, C., and Axel, R. (1995). A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell* 83, 195–206.
- Dulac, C., and Torello, A.T. (2003). Molecular detection of pheromone signals in mammals: from genes to behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 551–562.
- Dulac, C., and Wagner, S. (2006). Genetic analysis of brain circuits underlying pheromone signaling. *Annu. Rev. Genet.* 40, 449–467.

- Durzyński, Ł., Gaudin, J.-C., Myga, M., Szydłowski, J., Goździcka-Józefiak, A., and Haertlé, T. (2005). Olfactory-like receptor cDNAs are present in human lingual cDNA libraries. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 333, 264–272.
- Dvoryanchikov, G., Sinclair, M.S., Perea-Martinez, I., Wang, T., and Chaudhari, N. (2009). Inward rectifier channel, ROMK, is localized to the apical tips of glial-like cells in mouse taste buds. *J. Comp. Neurol.* 517, 1–14.
- Dyer, J., Salmon, K.S.H., Zibrik, L., and Shirazi-Beechey, S.P. (2005). Expression of sweet taste receptors of the T1R family in the intestinal tract and enteroendocrine cells. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 302–305.
- Eaton, M.S., Weinstein, N., Newby, J.B., Plattes, M.M., Foster, H.E., Arthur, J.W., Ward, T.D., Shively, S.R., Shor, R., Nathan, J., et al. (2018). Loss of the nutrient sensor TAS1R3 leads to reduced bone resorption. *J. Physiol. Biochem.* 74, 3–8.
- Elliott, R.A., Kapoor, S., and Tincello, D.G. (2011). Expression and distribution of the sweet taste receptor isoforms T1R2 and T1R3 in human and rat bladders. *J. Urol.* 186, 2455–2462.
- Elsaesser, R., Montani, G., Tirindelli, R., and Paysan, J. (2005). Phosphatidyl-inositide signalling proteins in a novel class of sensory cells in the mammalian olfactory epithelium. *Eur. J. Neurosci.* 21, 2692–2700.
- Emery, D.E., and Sachs, B.D. (1976). Copulatory behavior in male rats with lesions in the bed nucleus of the stria terminalis. *Physiol. Behav.* 17, 803–806.
- Erb, S., and Stewart, J. (1999). A role for the bed nucleus of the stria terminalis, but not the amygdala, in the effects of corticotropin-releasing factor on stress-induced reinstatement of cocaine seeking. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 19, RC35.
- Farbman, A.I. (1980). Renewal of taste bud cells in rat circumvallate papillae. *Cell Tissue Kinet.* 13, 349–357.
- Fehr, J., Meyer, D., Widmayer, P., Borth, H.C., Ackermann, F., Wilhelm, B., Gudermann, T., and Boekhoff, I. (2007). Expression of the G-protein alpha-subunit gustducin in mammalian spermatozoa. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* 193, 21–34.
- Feingold, E.A., Penny, L.A., Nienhuis, A.W., and Forget, B.G. (1999). An olfactory receptor gene is located in the extended human beta-globin gene cluster and is expressed in erythroid cells. *Genomics* 61, 15–23.
- Feldmesser, E., Olender, T., Khen, M., Yanai, I., Ophir, R., and Lancet, D. (2006). Widespread ectopic expression of olfactory receptor genes. *BMC Genomics* 18.
- Ferkey, D.M., Hyde, R., Haspel, G., Dionne, H.M., Hess, H.A., Suzuki, H., Schafer, W.R., Koelle, M.R., and Hart, A.C. (2007). *C. elegans* G protein regulator RGS-3 controls sensitivity to sensory stimuli. *Neuron* 53, 39–52.

- Féron, F., Perry, C., Girard, S.D., and Mackay-Sim, A. (2013). Isolation of adult stem cells from the human olfactory mucosa. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 1059, 107–114.
- Ferrer, I. (2012). Defining Alzheimer as a common age-related neurodegenerative process not inevitably leading to dementia. *Prog. Neurobiol.* 97, 38–51.
- Ferrer, I., Garcia-Esparcia, P., Carmona, M., Carro, E., Aronica, E., Kovacs, G.G., Grison, A., and Gustincich, S. (2016). Olfactory Receptors in Non-Chemosensory Organs: The Nervous System in Health and Disease. *Front. Aging Neurosci.* 8.
- Ferrero, D.M., Lemon, J.K., Fluegge, D., Pashkovski, S.L., Korzan, W.J., Datta, S.R., Spehr, M., Fendt, M., and Liberles, S.D. (2011). Detection and avoidance of a carnivore odor by prey. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 11235–11240.
- Ferrero, D.M., Wacker, D., Roque, M.A., Baldwin, M.W., Stevens, R.C., and Liberles, S.D. (2012). Agonists for 13 trace amine-associated receptors provide insight into the molecular basis of odor selectivity. *ACS Chem. Biol.* 7, 1184–1189.
- Finger, T.E., Böttger, B., Hansen, A., Anderson, K.T., Alimohammadi, H., and Silver, W.L. (2003). Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 8981–8986.
- Finger, T.E., Danilova, V., Barrows, J., Bartel, D.L., Vigers, A.J., Stone, L., Hellekant, G., and Kinnamon, S.C. (2005). ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science* 310, 1495–1499.
- Firestein, S. (2001). How the olfactory system makes sense of scents. *Nature* 413, 211–218.
- Fischer, A., Gilad, Y., Man, O., and Pääbo, S. (2005). Evolution of bitter taste receptors in humans and apes. *Mol. Biol. Evol.* 22, 432–436.
- Fischler, W., Kong, P., Marella, S., and Scott, K. (2007). The detection of carbonation by the *Drosophila* gustatory system. *Nature* 448, 1054–1057.
- Flegel, C., Manteniatis, S., Osthold, S., Hatt, H., and Gisselmann, G. (2013). Expression Profile of Ectopic Olfactory Receptors Determined by Deep Sequencing. *PLoS ONE* 8, e55368.
- Flegel, C., Schöbel, N., Altmüller, J., Becker, C., Tannapfel, A., Hatt, H., and Gisselmann, G. (2015). RNA-Seq Analysis of Human Trigeminal and Dorsal Root Ganglia with a Focus on Chemoreceptors. *PLOS ONE* 10, e0128951.
- Flegel, C., Vogel, F., Hofreuter, A., Schreiner, B.S.P., Osthold, S., Veitinger, S., Becker, C., Brockmeyer, N.H., Muschol, M., Wennemuth, G., et al. (2016). Characterization of the Olfactory Receptors Expressed in Human Spermatozoa. *Front. Mol. Biosci.* 2.
- Fleischer, J., Hass, N., Schwarzenbacher, K., Besser, S., and Breer, H. (2006). A novel population of neuronal cells expressing the olfactory marker protein (OMP) in the anterior/dorsal region of the nasal cavity. *Histochem. Cell Biol.* 125, 337–349.

- Fleischer, J., Schwarzenbacher, K., and Breer, H. (2007). Expression of trace amine-associated receptors in the Grueneberg ganglion. *Chem. Senses* 32, 623–631.
- Fleischer, J., Bumbalo, R., Bautze, V., Strotmann, J., and Breer, H. (2015). Expression of odorant receptor Olfr78 in enteroendocrine cells of the colon. *Cell Tissue Res.* 361, 697–710.
- Forte, L.R. (2004). Uroguanylin and guanylin peptides: pharmacology and experimental therapeutics. *Pharmacol. Ther.* 104, 137–162.
- Foster, S.R., Porrello, E.R., Purdue, B., Chan, H.-W., Voigt, A., Frenzel, S., Hannan, R.D., Moritz, K.M., Simmons, D.G., Molenaar, P., et al. (2013). Expression, Regulation and Putative Nutrient-Sensing Function of Taste GPCRs in the Heart. *PLoS ONE* 8, e64579.
- Francia, S., Pifferi, S., Menini, A., and Tirindelli, R. (2014). Vomeronasal Receptors and Signal Transduction in the Vomeronasal Organ of Mammals. In *Neurobiology of Chemical Communication*, C. Mucignat-Caretta, ed. (Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis), p.
- Fredriksson, R., Lagerström, M.C., Lundin, L.-G., and Schiöth, H.B. (2003). The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol. Pharmacol.* 63, 1256-1272.
- Freitag, J., Krieger, J., Strotmann, J., and Breer, H. (1995). Two classes of olfactory receptors in *xenopus laevis*. *Neuron* 15, 1383–1392.
- Freitag, J., Ludwig, G., Andreini, I., Rössler, P., and Breer, H. (1998). Olfactory receptors in aquatic and terrestrial vertebrates. *J. Comp. Physiol. [A]* 183, 635–650.
- Fukuda, N., and Touhara, K. (2005). Developmental expression patterns of testicular olfactory receptor genes during mouse spermatogenesis: Olfactory receptor expression in mouse germ cells. *Genes Cells* 11, 71–81.
- Fukuda, N., Yomogida, K., Okabe, M., and Touhara, K. (2004). Functional characterization of a mouse testicular olfactory receptor and its role in chemosensing and in regulation of sperm motility. *J. Cell Sci.* 117, 5835–5845.
- Gaida, M.M., Dapunt, U., and Hänsch, G.M. (2016a). Sensing developing biofilms: the bitter receptor T2R38 on myeloid cells. *Pathog. Dis.* 74, ftw004.
- Gaida, M.M., Mayer, C., Dapunt, U., Stegmaier, S., Schirmacher, P., Wabnitz, G.H., and Hänsch, G.M. (2016b). Expression of the bitter receptor T2R38 in pancreatic cancer: localization in lipid droplets and activation by a bacteria-derived quorum-sensing molecule. *Oncotarget* 7, 12623–12632.
- Garcia-Esparcia, P., Schlüter, A., Carmona, M., Moreno, J., Ansoleaga, B., Torrejón-Escribano, B., Gustincich, S., Pujol, A., and Ferrer, I. (2013). Functional Genomics Reveals Dysregulation of Cortical Olfactory Receptors in Parkinson Disease: Novel Putative Chemoreceptors in the Human Brain. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 72, 524–539.

- Gaudel, F., Vergez, A., Féron, F., and Guiraudie-Capraz, G. (2018a). The Brain Smells and Tastes the Self: Lesson from the Allen Brain Atlas. *Sci. Rep.* (soumis)
- Gaudel, F., Stephan, D., Landel, V., Sicard, G., Féron, F., and Guiraudie-Capraz, G. (2018b). Expression of the Cerebral Olfactory Receptors Olfr110/111 and Olfr544 Is Altered During Aging and in Alzheimer's Disease-Like Mice. *Mol. Neurobiol.*
- Gaudin, J.-C., Breuils, L., and Haertlé, T. (2001). New GPCRs from a Human Lingual cDNA Library. *Chem. Senses* 26, 1157–1166.
- Gaudin, J.-C., Breuils, L., and Haertlé, T. (2006). Mouse orthologs of human olfactory-like receptors expressed in the tongue. *Gene* 381, 42–48.
- Gelis, L., Jovancevic, N., Veitinger, S., Mandal, B., Arndt, H.-D., Neuhaus, E.M., and Hatt, H. (2016). Functional Characterization of the Odorant Receptor 51E2 in Human Melanocytes. *J. Biol. Chem.* 291, 17772–17786.
- Gerbe, F., Sidot, E., Smyth, D.J., Ohmoto, M., Matsumoto, I., Dardalhon, V., Cesses, P., Garnier, L., Pouzolles, M., Brulin, B., et al. (2016). Intestinal epithelial tuft cells initiate type 2 mucosal immunity to helminth parasites. *Nature* 529, 226–230.
- Giandomenico, V., Cui, T., Grimelius, L., Öberg, K., Pelosi, G., and Tsolakis, A.V. (2013). Olfactory receptor 51E1 as a novel target for diagnosis in somatostatin receptor-negative lung carcinoids. *J. Mol. Endocrinol.* 51, 277–286.
- Gibson, A.D., and Garbers, D.L. (2000). Guanylyl cyclases as a family of putative odorant receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 417–439.
- Giebeler, A., Streetz, K.L., Soehnlein, O., Neumann, U., Wang, J.M., and Brandenburg, L.-O. (2014). Deficiency of formyl peptide receptor 1 and 2 is associated with increased inflammation and enhanced liver injury after LPS-stimulation. *PloS One* 9, e100522.
- Gilbertson, T.A., Avenet, P., Kinnamon, S.C., and Roper, S.D. (1992). Proton currents through amiloride-sensitive Na channels in hamster taste cells. Role in acid transduction. *J. Gen. Physiol.* 100, 803–824.
- Glusman, G., Bahar, A., Sharon, D., Pilpel, Y., White, J., and Lancet, D. (2000). The olfactory receptor gene superfamily: data mining, classification, and nomenclature. *Mamm. Genome* 11, 1016–1023.
- Go, Y., Satta, Y., Takenaka, O., and Takahata, N. (2005). Lineage-specific loss of function of bitter taste receptor genes in humans and nonhuman primates. *Genetics* 170, 313–326.
- Gonçalves, I., Hubbard, P.C., Tomás, J., Quintela, T., Tavares, G., Caria, S., Barreiros, D., and Santos, C.R.A. (2016). 'Smelling' the cerebrospinal fluid: olfactory signaling molecules are expressed in and mediate chemosensory signaling from the choroid plexus. *FEBS J.* 283, 1748–1766.

- Gong, L., Chen, Q., Gu, X., and Li, S. (2015). Expression and identification of olfactory receptors in sciatic nerve and dorsal root ganglia of rats. *Neurosci. Lett.* *600*, 171–175.
- Goto, T. (2001). Expression of a testis-specific member of the olfactory receptor gene family in human primordial germ cells. *Mol. Hum. Reprod.* *7*, 553–558.
- Goy, R.W., and Phoenix, C.H. (1963). Hypothalamic regulation of female sexual behaviour; establishment of behavioural oestrus in spayed guinea-pigs following hypothalamic lesions. *J. Reprod. Fertil.* *5*, 23–40.
- Gozal, E.A., O'Neill, B.E., Sawchuk, M.A., Zhu, H., Halder, M., Chou, C.-C., and Hochman, S. (2014). Anatomical and functional evidence for trace amines as unique modulators of locomotor function in the mammalian spinal cord. *Front. Neural Circuits* *8*, 134.
- Griffin, C.A., Kafadar, K.A., and Pavlath, G.K. (2009). MOR23 Promotes Muscle Regeneration and Regulates Cell Adhesion and Migration. *Dev. Cell* *17*, 649–661.
- Grison, A., Zucchelli, S., Urzì, A., Zamparo, I., Lazarevic, D., Pascarella, G., Roncaglia, P., Giorgetti, A., Garcia-Esparcia, P., Vlachouli, C., et al. (2014). Mesencephalic dopaminergic neurons express a repertoire of olfactory receptors and respond to odorant-like molecules. *BMC Genomics* *15*, 729.
- Grosmaître, X., Santarelli, L.C., Tan, J., Luo, M., and Ma, M. (2007). Dual functions of mammalian olfactory sensory neurons as odor detectors and mechanical sensors. *Nat. Neurosci.* *10*, 348–354.
- Grüneberg, H. (1973). A ganglion probably belonging to the N. terminalis system in the nasal mucosa of the mouse. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* *140*, 39–52.
- Grus, W.E., and Zhang, J. (2008). Distinct evolutionary patterns between chemoreceptors of 2 vertebrate olfactory systems and the differential tuning hypothesis. *Mol. Biol. Evol.* *25*, 1593–1601.
- Grus, W.E., Shi, P., and Zhang, J. (2007). Largest vertebrate vomeronasal type 1 receptor gene repertoire in the semiaquatic platypus. *Mol. Biol. Evol.* *24*, 2153–2157.
- Gu, X., Karp, P.H., Brody, S.L., Pierce, R.A., Welsh, M.J., Holtzman, M.J., and Ben-Shahar, Y. (2014). Chemosensory Functions for Pulmonary Neuroendocrine Cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* *50*, 637–646.
- Guiraudie, G., Pageat, P., Cain, A.-H., Madec, I., and Nagnan-Le Meillour, P. (2003). Functional characterization of olfactory binding proteins for appeasing compounds and molecular cloning in the vomeronasal organ of pre-pubertal pigs. *Chem. Senses* *28*, 609–619.
- Guo, X., Yang, Z., Zhi, Q., Wang, D., Guo, L., Li, G., Miao, R., Shi, Y., and Kuang, Y. (2016). Long noncoding RNA OR3A4 promotes metastasis and tumorigenicity in gastric cancer. *Oncotarget* *7*.

- Guo, Z., Zine, N., Lagarde, F., Daligault, J., Persuy, M.-A., Pajot-Augy, E., Zhang, A., and Jaffrezic-Renault, N. (2015). A novel platform based on immobilized histidine tagged olfactory receptors, for the amperometric detection of an odorant molecule characteristic of boar taint. *Food Chem.* 184, 1–6.
- Haga, S., Hattori, T., Sato, T., Sato, K., Matsuda, S., Kobayakawa, R., Sakano, H., Yoshihara, Y., Kikusui, T., and Touhara, K. (2010). The male mouse pheromone ESP1 enhances female sexual receptive behaviour through a specific vomeronasal receptor. *Nature* 466, 118–122.
- Hass, N., Schwarzenbacher, K., and Breer, H. (2010). T1R3 is expressed in brush cells and ghrelin-producing cells of murine stomach. *Cell Tissue Res.* 339, 493–504.
- Hauser, A.S., Attwood, M.M., Rask-Andersen, M., Schiöth, H.B., and Gloriam, D.E. (2017). Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 16, 829–842.
- Hayden, S., Bekaert, M., Crider, T.A., Mariani, S., Murphy, W.J., and Teeling, E.C. (2010). Ecological adaptation determines functional mammalian olfactory subgenomes. *Genome Res.* 20, 1–9.
- Heck, G.L., Mierson, S., and DeSimone, J.A. (1984). Salt taste transduction occurs through an amiloride-sensitive sodium transport pathway. *Science* 223, 403–405.
- Henquin, J.-C. (2012). Do pancreatic  $\beta$  cells “taste” nutrients to secrete insulin? *Sci. Signal.* 5, pe36.
- Herness, S., Zhao, F.-L., Kaya, N., Shen, T., Lu, S.-G., and Cao, Y. (2005). Communication routes within the taste bud by neurotransmitters and neuropeptides. *Chem. Senses* 30 *Suppl* 1, i37–38.
- Herve, D., Moine, C.L., Corvol, J.-C., Belluscio, L., Ledent, C., Fienberg, A.A., Jaber, M., Studler, J.-M., and Girault, J.-A. (2001). Golf Levels Are Regulated by Receptor Usage and Control Dopamine and Adenosine Action in the Striatum. 10.
- Heyes, M.P., Saito, K., Crowley, J.S., Davis, L.E., Demitrack, M.A., Der, M., Dilling, L.A., Elia, J., Kruesi, M.J., and Lackner, A. (1992). Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain J. Neurol.* 115 ( Pt 5), 1249–1273.
- Ho, C.F.-Y., Ismail, N.B., Koh, J.K.-Z., Gunaseelan, S., Low, Y.-H., Ng, Y.-K., Chua, J.J.-E., and Ong, W.-Y. (2018). Localisation of Formyl-Peptide Receptor 2 in the Rat Central Nervous System and Its Role in Axonal and Dendritic Outgrowth. *Neurochem. Res.* 43, 1587–1598.
- Höfer, D., Püschel, B., and Drenckhahn, D. (1996). Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of alpha-gustducin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 6631–6634.
- Hohenbrink, P., Mundy, N.I., Zimmermann, E., and Radespiel, U. (2013). First evidence for functional vomeronasal 2 receptor genes in primates. *Biol. Lett.* 9, 20121006.

- Horio, N., Yoshida, R., Yasumatsu, K., Yanagawa, Y., Ishimaru, Y., Matsunami, H., and Ninomiya, Y. (2011). Sour taste responses in mice lacking PKD channels. *PLoS One* 6, e20007.
- Hu, J., Zhong, C., Ding, C., Chi, Q., Walz, A., Mombaerts, P., Matsunami, H., and Luo, M. (2007). Detection of near-atmospheric concentrations of CO<sub>2</sub> by an olfactory subsystem in the mouse. *Science* 317, 953–957.
- Hu, X., Yang, L., and Mo, Y.-Y. (2018). Role of Pseudogenes in Tumorigenesis. *Cancers* 10.
- Huang, Y.A., and Roper, S.D. (2010). Intracellular Ca<sup>2+</sup> and TRPM5-mediated membrane depolarization produce ATP secretion from taste receptor cells. *J. Physiol.* 588, 2343–2350.
- Huang, A.L., Chen, X., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Guo, W., Tränkner, D., Ryba, N.J.P., and Zuker, C.S. (2006). The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 442, 934–938.
- Huang, J., Chen, K., Chen, J., Gong, W., Dunlop, N.M., Howard, O.M.Z., Gao, Y., Bian, X.-., and Wang, J.M. (2010). The G-protein-coupled formylpeptide receptor FPR confers a more invasive phenotype on human glioblastoma cells. *Br. J. Cancer* 102, 1052–1060.
- Huang, Y.A., Maruyama, Y., and Roper, S.D. (2008a). Norepinephrine is coreleased with serotonin in mouse taste buds. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 13088–13093.
- Huang, Y.A., Maruyama, Y., Stimac, R., and Roper, S.D. (2008b). Presynaptic (Type III) cells in mouse taste buds sense sour (acid) taste. *J. Physiol.* 586, 2903–2912.
- Huang, Y.A., Dando, R., and Roper, S.D. (2009). Autocrine and paracrine roles for ATP and serotonin in mouse taste buds. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 13909–13918.
- Huang, Y.A., Pereira, E., and Roper, S.D. (2011). Acid stimulation (sour taste) elicits GABA and serotonin release from mouse taste cells. *PLoS One* 6, e25471.
- Huang, Y.-J., Maruyama, Y., Lu, K.-S., Pereira, E., Plonsky, I., Baur, J.E., Wu, D., and Roper, S.D. (2005). Mouse taste buds use serotonin as a neurotransmitter. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 843–847.
- Huang, Y.-J., Maruyama, Y., Dvoryanchikov, G., Pereira, E., Chaudhari, N., and Roper, S.D. (2007). The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse taste buds. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 6436–6441.
- Hussain, A., Saraiva, L.R., and Korsching, S.I. (2009). Positive Darwinian selection and the birth of an olfactory receptor clade in teleosts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 4313–4318.
- Hussain, A., Saraiva, L.R., Ferrero, D.M., Ahuja, G., Krishna, V.S., Liberles, S.D., and Korsching, S.I. (2013). High-affinity olfactory receptor for the death-associated odor cadaverine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 19579–19584.
- Ibarra-Soria, X., Levitin, M.O., Saraiva, L.R., and Logan, D.W. (2014). The olfactory transcriptomes of mice. *PLoS Genet.* 10, e1004593.

- Imai, T., and Sakano, H. (2007). Roles of odorant receptors in projecting axons in the mouse olfactory system. *Curr. Opin. Neurobiol.* *17*, 507–515.
- Imai, T., and Sakano, H. (2008). Odorant receptor-mediated signaling in the mouse. *Curr. Opin. Neurobiol.* *18*, 251–260.
- Inoshita, T., and Tanimura, T. (2006). Cellular identification of water gustatory receptor neurons and their central projection pattern in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *103*, 1094–1099.
- Ishii, T., and Mombaerts, P. (2011). Coordinated coexpression of two vomeronasal receptor V2R genes per neuron in the mouse. *Mol. Cell. Neurosci.* *46*, 397–408.
- Ishii, T., Hirota, J., and Mombaerts, P. (2003). Combinatorial coexpression of neural and immune multigene families in mouse vomeronasal sensory neurons. *Curr. Biol. CB* *13*, 394–400.
- Isogai, Y., Si, S., Pont-Lezica, L., Tan, T., Kapoor, V., Murthy, V.N., and Dulac, C. (2011). Molecular organization of vomeronasal chemoreception. *Nature* *478*, 241–245.
- Itakura, S., Ohno, K., Ueki, T., Sato, K., and Kanayama, N. (2006). Expression of Golf in the rat placenta: Possible implication in olfactory receptor transduction. *Placenta* *27*, 103–108.
- Ito, J., Ito, M., Nambu, H., Fujikawa, T., Tanaka, K., Iwaasa, H., and Tokita, S. (2009). Anatomical and histological profiling of orphan G-protein-coupled receptor expression in gastrointestinal tract of C57BL/6J mice. *Cell Tissue Res.* *338*, 257–269.
- Jafek, B.W. (1983). Ultrastructure of human nasal mucosa. *The Laryngoscope* *93*, 1576–1599.
- Jang, H.-J., Kokrashvili, Z., Theodorakis, M.J., Carlson, O.D., Kim, B.-J., Zhou, J., Kim, H.H., Xu, X., Chan, S.L., Juhaszova, M., et al. (2007). Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *104*, 15069–15074.
- Jeon, T.-I., Zhu, B., Larson, J.L., and Osborne, T.F. (2008). SREBP-2 regulates gut peptide secretion through intestinal bitter taste receptor signaling in mice. *J. Clin. Invest.* *118*, 3693–3700.
- Jeon, T.-I., Seo, Y.-K., and Osborne, T.F. (2011). Gut bitter taste receptor signalling induces ABCB1 through a mechanism involving CCK. *Biochem. J.* *438*, 33–37.
- Jiang, P., Ji, Q., Liu, Z., Snyder, L.A., Benard, L.M.J., Margolskee, R.F., and Max, M. (2004). The cysteine-rich region of T1R3 determines responses to intensely sweet proteins. *J. Biol. Chem.* *279*, 45068–45075.
- Jones, D.T., and Reed, R.R. (1989). Golf: An Olfactory Neuron-Specific G-Protein Involved in Odorant Signal Transduction. *244*, 6.

- Jovancevic, N., Khalfaoui, S., Weinrich, M., Weidinger, D., Simon, A., Kalbe, B., Kernt, M., Kampik, A., Gisselmann, G., Gelis, L., et al. (2017). Odorant Receptor 51E2 Agonist  $\beta$ -ionone Regulates RPE Cell Migration and Proliferation. *Front. Physiol.* 8.
- Juilfs, D.M., Fülle, H.J., Zhao, A.Z., Houslay, M.D., Garbers, D.L., and Beavo, J.A. (1997). A subset of olfactory neurons that selectively express cGMP-stimulated phosphodiesterase (PDE2) and guanylyl cyclase-D define a unique olfactory signal transduction pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 3388–3395.
- Kaji, I., Karaki, S., Fukami, Y., Terasaki, M., and Kuwahara, A. (2009). Secretory effects of a luminal bitter tastant and expressions of bitter taste receptors, T2Rs, in the human and rat large intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 296, G971-981.
- Kajiya, K., Inaki, K., Tanaka, M., Haga, T., Kataoka, H., and Touhara, K. (2001). Molecular bases of odor discrimination: Reconstitution of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 6018–6025.
- Kalbe, B., Knobloch, J., Schulz, V.M., Wecker, C., Schlimm, M., Scholz, P., Jansen, F., Stoelben, E., Philippou, S., Hecker, E., et al. (2016). Olfactory Receptors Modulate Physiological Processes in Human Airway Smooth Muscle Cells. *Front. Physiol.* 7.
- Kaluza, J.F., Gussing, F., Bohm, S., Breer, H., and Strotmann, J. (2004). Olfactory receptors in the mouse septal organ. *J. Neurosci. Res.* 76, 442–452.
- Kanageswaran, N., Demond, M., Nagel, M., Schreiner, B.S.P., Baumgart, S., Scholz, P., Altmüller, J., Becker, C., Doerner, J.F., Conrad, H., et al. (2015). Deep sequencing of the murine olfactory receptor neuron transcriptome. *PloS One* 10, e0113170.
- Kang, N., Kim, H., Jae, Y., Lee, N., Ku, C.R., Margolis, F., Lee, E.J., Bahk, Y.Y., Kim, M.-S., and Koo, J. (2015a). Olfactory Marker Protein Expression Is an Indicator of Olfactory Receptor-Associated Events in Non-Olfactory Tissues. *PLOS ONE* 10, e0116097.
- Kang, N., Bahk, Y.Y., Lee, N., Jae, Y., Cho, Y.H., Ku, C.R., Byun, Y., Lee, E.J., Kim, M.-S., and Koo, J. (2015b). Olfactory receptor Olfr544 responding to azelaic acid regulates glucagon secretion in  $\alpha$ -cells of mouse pancreatic islets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 460, 616–621.
- Kang, N., Koo, J. (2012). Olfactory receptors in non-chemosensory tissues. *BMB Reports* 11, 612-622.
- Karunadasa, D.K., Chapman, C., and Bicknell, R.J. (2006). Expression of pheromone receptor gene families during olfactory development in the mouse: expression of a V1 receptor in the main olfactory epithelium. *Eur. J. Neurosci.* 23, 2563–2572.
- Katz, S., and Merzel, J. (1977). Distribution of epithelia and glands of the nasal septum mucosa in the rat. *Acta Anat. (Basel)* 99, 58–66.

- Kerr, D.S., Von Dannecker, L.E.C., Davalos, M., Michaloski, J.S., and Malnic, B. (2008). Ric-8B interacts with G alpha olf and G gamma 13 and co-localizes with G alpha olf, G beta 1 and G gamma 13 in the cilia of olfactory sensory neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 38, 341–348.
- Keverne, E.B. (1999). The vomeronasal organ. *Science* 286, 716–720.
- Khalsa, S.S., Adolphs, R., Cameron, O.G., Critchley, H.D., Davenport, P.W., Feinstein, J.S., Feusner, J.D., Garfinkel, S.N., Lane, R.D., Mehling, W.E., et al. (2018). Interoception and Mental Health: A Roadmap. *Biol. Psychiatry Cogn. Neurosci. Neuroimaging* 3, 501–513.
- Kikut-Ligaj, D., and Trzcielińska-Lorych, J. (2015). How taste works: cells, receptors and gustatory perception. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 20, 699–716.
- Kim, S.-H., Yoon, Y.C., Lee, A.S., Kang, N., Koo, J., Rhyu, M.-R., and Park, J.-H. (2015). Expression of human olfactory receptor 10J5 in heart aorta, coronary artery, and endothelial cells and its functional role in angiogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 460, 404–408.
- Kimoto, H., Haga, S., Sato, K., and Touhara, K. (2005). Sex-specific peptides from exocrine glands stimulate mouse vomeronasal sensory neurons. *Nature* 437, 898–901.
- Kimoto, H., Sato, K., Nodari, F., Haga, S., Holy, T.E., and Touhara, K. (2007). Sex- and strain-specific expression and vomeronasal activity of mouse ESP family peptides. *Curr. Biol. CB* 17, 1879–1884.
- Kinnamon, J.C., Henzler, D.M., and Royer, S.M. (1993). HVEM ultrastructural analysis of mouse fungiform taste buds, cell types, and associated synapses. *Microsc. Res. Tech.* 26, 142–156.
- Kleene, S.J. (1997). High-gain, low-noise amplification in olfactory transduction. *Biophys. J.* 73, 1110–1117.
- Kleene, S.J. (2008). The electrochemical basis of odor transduction in vertebrate olfactory cilia. *Chem. Senses* 33, 839–859.
- Kondo, Y., Sachs, B.D., and Sakuma, Y. (1998). Importance of the medial amygdala in rat penile erection evoked by remote stimuli from estrous females. *Behav. Brain Res.* 91, 215–222.
- Krasteva, G., Canning, B.J., Hartmann, P., Veres, T.Z., Papadakis, T., Mühlfeld, C., Schliecker, K., Tallini, Y.N., Braun, A., Hackstein, H., et al. (2011). Cholinergic chemosensory cells in the trachea regulate breathing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 9478–9483.
- Kuo, P.-H., Chuang, L.-C., Su, M.-H., Chen, C.-H., Chen, C.-H., Wu, J.-Y., Yen, C.-J., Wu, Y.-Y., Liu, S.-K., Chou, M.-C., et al. (2015). Genome-Wide Association Study for Autism Spectrum Disorder in Taiwanese Han Population. *PLOS ONE* 10, e0138695.
- Landel, V., Baranger, K., Virard, I., Loriod, B., Khrestchatisky, M., Rivera, S., Benech, P., and Féron, F. (2014). Temporal gene profiling of the 5XFAD transgenic mouse model highlights the importance of microglial activation in Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* 9, 33.

- Latorre, R., Huynh, J., Mazzoni, M., Gupta, A., Bonora, E., Clavenzani, P., Chang, L., Mayer, E.A., De Giorgio, R., and Sternini, C. (2016). Expression of the Bitter Taste Receptor, T2R38, in Enteroendocrine Cells of the Colonic Mucosa of Overweight/Obese vs. Lean Subjects. *PLOS ONE* 11, e0147468.
- Launay, G., Teletchea, S., Wade, F., Pajot-Augy, E., Gibrat, J.-F., and Sanz, G. (2012). Automatic modeling of mammalian olfactory receptors and docking of odorants. *Protein Eng. Des. Sel.* 25, 377–386.
- Laurent, G. (2002). Olfactory network dynamics and the coding of multidimensional signals. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 884–895.
- Le, Y., Oppenheim, J.J., and Wang, J.M. (2001). Pleiotropic roles of formyl peptide receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 12, 91–105.
- Le, Y., Murphy, P.M., and Wang, J.M. (2002). Formyl-peptide receptors revisited. *Trends Immunol.* 23, 541–548.
- Lee, R.J., and Cohen, N.A. (2014). Bitter and sweet taste receptors in the respiratory epithelium in health and disease. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* 92, 1235–1244.
- Lee, N., Jung, Y.S., Lee, H.Y., Kang, N., Park, Y.J., Hwang, J.S., Bahk, Y.Y., Koo, J., and Bae, Y.-S. (2014). Mouse neutrophils express functional umami taste receptor T1R1/T1R3. *BMB Rep.* 47, 649–654.
- Lee, R.J., Xiong, G., Kofonow, J.M., Chen, B., Lysenko, A., Jiang, P., Abraham, V., Doghramji, L., Adappa, N.D., Palmer, J.N., et al. (2012). T2R38 taste receptor polymorphisms underlie susceptibility to upper respiratory infection. *J. Clin. Invest.* 122, 4145–4159.
- Leem, J., Shim, H., Cho, H., and Park, J.-H. (2018). Octanoic acid potentiates glucose-stimulated insulin secretion and expression of glucokinase through the olfactory receptor in pancreatic  $\beta$ -cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 503, 278–284.
- Leinders-Zufall, T., Brennan, P., Widmayer, P., S, P.C., Maul-Pavicic, A., Jäger, M., Li, X.-H., Breer, H., Zufall, F., and Boehm, T. (2004). MHC class I peptides as chemosensory signals in the vomeronasal organ. *Science* 306, 1033–1037.
- Leinders-Zufall, T., Cockerham, R.E., Michalakis, S., Biel, M., Garbers, D.L., Reed, R.R., Zufall, F., and Munger, S.D. (2007). Contribution of the receptor guanylyl cyclase GC-D to chemosensory function in the olfactory epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 14507–14512.
- Leinders-Zufall, T., Ishii, T., Mombaerts, P., Zufall, F., and Boehm, T. (2009). Structural requirements for the activation of vomeronasal sensory neurons by MHC peptides. *Nat. Neurosci.* 12, 1551–1558.
- Leinders-Zufall, T., Ishii, T., Chamero, P., Hendrix, P., Oboti, L., Schmid, A., Kircher, S., Pyrski, M., Akiyoshi, S., Khan, M., et al. (2014). A family of nonclassical class I MHC genes contributes to

ultrasensitive chemodetection by mouse vomeronasal sensory neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *34*, 5121–5133.

Leja, J., Essaghir, A., Essand, M., Wester, K., öberg, K., Tötterman, T.H., Lloyd, R., Vasmatzis, G., Demoulin, J.-B., and Giandomenico, V. (2009). Novel markers for enterochromaffin cells and gastrointestinal neuroendocrine carcinomas. *Mod. Pathol.* *22*, 261–272.

L'Espérance, S., Bachvarova, M., Tetu, B., Mes-Masson, A.-M., and Bachvarov, D. (2008). Global gene expression analysis of early response to chemotherapy treatment in ovarian cancer spheroids. *BMC Genomics* *9*, 99.

Li, F., and Zhou, M. (2012). Depletion of bitter taste transduction leads to massive spermatid loss in transgenic mice. *Mol. Hum. Reprod.* *18*, 289–297.

Li, Q., Korzan, W.J., Ferrero, D.M., Chang, R.B., Roy, D.S., Buchi, M., Lemon, J.K., Kaur, A.W., Stowers, L., Fendt, M., et al. (2013a). Synchronous evolution of an odor biosynthesis pathway and behavioral response. *Curr. Biol. CB* *23*, 11–20.

Li, S., Liu, Q., Wang, Y., Gu, Y., Liu, D., Wang, C., Ding, G., Chen, J., Liu, J., and Gu, X. (2013b). Differential Gene Expression Profiling and Biological Process Analysis in Proximal Nerve Segments after Sciatic Nerve Transection. *PLoS ONE* *8*, e57000.

Li, S.-Q., Su, N., Gong, P., Zhang, H.-B., Liu, J., Wang, D., Sun, Y.-P., Zhang, Y., Qian, F., Zhao, B., et al. (2017). The Expression of Formyl Peptide Receptor 1 is Correlated with Tumor Invasion of Human Colorectal Cancer. *Sci. Rep.* *7*.

Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., and Adler, E. (2002). Human receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *99*, 4692–4696.

Li, X., Li, W., Wang, H., Cao, J., Maehashi, K., Huang, L., Bachmanov, A.A., Reed, D.R., Legrand-Defretin, V., Beauchamp, G.K., et al. (2005). Pseudogenization of a sweet-receptor gene accounts for cats' indifference toward sugar. *PLoS Genet.* *1*, 27–35.

Liberles, S.D., and Buck, L.B. (2006). A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature* *442*, 645–650.

Liberles, S.D., Horowitz, L.F., Kuang, D., Contos, J.J., Wilson, K.L., Siltberg-Liberles, J., Liberles, D.A., and Buck, L.B. (2009). Formyl peptide receptors are candidate chemosensory receptors in the vomeronasal organ. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 9842–9847.

Liman, E.R. (2006). Use it or lose it: molecular evolution of sensory signaling in primates. *Pflugers Arch.* *453*, 125–131.

Liman, E.R., Corey, D.P., and Dulac, C. (1999). TRP2: a candidate transduction channel for mammalian pheromone sensory signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *96*, 5791–5796.

Lin, W., Burks, C.A., Hansen, D.R., Kinnamon, S.C., and Gilbertson, T.A. (2004). Taste receptor cells express pH-sensitive leak K<sup>+</sup> channels. *J. Neurophysiol.* *92*, 2909–2919.

- Lindemann, B. (1996). Taste reception. *Physiol. Rev.* 76, 719–766.
- Lindemann, B. (1999). Receptor seeks ligand: on the way to cloning the molecular receptors for sweet and bitter taste. *Nat. Med.* 5, 381–382.
- Lindemann, L., and Hoener, M.C. (2005). A renaissance in trace amines inspired by a novel GPCR family. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 274–281.
- Lindemann, L., Ebeling, M., Kratochwil, N.A., Bunzow, J.R., Grandy, D.K., and Hoener, M.C. (2005). Trace amine-associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors. *Genomics* 85, 372–385.
- Lindemann, L., Meyer, C.A., Jeanneau, K., Bradaia, A., Ozmen, L., Bluethmann, H., Bettler, B., Wettstein, J.G., Borroni, E., Moreau, J.-L., et al. (2008). Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 324, 948–956.
- Liu, D., and Liman, E.R. (2003). Intracellular Ca<sup>2+</sup> and the phospholipid PIP<sub>2</sub> regulate the taste transduction ion channel TRPM5. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 15160–15165.
- Liu, G., Hu, X., and Zhou, G. (2017). Long non-coding RNA OR3A4 promotes proliferation and migration in breast cancer. *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* 96, 426–433.
- Liu, X., Gu, F., Jiang, L., Chen, F., and Li, F. (2015). Expression of bitter taste receptor Tas2r105 in mouse kidney. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 458, 733–738.
- Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., Costafreda, S.G., Huntley, J., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., et al. (2017). Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet Lond. Engl.* 390, 2673–2734.
- Loconto, J., Papes, F., Chang, E., Stowers, L., Jones, E.P., Takada, T., Kumánovics, A., Fischer Lindahl, K., and Dulac, C. (2003). Functional expression of murine V2R pheromone receptors involves selective association with the M10 and M1 families of MHC class Ib molecules. *Cell* 112, 607–618.
- Lu, P., Zhang, C.-H., Lifshitz, L.M., and ZhuGe, R. (2017). Extraoral bitter taste receptors in health and disease. *J. Gen. Physiol.* 149, 181–197.
- Lucas, P., Ukhanov, K., Leinders-Zufall, T., and Zufall, F. (2003). A diacylglycerol-gated cation channel in vomeronasal neuron dendrites is impaired in TRPC2 mutant mice: mechanism of pheromone transduction. *Neuron* 40, 551–561.
- Lundy, R.F., and Norgren, R. (2004). Activity in the hypothalamus, amygdala, and cortex generates bilateral and convergent modulation of pontine gustatory neurons. *J. Neurophysiol.* 91, 1143–1157.
- Lyall, V., Alam, R.I., Phan, D.Q., Ereso, G.L., Phan, T.H., Malik, S.A., Montrose, M.H., Chu, S., Heck, G.L., Feldman, G.M., et al. (2001). Decrease in rat taste receptor cell intracellular pH is the proximate stimulus in sour taste transduction. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 281, C1005-1013.

- Ma, M., Grosmaître, X., Iwema, C.L., Baker, H., Greer, C.A., and Shepherd, G.M. (2003). Olfactory signal transduction in the mouse septal organ. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *23*, 317–324.
- Mace, O.J., Lister, N., Morgan, E., Shepherd, E., Affleck, J., Helliwell, P., Bronk, J.R., Kellett, G.L., Meredith, D., Boyd, R., et al. (2009). An energy supply network of nutrient absorption coordinated by calcium and T1R taste receptors in rat small intestine. *J. Physiol.* *587*, 195–210.
- Malki, A., Fiedler, J., Fricke, K., Ballweg, I., Pfaffl, M.W., and Krautwurst, D. (2015). Class I odorant receptors, TAS1R and TAS2R taste receptors, are markers for subpopulations of circulating leukocytes. *J. Leukoc. Biol.* *97*, 533–545.
- Malnic, B., Hirono, J., Sato, T., and Buck, L.B. (1999). Combinatorial Receptor Codes for Odors. *11*.
- Mamasuew, K., Breer, H., and Fleischer, J. (2008). Grueneberg ganglion neurons respond to cool ambient temperatures. *Eur. J. Neurosci.* *28*, 1775–1785.
- Man, O., Gilad, Y., and Lancet, D. (2004). Prediction of the odorant binding site of olfactory receptor proteins by human-mouse comparisons. *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* *13*, 240–254.
- Manteniotis, S., Wojcik, S., Göthert, J.R., Dürig, J., Dührsen, U., Gisselmann, G., and Hatt, H. (2016a). Deorphanization and characterization of the ectopically expressed olfactory receptor OR51B5 in myelogenous leukemia cells. *Cell Death Discov.* *2*.
- Manteniotis, S., Wojcik, S., Brauhoff, P., Möllmann, M., Petersen, L., Göthert, J., Schmiegel, W., Dührsen, U., Gisselmann, G., and Hatt, H. (2016b). Functional characterization of the ectopically expressed olfactory receptor 2AT4 in human myelogenous leukemia. *Cell Death Discov.* *2*.
- Mao, J., Zhang, X., Sieli, P.T., Falduto, M.T., Torres, K.E., and Rosenfeld, C.S. (2010). Contrasting effects of different maternal diets on sexually dimorphic gene expression in the murine placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 5557–5562.
- de March, C.A., and Golebiowski, J. (2014). A computational microscope focused on the sense of smell. *Biochimie* *107*, 3–10.
- de March, C.A., Yu, Y., Ni, M.J., Adipietro, K.A., Matsunami, H., Ma, M., and Golebiowski, J. (2015). Conserved Residues Control Activation of Mammalian G Protein-Coupled Odorant Receptors. *J. Am. Chem. Soc.* *137*, 8611–8616.
- Margolskee, R.F., Dyer, J., Kokrashvili, Z., Salmon, K.S.H., Ilegems, E., Daly, K., Maillet, E.L., Ninomiya, Y., Mosinger, B., and Shirazi-Beechey, S.P. (2007). T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *104*, 15075–15080.
- Marshall, D.A., and Maruniak, J.A. (1986). Maser's organ responds to odorants. *Brain Res.* *366*, 329–332.

- Martin, B., Wang, R., Cong, W.-N., Daimon, C.M., Wu, W.W., Ni, B., Becker, K.G., Lehrmann, E., Wood, W.H., Zhang, Y., et al. (2017). Altered learning, memory, and social behavior in type 1 taste receptor subunit 3 knock-out mice are associated with neuronal dysfunction. *J. Biol. Chem.* 292, 11508–11530.
- Martini, S., Silvotti, L., Shirazi, A., Ryba, N.J., and Tirindelli, R. (2001). Co-expression of putative pheromone receptors in the sensory neurons of the vomeronasal organ. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 843–848.
- Masek, P., and Keene, A.C. (2013). *Drosophila* fatty acid taste signals through the PLC pathway in sugar-sensing neurons. *PLoS Genet.* 9, e1003710.
- Maßberg, D., Jovancevic, N., Offermann, A., Simon, A., Baniahmad, A., Perner, S., Pungsrinont, T., Luko, K., Philippou, S., Ubrig, B., et al. (2016). The activation of OR51E1 causes growth suppression of human prostate cancer cells. *Oncotarget* 7.
- Maßberg, D., Hatt, H. (2018). Human Olfactory Receptors: Novel Cellular Functions Outside of the Nose. *Phys. Reviews* 3, 1739-1763.
- Matsui, A., Go, Y., and Niimura, Y. (2010). Degeneration of Olfactory Receptor Gene Repertoires in Primates: No Direct Link to Full Trichromatic Vision. *Mol. Biol. Evol.* 27, 1192–1200.
- Matsumoto, I. (2013). Gustatory neural pathways revealed by genetic tracing from taste receptor cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77, 1359–1362.
- Maurer, S., Wabnitz, G.H., Kahle, N.A., Stegmaier, S., Prior, B., Giese, T., Gaida, M.M., Samstag, Y., and Hänsch, G.M. (2015). Tasting *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Human Neutrophils Express the Bitter Receptor T2R38 as Sensor for the Quorum Sensing Molecule N-(3-Oxododecanoyl)-L-Homoserine Lactone. *Front. Immunol.* 6.
- Max, M., Shanker, Y.G., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., Weinstein, H., Damak, S., and Margolskee, R.F. (2001). *Tas1r3*, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus *Sac*. *Nat. Genet.* 28, 58–63.
- McLaughlin, S.K., McKinnon, P.J., and Margolskee, R.F. (1992). Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. *Nature* 357, 563–569.
- Mellert, T.K., Getchell, M.L., Sparks, L., and Getchell, T.V. (1992). Characterization of the immune barrier in human olfactory mucosa. *Otolaryngol.–Head Neck Surg. Off. J. Am. Acad. Otolaryngol.–Head Neck Surg.* 106, 181–188.
- Meredith, M. (1998). Vomeronasal, olfactory, hormonal convergence in the brain. Cooperation or coincidence? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855, 349–361.
- Meredith, R.W., Janečka, J.E., Gatesy, J., Ryder, O.A., Fisher, C.A., Teeling, E.C., Goodbla, A., Eizirik, E., Simão, T.L.L., Stadler, T., et al. (2011). Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* 334, 521–524.

- Meyer, D., Voigt, A., Widmayer, P., Borth, H., Huebner, S., Breit, A., Marschall, S., de Angelis, M.H., Boehm, U., Meyerhof, W., et al. (2012). Expression of Tas1 taste receptors in mammalian spermatozoa: functional role of Tas1r1 in regulating basal Ca<sup>2+</sup> and cAMP concentrations in spermatozoa. *PLoS One* 7, e32354.
- Meyer, M.R., Angele, A., Kremmer, E., Kaupp, U.B., and Muller, F. (2000). A cGMP-signaling pathway in a subset of olfactory sensory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 10595–10600.
- Michlig, S., Damak, S., and Le Coutre, J. (2007). Claudin-based permeability barriers in taste buds. *J. Comp. Neurol.* 502, 1003–1011.
- Migeotte, I., Communi, D., and Parmentier, M. (2006). Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 17, 501–519.
- Mombaerts, P. (2004). Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 263–278.
- Mombaerts, P., Wang, F., Dulac, C., Chao, S.K., Nemes, A., Mendelsohn, M., Edmondson, J., and Axel, R. (1996). Visualizing an Olfactory Sensory Map. 12.
- Moran, A.W., Al-Rammahi, M.A., Arora, D.K., Batchelor, D.J., Coulter, E.A., Daly, K., Ionescu, C., Bravo, D., and Shirazi-Beechey, S.P. (2010). Expression of Na<sup>+</sup>/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. *Br. J. Nutr.* 104, 637–646.
- Moran, D.T., Rowley, J.C., Jafek, B.W., and Lovell, M.A. (1982). The fine structure of the olfactory mucosa in man. *J. Neurocytol.* 11, 721–746.
- Morè, L. (2006). Mouse major urinary proteins trigger ovulation via the vomeronasal organ. *Chem. Senses* 31, 393–401.
- Morini, G., Bassoli, A., and Temussi, P.A. (2005). From small sweeteners to sweet proteins: anatomy of the binding sites of the human T1R2\_T1R3 receptor. *J. Med. Chem.* 48, 5520–5529.
- Morita, R., Hirohashi, Y., Torigoe, T., Ito-Inoda, S., Takahashi, A., Mariya, T., Asanuma, H., Tamura, Y., Tsukahara, T., Kanaseki, T., et al. (2016). Olfactory Receptor Family 7 Subfamily C Member 1 Is a Novel Marker of Colon Cancer-Initiating Cells and Is a Potent Target of Immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 22, 3298–3309.
- Mosinger, B., Redding, K.M., Parker, M.R., Yevshayeva, V., Yee, K.K., Dyomina, K., Li, Y., and Margolskee, R.F. (2013). Genetic loss or pharmacological blockade of testes-expressed taste genes causes male sterility. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 12319–12324.

- Munakata, Y., Yamada, T., Imai, J., Takahashi, K., Tsukita, S., Shirai, Y., Kodama, S., Asai, Y., Sugisawa, T., Chiba, Y., et al. (2018). Olfactory receptors are expressed in pancreatic  $\beta$ -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion. *Sci. Rep.* 8.
- Munger, S.D., Leinders-Zufall, T., and Zufall, F. (2009). Subsystem Organization of the Mammalian Sense of Smell. *Annu. Rev. Physiol.* 71, 115–140.
- Munger, S.D., Leinders-Zufall, T., McDougall, L.M., Cockerham, R.E., Schmid, A., Wandernoth, P., Wennemuth, G., Biel, M., Zufall, F., and Kelliher, K.R. (2010). An olfactory subsystem that detects carbon disulfide and mediates food-related social learning. *Curr. Biol. CB* 20, 1438–1444.
- Murrell, W., Féron, F., Wetzig, A., Cameron, N., Splatt, K., Bellette, B., Bianco, J., Perry, C., Lee, G., and Mackay-Sim, A. (2005). Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Dev. Dyn. Off. Publ. Am. Assoc. Anat.* 233, 496–515.
- Nagayama, S., Homma, R., and Imamura, F. (2014). Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Front. Neural Circuits* 8, 98.
- Nakagawa, Y., Nagasawa, M., Yamada, S., Hara, A., Mogami, H., Nikolaev, V.O., Lohse, M.J., Shigemura, N., Ninomiya, Y., and Kojima, I. (2009). Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One* 4, e5106.
- Nakamura, T., and Gold, G.H. (1987). A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature* 325, 442–444.
- Nakashima, K., Eddy, M.C., Katsukawa, H., Delay, E.R., and Ninomiya, Y. (2012). Behavioral responses to glutamate receptor agonists and antagonists implicate the involvement of brain-expressed mGluR4 and mGluR1 in taste transduction for umami in mice. *Physiol. Behav.* 105, 709–719.
- Nef, S., and Nef, P. (1997). Olfaction: Transient expression of a putative odorant receptor in the avian notochord. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 4766–4771.
- Nef, P., Hermans-Borgmeyer, I., Artières-Pin, H., Beasley, L., Dionne, V.E., and Heinemann, S.F. (1992). Spatial pattern of receptor expression in the olfactory epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 8948–8952.
- Nei, M., Niimura, Y., and Nozawa, M. (2008). The evolution of animal chemosensory receptor gene repertoires: roles of chance and necessity. *Nat. Rev. Genet.* 9, 951–963.
- Nelson, D.A., Tolbert, M.D., Singh, S.J., and Bost, K.L. (2007). Expression of neuronal trace amine-associated receptor (Taar) mRNAs in leukocytes. *J. Neuroimmunol.* 192, 21–30.
- Nelson, G., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N.J., and Zuker, C.S. (2001). Mammalian sweet taste receptors. *Cell* 106, 381–390.

- Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N.J.P., and Zuker, C.S. (2002). An amino-acid taste receptor. *Nature* 416, 199–202.
- Neuhaus, E.M., Mashukova, A., Barbour, J., Wolters, D., and Hatt, H. (2006). Novel function of beta-arrestin2 in the nucleus of mature spermatozoa. *J. Cell Sci.* 119, 3047–3056.
- Neuhaus, E.M., Zhang, W., Gelis, L., Deng, Y., Noldus, J., and Hatt, H. (2009). Activation of an Olfactory Receptor Inhibits Proliferation of Prostate Cancer Cells. *J. Biol. Chem.* 284, 16218–16225.
- Niimura, Y. (2012). Olfactory receptor multigene family in vertebrates: from the viewpoint of evolutionary genomics. *Curr. Genomics* 13, 103–114.
- Niimura, Y., and Nei, M. (2003). Evolution of olfactory receptor genes in the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 12235–12240.
- Niimura, Y., and Nei, M. (2005). Comparative evolutionary analysis of olfactory receptor gene clusters between humans and mice. *Gene* 346, 13–21.
- Niimura, Y., and Nei, M. (2006). Evolutionary dynamics of olfactory and other chemosensory receptor genes in vertebrates. *J. Hum. Genet.* 51, 505–517.
- Nodari, F., Hsu, F.-F., Fu, X., Holekamp, T.F., Kao, L.-F., Turk, J., and Holy, T.E. (2008). Sulfated steroids as natural ligands of mouse pheromone-sensing neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 6407–6418.
- Noé, J., and Breer, H. (1998). Functional and molecular characterization of individual olfactory neurons. *J. Neurochem.* 71, 2286–2293.
- Norlin, E.M., and Berghard, A. (2001). Spatially restricted expression of regulators of G-protein signaling in primary olfactory neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 17, 872–882.
- Norlin, E.M., Gussing, F., and Berghard, A. (2003). Vomeronasal phenotype and behavioral alterations in G alpha i2 mutant mice. *Curr. Biol. CB* 13, 1214–1219.
- Oakley, H., Cole, S.L., Logan, S., Maus, E., Shao, P., Craft, J., Guillozet-Bongaarts, A., Ohno, M., Disterhoft, J., Van Eldik, L., et al. (2006). Intraneuronal beta-Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation. *J. Neurosci.* 26, 10129–10140.
- Ogawa, H., Ito, S., and Nomura, T. (1985). Two distinct projection areas from tongue nerves in the frontal operculum of macaque monkeys as revealed with evoked potential mapping. *Neurosci. Res.* 2, 447–459.
- Orsmark-Pietras, C., James, A., Konradsen, J.R., Nordlund, B., Söderhäll, C., Pulkkinen, V., Pedroletti, C., Daham, K., Kupczyk, M., Dahlén, B., et al. (2013). Transcriptome analysis reveals upregulation of bitter taste receptors in severe asthmatics. *Eur. Respir. J.* 42, 65–78.

- Otaki, J.M., Yamamoto, H., and Firestein, S. (2004). Odorant receptor expression in the mouse cerebral cortex. *J. Neurobiol.* 58, 315–327.
- Parmentier, M., Libert, F., Schurmans, S., Schiffmann, S., Lefort, A., Eggerickx, D., Ledent, C., Mollereau, C., Gérard, C., and Perret, J. (1992). Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. *Nature* 355, 453–455.
- Pavlati, G.K. (2010). A new function for odorant receptors: MOR23 is necessary for normal tissue repair in skeletal muscle. *Cell Adhes. Migr.* 4, 502–506.
- Pevsner, J., Sklar, P.B., and Snyder, S.H. (1986). Odorant-binding protein: localization to nasal glands and secretions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 4942–4946.
- Pevsner, J., Reed, R.R., Feinstein, P.G., and Snyder, S.H. (1988). Molecular cloning of odorant-binding protein: member of a ligand carrier family. *Science* 241, 336–339.
- Piebler, A.P., Hellum, M., Wenzel, J.J., Kaminski, E., Haug, K.B.F., Kierulf, P., and Kaminski, W.E. (2008). The human ABC transporter pseudogene family: Evidence for transcription and gene-pseudogene interference. *BMC Genomics* 9, 165.
- Pierozan, P., Biasibetti-Brendler, H., Schmitz, F., Ferreira, F., Netto, C.A., and Wyse, A.T.S. (2018). Synergistic Toxicity of the Neurometabolites Quinolinic Acid and Homocysteine in Cortical Neurons and Astrocytes: Implications in Alzheimer’s Disease. *Neurotox. Res.* 34, 147–163.
- Pluznick, J.L., Zou, D.-J., Zhang, X., Yan, Q., Rodriguez-Gil, D.J., Eisner, C., Wells, E., Greer, C.A., Wang, T., Firestein, S., et al. (2009). Functional expression of the olfactory signaling system in the kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 2059–2064.
- Pluznick, J.L., Protzko, R.J., Gevorgyan, H., Peterlin, Z., Sipos, A., Han, J., Brunet, I., Wan, L.-X., Rey, F., Wang, T., et al. (2013). Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 4410–4415.
- Prieto-Godino, L.L., Rytz, R., Bargeton, B., Abuin, L., Arguello, J.R., Peraro, M.D., and Benton, R. (2016). Olfactory receptor pseudo-pseudogenes. *Nature* 539, 93–97.
- Priori, D., Colombo, M., Clavanzani, P., Jansman, A.J.M., Lallès, J.-P., Trevisi, P., and Bosi, P. (2015). The Olfactory Receptor OR51E1 Is Present along the Gastrointestinal Tract of Pigs, Co-Localizes with Enteroendocrine Cells and Is Modulated by Intestinal Microbiota. *PLOS ONE* 10, e0129501.
- Pumplin, D.W., Yu, C., and Smith, D.V. (1997). Light and dark cells of rat vallate taste buds are morphologically distinct cell types. *J. Comp. Neurol.* 378, 389–410.
- Raab, S., Wang, H., Uhles, S., Cole, N., Alvarez-Sanchez, R., Künnecke, B., Ullmer, C., Matile, H., Bedoucha, M., Norcross, R.D., et al. (2016). Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1 agonists. *Mol. Metab.* 5, 47–56.

- Rabiet, M.-J., Huet, E., and Boulay, F. (2007). The N-formyl peptide receptors and the anaphylatoxin C5a receptors: an overview. *Biochimie* 89, 1089–1106.
- Rajkumar, P., Aisenberg, W.H., Acres, O.W., Protzko, R.J., and Pluznick, J.L. (2014). Identification and characterization of novel renal sensory receptors. *PLoS One* 9, e111053.
- Raming, K., Konzelmann, S., and Breer, H. (1998). Identification of a novel G-protein coupled receptor expressed in distinct brain regions and a defined olfactory zone. *Receptors Channels* 6, 141–151.
- Ranzani, M., Iyer, V., Ibarra-Soria, X., Del Castillo Velasco-Herrera, M., Garnett, M., Logan, D., and Adams, D.J. (2017). Revisiting olfactory receptors as putative drivers of cancer. *Wellcome Open Res.* 2, 9.
- Ren, X., Zhou, L., Terwilliger, R., Newton, S.S., and de Araujo, I.E. (2009). Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor. *Front. Integr. Neurosci.* 3, 12.
- Ressler, K.J., Sullivan, S.L., and Buck, L.B. (1994). Information coding in the olfactory system: Evidence for a stereotyped and highly organized epitope map in the olfactory bulb. *Cell* 79, 1245–1255.
- Restrepo, D., Miyamoto, T., Bryant, B.P., and Teeter, J.H. (1990). Odor stimuli trigger influx of calcium into olfactory neurons of the channel catfish. *Science* 249, 1166–1168.
- Revel, F.G., Moreau, J.-L., Pouzet, B., Mory, R., Bradaia, A., Buchy, D., Metzler, V., Chaboz, S., Groebke Zbinden, K., Galley, G., et al. (2013). A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. *Mol. Psychiatry* 18, 543–556.
- Richter, T.A., Dvoryanchikov, G.A., Chaudhari, N., and Roper, S.D. (2004). Acid-sensitive two-pore domain potassium (K2P) channels in mouse taste buds. *J. Neurophysiol.* 92, 1928–1936.
- Risso, D., Tofanelli, S., Morini, G., Luiselli, D., and Drayna, D. (2014). Genetic variation in taste receptor pseudogenes provides evidence for a dynamic role in human evolution. *BMC Evol. Biol.* 14.
- Rivière, S., Challet, L., Flügge, D., Spehr, M., and Rodriguez, I. (2009). Formyl peptide receptor-like proteins are a novel family of vomeronasal chemosensors. *Nature* 459, 574–577.
- Rodriguez, I. (2004). Pheromone receptors in mammals. *Horm. Behav.* 46, 219–230.
- Rodriguez, I., and Mombaerts, P. (2002). Novel human vomeronasal receptor-like genes reveal species-specific families. *Curr. Biol.* 12, R409–411.
- Rodriguez, I., Greer, C.A., Mok, M.Y., and Mombaerts, P. (2000). A putative pheromone receptor gene expressed in human olfactory mucosa. *Nat. Genet.* 26, 18–19.

- Rodriguez, I., Del Punta, K., Rothman, A., Ishii, T., and Mombaerts, P. (2002). Multiple new and isolated families within the mouse superfamily of V1r vomeronasal receptors. *Nat. Neurosci.* 5, 134–140.
- Rodriguez, M., Luo, W., Weng, J., Zeng, L., Yi, Z., Siwko, S., and Liu, M. (2014). PSGR promotes prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer xenograft growth through NF- $\kappa$ B. *Oncogenesis* 3, e114.
- Rogers, J., and Lue, L.F. (2001). Microglial chemotaxis, activation, and phagocytosis of amyloid beta-peptide as linked phenomena in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 39, 333–340.
- Roper, S.D. (2013). Taste buds as peripheral chemosensory processors. *Semin. Cell Dev. Biol.* 24, 71–79.
- Roper, S.D., and Chaudhari, N. (2017). Taste buds: cells, signals and synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* 18, 485–497.
- Ross, M., and Pawlina, W. (2006). *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology* (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania).
- Rouquier, S., Taviaux, S., Trask, B.J., Brand-Arpon, V., van den Engh, G., Demaille, J., and Giorgi, D. (1998). Distribution of olfactory receptor genes in the human genome. *Nat. Genet.* 18, 243–250.
- Rovati, G.E., Capra, V., and Neubig, R.R. (2007). The highly conserved DRY motif of class A G protein-coupled receptors: beyond the ground state. *Mol. Pharmacol.* 71, 959–964.
- Rozengurt, N., Wu, S.V., Chen, M.C., Huang, C., Sternini, C., and Rozengurt, E. (2006). Colocalization of the alpha-subunit of gustducin with PYY and GLP-1 in L cells of human colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 291, G792-802.
- Saito, H., Chi, Q., Zhuang, H., Matsunami, H., and Mainland, J.D. (2009). Odor Coding by a Mammalian Receptor Repertoire. 15.
- Scholz, P., Mohrhardt, J., Jansen, F., Kalbe, B., Haering, C., Klasen, K., Hatt, H., and Osterloh, S. (2016). Identification of a Novel Gnao-Mediated Alternate Olfactory Signaling Pathway in Murine OSNs. *Front. Cell. Neurosci.* 10, 63.
- Schwob, J.E. (2002). Neural regeneration and the peripheral olfactory system. *Anat. Rec.* 269, 33–49.
- Seifert, R., and Wenzel-Seifert, K. (2003). The human formyl peptide receptor as model system for constitutively active G-protein-coupled receptors. *Life Sci.* 73, 2263–2280.
- Shah, A.S., Ben-Shahar, Y., Moninger, T.O., Kline, J.N., and Welsh, M.J. (2009). Motile Cilia of Human Airway Epithelia Are Chemosensory. *Science* 325, 1131–1134.
- Shi, P., and Zhang, J. (2006). Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol. Biol. Evol.* 23, 292–300.

- Shi, J., Wang, S., Ke, Q., Lin, J., Zheng, Y., Wu, S., Huang, Z., and Lin, W. (2017a). T1R1/T1R3 Taste Receptor Suppresses Granulocyte-Mediated Neuroinflammation after Spinal Cord Injury. *J. Neurotrauma* 34, 2353–2363.
- Shi, Y., Yamada, K., Liddelov, S.A., Smith, S.T., Zhao, L., Luo, W., Tsai, R.M., Spina, S., Grinberg, L.T., Rojas, J.C., et al. (2017b). ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature* 549, 523–527.
- Shimada, S., Ueda, T., Ishida, Y., Yamamoto, T., and Ugawa, S. (2006). Acid-sensing ion channels in taste buds. *Arch. Histol. Cytol.* 69, 227–231.
- Shin, Y.-J., Park, J.-H., Choi, J.-S., Chun, M.-H., Moon, Y.W., and Lee, M.-Y. (2010). Enhanced expression of the sweet taste receptors and alpha-gustducin in reactive astrocytes of the rat hippocampus following ischemic injury. *Neurochem. Res.* 35, 1628–1634.
- Shirokova, E., Raguse, J.D., Meyerhof, W., and Krautwurst, D. (2008). The human vomeronasal type-1 receptor family—detection of volatiles and cAMP signaling in HeLa/Olf cells. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 22, 1416–1425.
- Silvotti, L., Moiani, A., Gatti, R., and Tirindelli, R. (2007). Combinatorial co-expression of pheromone receptors, V2Rs. *J. Neurochem.* 103, 1753–1763.
- Silvotti, L., Cavalca, E., Gatti, R., Percudani, R., and Tirindelli, R. (2011). A recent class of chemosensory neurons developed in mouse and rat. *PloS One* 6, e24462.
- Simon, B.R., Parlee, S.D., Learman, B.S., Mori, H., Scheller, E.L., Cawthorn, W.P., Ning, X., Gallagher, K., Tyrberg, B., Assadi-Porter, F.M., et al. (2013). Artificial sweeteners stimulate adipogenesis and suppress lipolysis independently of sweet taste receptors. *J. Biol. Chem.* 288, 32475–32489.
- Simon, B.R., Learman, B.S., Parlee, S.D., Scheller, E.L., Mori, H., Cawthorn, W.P., Ning, X., Krishnan, V., Ma, Y.L., Tyrberg, B., et al. (2014). Sweet taste receptor deficient mice have decreased adiposity and increased bone mass. *PloS One* 9, e86454.
- Singh, N., Vrontakis, M., Parkinson, F., and Chelikani, P. (2011). Functional bitter taste receptors are expressed in brain cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 406, 146–151.
- Singh, N., Chakraborty, R., Bhullar, R.P., and Chelikani, P. (2014). Differential expression of bitter taste receptors in non-cancerous breast epithelial and breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446, 499–503.
- Smith, D.V., and Margolskee, R.F. (2001). Making sense of taste. *Sci. Am.* 284, 32–39.
- Snapkov, I., Öqvist, C.O., Figenschau, Y., Kogner, P., Johnsen, J.I., and Sveinbjørnsson, B. (2016). The role of formyl peptide receptor 1 (FPR1) in neuroblastoma tumorigenesis. *BMC Cancer* 16.

- Sondersorg, A.C., Busse, D., Kyereme, J., Rothermel, M., Neufang, G., Gisselmann, G., Hatt, H., and Conrad, H. (2014). Chemosensory information processing between keratinocytes and trigeminal neurons. *J. Biol. Chem.* 289, 17529–17540.
- Spehr, M. (2003). Identification of a Testicular Odorant Receptor Mediating Human Sperm Chemotaxis. *Science* 299, 2054–2058.
- Spehr, M., Wetzel, C.H., Hatt, H., and Ache, B.W. (2002). 3-phosphoinositides modulate cyclic nucleotide signaling in olfactory receptor neurons. *Neuron* 33, 731–739.
- Spehr, M., Kelliher, K.R., Li, X.-H., Boehm, T., Leinders-Zufall, T., and Zufall, F. (2006). Essential role of the main olfactory system in social recognition of major histocompatibility complex peptide ligands. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 1961–1970.
- Spors, H., Albeanu, D.F., Murthy, V.N., Rinberg, D., Uchida, N., Wachowiak, M., and Friedrich, R.W. (2012). Illuminating vertebrate olfactory processing. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 14102–14108.
- Sriram, U., Cenna, J.M., Haldar, B., Fernandes, N.C., Razmpour, R., Fan, S., Ramirez, S.H., and Potula, R. (2016). Methamphetamine induces trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) expression in human T lymphocytes: role in immunomodulation. *J. Leukoc. Biol.* 99, 213–223.
- St Pourcain, B., Whitehouse, A.J.O., Ang, W.Q., Warrington, N.M., Glessner, J.T., Wang, K., Timpson, N.J., Evans, D.M., Kemp, J.P., Ring, S.M., et al. (2013). Common variation contributes to the genetic architecture of social communication traits. *Mol. Autism* 4, 34.
- Stanke, F. (2015). The Contribution of the Airway Epithelial Cell to Host Defense. *Mediators Inflamm.* 2015, 463016.
- Steinke, A., Meier-Stiegen, S., Drenckhahn, D., and Asan, E. (2008). Molecular composition of tight and adherens junctions in the rat olfactory epithelium and fila. *Histochem. Cell Biol.* 130, 339–361.
- Stephan, A.B., Shum, E.Y., Hirsh, S., Cygnar, K.D., Reisert, J., and Zhao, H. (2009). ANO2 is the ciliary calcium-activated chloride channel that may mediate olfactory amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 11776–11781.
- Storan, M.J., and Key, B. (2006). Septal organ of Grüneberg is part of the olfactory system. *J. Comp. Neurol.* 494, 834–844.
- Suárez, R., García-González, D., and de Castro, F. (2012). Mutual influences between the main olfactory and vomeronasal systems in development and evolution. *Front. Neuroanat.* 6, 50.
- Sullivan, S.L., Adamson, M.C., Ressler, K.J., Kozak, C.A., and Buck, L.B. (1996). The chromosomal distribution of mouse odorant receptor genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 884–888.

- Sun, L., Wang, H., Hu, J., Han, J., Matsunami, H., and Luo, M. (2009). Guanylyl cyclase-D in the olfactory CO<sub>2</sub> neurons is activated by bicarbonate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 2041–2046.
- Swartz, T.D., Duca, F.A., de Wouters, T., Sakar, Y., and Covasa, M. (2012). Up-regulation of intestinal type 1 taste receptor 3 and sodium glucose luminal transporter-1 expression and increased sucrose intake in mice lacking gut microbiota. *Br. J. Nutr.* *107*, 621–630.
- Tanaka, M., Treloar, H., Kalb, R.G., Greer, C.A., and Strittmatter, S.M. (1999). G(o) protein-dependent survival of primary accessory olfactory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *96*, 14106–14111.
- Taniguchi, K. (2004). Expression of the sweet receptor protein, T1R3, in the human liver and pancreas. *J. Vet. Med. Sci.* *66*, 1311–1314.
- Taniguchi, K., Arai, T., and Ogawa, K. (1993). Fine structure of the septal olfactory organ of Mase and its associated gland in the golden hamster. *J. Vet. Med. Sci.* *55*, 107–116.
- Tessarolo, J.A., Tabesh, M.J., Nesbitt, M., and Davidson, W.S. (2014). Genomic organization and evolution of the trace amine-associated receptor (TAAR) repertoire in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *G3 Bethesda Md* *4*, 1135–1141.
- Thathiah, A., and De Strooper, B. (2009). G protein-coupled receptors, cholinergic dysfunction, and Abeta toxicity in Alzheimer's disease. *Sci. Signal.* *2*, re8.
- Thathiah, A., Spittaels, K., Hoffmann, M., Staes, M., Cohen, A., Horr , K., Vanbrabant, M., Coun, F., Baekelandt, V., Delacourte, A., et al. (2009). The orphan G protein-coupled receptor 3 modulates amyloid-beta peptide generation in neurons. *Science* *323*, 946–951.
- Thorén, F.B., Karlsson, J., Dahlgren, C., and Forsman, H. (2010). The anionic amphiphile SDS is an antagonist for the human neutrophil formyl peptide receptor 1. *Biochem. Pharmacol.* *80*, 389–395.
- Tian, H., and Ma, M. (2004). Molecular organization of the olfactory septal organ. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *24*, 8383–8390.
- Tirindelli, R., Mucignat-Caretta, C., and Ryba, N.J. (1998). Molecular aspects of pheromonal communication via the vomeronasal organ of mammals. *Trends Neurosci.* *21*, 482–486.
- Tirindelli, R., Dibattista, M., Pifferi, S., and Menini, A. (2009). From Pheromones to Behavior. *Physiol. Rev.* *89*, 921–956.
- Tizzano, M., Cristofolletti, M., Sbarbati, A., and Finger, T.E. (2011). Expression of taste receptors in solitary chemosensory cells of rodent airways. *BMC Pulm. Med.* *11*, 3.
- Tomás, J., Santos, C.R.A., Quintela, T., and Gonçalves, I. (2016). "Tasting" the cerebrospinal fluid: Another function of the choroid plexus? *Neuroscience* *320*, 160–171.

- Tomchik, S.M., Berg, S., Kim, J.W., Chaudhari, N., and Roper, S.D. (2007). Breadth of tuning and taste coding in mammalian taste buds. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 10840–10848.
- Tong, T., Kim, M., and Park, T. (2018).  $\alpha$ -Cedrene, a Newly Identified Ligand of MOR23, Increases Skeletal Muscle Mass and Strength. *Mol. Nutr. Food Res.* 62, 1800173.
- Touhara, K. (2008). Sexual communication via peptide and protein pheromones. *Curr. Opin. Pharmacol.* 8, 759–764.
- Toyono, T., Seta, Y., Kataoka, S., and Toyoshima, K. (2007). CCAAT/Enhancer-binding protein beta regulates expression of human T1R3 taste receptor gene in the bile duct carcinoma cell line, HuCCT1. *Biochim. Biophys. Acta* 1769, 641–648.
- Trotier, D., Eloit, C., Wassef, M., Talmain, G., Bensimon, J.L., Døving, K.B., and Ferrand, J. (2000). The vomeronasal cavity in adult humans. *Chem. Senses* 25, 369–380.
- Tsai, T., Veitinger, S., Peek, I., Busse, D., Eckardt, J., Vladimirova, D., Jovancevic, N., Wojcik, S., Gisselmann, G., Altmüller, J., et al. (2017). Two olfactory receptors-OR2A4/7 and OR51B5-differentially affect epidermal proliferation and differentiation. *Exp. Dermatol.* 26, 58–65.
- Tu, Y.-H., Cooper, A.J., Teng, B., Chang, R.B., Artiga, D.J., Turner, H.N., Mulhall, E.M., Ye, W., Smith, A.D., and Liman, E.R. (2018). An evolutionarily conserved gene family encodes proton-selective ion channels. *Science* 359, 1047–1050.
- Vandenbeuch, A., Clapp, T.R., and Kinnamon, S.C. (2008). Amiloride-sensitive channels in type I fungiform taste cells in mouse. *BMC Neurosci.* 9, 1.
- Vanderhaeghen, P. (1993). Olfactory receptors are displayed on dog mature sperm cells. *J. Cell Biol.* 123, 1441–1452.
- Vanderhaeghen, P., Schurmans, S., Vassart, G., and Parmentier, M. (1997). Specific Repertoire of Olfactory Receptor Genes in the Male Germ Cells of Several Mammalian Species. *Genomics* 39, 239–246.
- Vane, J.R., and Botting, R.M. (1992). Secretory functions of the vascular endothelium. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* 43, 195–207.
- Vanti, W.B., Muglia, P., Nguyen, T., Cheng, R., Kennedy, J.L., George, S.R., and O'Dowd, B.F. (2003). Discovery of a null mutation in a human trace amine receptor gene. *Genomics* 82, 531–536.
- Vassar, R., Ngai, J., and Axel, R. (1993). Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 74, 309–318.
- Vattai, A., Akyol, E., Kuhn, C., Hofmann, S., Heidegger, H., von Koch, F., Hermelink, K., Wuerstlein, R., Harbeck, N., Mayr, D., et al. (2017). Increased trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) expression is associated with a positive survival rate in patients with breast cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 143, 1637–1647.

- Veitinger, T., Riffell, J.R., Veitinger, S., Nascimento, J.M., Triller, A., Chandsawangbhuwana, C., Schwane, K., Geerts, A., Wunder, F., Berns, M.W., et al. (2011). Chemosensory Ca<sup>2+</sup> Dynamics Correlate with Diverse Behavioral Phenotypes in Human Sperm. *J. Biol. Chem.* 286, 17311–17325.
- Villinger, J., and Waldman, B. (2008). Self-referent MHC type matching in frog tadpoles. *Proc. Biol. Sci.* 275, 1225–1230.
- Volz, A., Ehlers, A., Younger, R., Forbes, S., Trowsdale, J., Schnorr, D., Beck, S., and Ziegler, A. (2003). Complex Transcription and Splicing of Odorant Receptor Genes. *J. Biol. Chem.* 278, 19691–19701.
- Wackermannová, M., Pinc, L., and Jebavý, L. (2016). Olfactory sensitivity in mammalian species. *Physiol. Res.* 65, 369–390.
- Wade, F., Espagne, A., Persuy, M.-A., Vidic, J., Monnerie, R., Merola, F., Pajot-Augy, E., and Sanz, G. (2011). Relationship between homo-oligomerization of a mammalian olfactory receptor and its activation state demonstrated by bioluminescence resonance energy transfer. *J. Biol. Chem.* 286, 15252–15259.
- Walensky, L.D., Roskams, A.J., and Snyder, S.H. (1995). Odorant Receptors and Desensitization Proteins Colocalize in Mammalian Sperm. 12.
- Walensky, L.D., Ruat, M., Bakin, R.E., Blackshaw, S., Ronnett, G.V., and Snyder, S.H. (1998). Two Novel Odorant Receptor Families Expressed in Spermatids Undergo 5'-Splicing. *J. Biol. Chem.* 273, 9378–9387.
- Wang, G., Zhang, L., Chen, X., Xue, X., Guo, Q., Liu, M., and Zhao, J. (2016). Formylpeptide Receptors Promote the Migration and Differentiation of Rat Neural Stem Cells. *Sci. Rep.* 6, 25946.
- Wang, J., Weng, J., Cai, Y., Penland, R., Liu, M., and Ittmann, M. (2006). The prostate-specific G-protein coupled receptors PSGR and PSGR2 are prostate cancer biomarkers that are complementary to alpha-methylacyl-CoA racemase. *The Prostate* 66, 847–857.
- Wauson, E.M., Zaganjor, E., Lee, A.-Y., Guerra, M.L., Ghosh, A.B., Bookout, A.L., Chambers, C.P., Jivan, A., McGlynn, K., Hutchison, M.R., et al. (2012). The G protein-coupled taste receptor T1R1/T1R3 regulates mTORC1 and autophagy. *Mol. Cell* 47, 851–862.
- Weber, L., Al-Refae, K., Ebbert, J., Jägers, P., Altmüller, J., Becker, C., Hahn, S., Gisselmann, G., and Hatt, H. (2017). Activation of odorant receptor in colorectal cancer cells leads to inhibition of cell proliferation and apoptosis. *PLOS ONE* 12, e0172491.
- Weber, M., Pehl, U., Breer, H., and Strotmann, J. (2002). Olfactory receptor expressed in ganglia of the autonomic nervous system. *J. Neurosci. Res.* 68, 176–184.
- Weiler, E., and Farbman, A.I. (2003). The septal organ of the rat during postnatal development. *Chem. Senses* 28, 581–593.

- Weng, J., Wang, J., Hu, X., Wang, F., Ittmann, M., and Liu, M. (2006). PSGR2, a novel G-protein coupled receptor, is overexpressed in human prostate cancer. *Int. J. Cancer* 118, 1471–1480.
- Widmayer, P., Küper, M., Kramer, M., Königsrainer, A., and Breer, H. (2012). Altered expression of gustatory-signaling elements in gastric tissue of morbidly obese patients. *Int. J. Obes.* 2005 36, 1353–1359.
- Wijten, P., van Holten, T., Woo, L.L., Bleijerveld, O.B., Roest, M., Heck, A.J.R., and Scholten, A. (2013). High precision platelet releasate definition by quantitative reversed protein profiling—brief report. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33, 1635–1638.
- Wojcik, S., Weidinger, D., Ständer, S., Luger, T., Hatt, H., and Jovancevic, N. (2018). Functional characterization of the extranasal OR2A4/7 expressed in human melanocytes. *Exp. Dermatol.*
- Wölfle, U., Elsholz, F., Kersten, A., Haarhaus, B., Schumacher, U., and Schempp, C. (2016). Expression and Functional Activity of the Human Bitter Taste Receptor TAS2R38 in Human Placental Tissues and JEG-3 Cells. *Molecules* 21, 306.
- Wolinsky, T.D., Swanson, C.J., Smith, K.E., Zhong, H., Borowsky, B., Seeman, P., Branchek, T., and Gerald, C.P. (2007). The Trace Amine 1 receptor knockout mouse: an animal model with relevance to schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 6, 628–639.
- Wray, S. (2010). From nose to brain: development of gonadotrophin-releasing hormone-1 neurones. *J. Neuroendocrinol.* 22, 743–753.
- Wu, C., Hwang, S.H., Jia, Y., Choi, J., Kim, Y.-J., Choi, D., Pathiraja, D., Choi, I.-G., Koo, S.-H., and Lee, S.-J. (2017). Olfactory receptor 544 reduces adiposity by steering fuel preference toward fats. *J. Clin. Invest.* 127, 4118–4123.
- Wu, S.V., Rozengurt, N., Yang, M., Young, S.H., Sinnott-Smith, J., and Rozengurt, E. (2002). Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 2392–2397.
- Wu, S.V., Chen, M.C., and Rozengurt, E. (2005). Genomic organization, expression, and function of bitter taste receptors (T2R) in mouse and rat. *Physiol. Genomics* 22, 139–149.
- Wyatt, T.D. (2003). *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste* (Cambridge: Cambridge University Press).
- Xie, X., Yang, M., Ding, Y., Yu, L., and Chen, J. (2017). Formyl peptide receptor 2 expression predicts poor prognosis and promotes invasion and metastasis in epithelial ovarian cancer. *Oncol. Rep.* 38, 3297–3308.
- Xu, B., Varasteh, Z., Orlova, A., Andersson, K., Larhammar, D., and Björkelund, H. (2013). Detecting ligand interactions with G protein-coupled receptors in real-time on living cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 441, 820–824.

- Xu, L.L., Stackhouse, B.G., Florence, K., Zhang, W., Shanmugam, N., Sesterhenn, I.A., Zou, Z., Srikantan, V., Augustus, M., Roschke, V., et al. (2000). PSGR, a Novel Prostate-specific Gene with Homology to a G Protein-coupled Receptor, Is Overexpressed in Prostate Cancer. *6*.
- Yang, H., and Shi, P. (2010). Molecular and evolutionary analyses of formyl peptide receptors suggest the absence of VNO-specific FPRs in primates. *J. Genet. Genomics Yi Chuan Xue Bao* *37*, 771–778.
- Yee, K.K., Li, Y., Redding, K.M., Iwatsuki, K., Margolskee, R.F., and Jiang, P. (2013). Lgr5-EGFP marks taste bud stem/progenitor cells in posterior tongue. *Stem Cells Dayt. Ohio* *31*, 992–1000.
- Yoshida, R., Yasumatsu, K., Shigemura, N., and Ninomiya, Y. (2006). Coding channels for taste perception: information transmission from taste cells to gustatory nerve fibers. *Arch. Histol. Cytol.* *69*, 233–242.
- Yoshikawa, K., Nakagawa, H., Mori, N., Watanabe, H., and Touhara, K. (2013). An unsaturated aliphatic alcohol as a natural ligand for a mouse odorant receptor. *Nat. Chem. Biol.* *9*, 160–162.
- Young, J.M., and Trask, B.J. (2007). V2R gene families degenerated in primates, dog and cow, but expanded in opossum. *Trends Genet. TIG* *23*, 212–215.
- Young, J.M., Massa, H.F., Hsu, L., and Trask, B.J. (2010). Extreme variability among mammalian V1R gene families. *Genome Res.* *20*, 10–18.
- Young, R.L., Sutherland, K., Pezos, N., Brierley, S.M., Horowitz, M., Rayner, C.K., and Blackshaw, L.A. (2009). Expression of taste molecules in the upper gastrointestinal tract in humans with and without type 2 diabetes. *Gut* *58*, 337–346.
- Young, R.L., Chia, B., Isaacs, N.J., Ma, J., Khoo, J., Wu, T., Horowitz, M., and Rayner, C.K. (2013). Disordered control of intestinal sweet taste receptor expression and glucose absorption in type 2 diabetes. *Diabetes* *62*, 3532–3541.
- Younger, R.M. (2001). Characterization of Clustered MHC-Linked Olfactory Receptor Genes in Human and Mouse. *Genome Res.* *11*, 519–530.
- Yuan, T.T.-T., Toy, P., McClary, J.A., Lin, R.J., Miyamoto, N.G., and Kretschmer, P.J. (2001). Cloning and genetic characterization of an evolutionarily conserved human olfactory receptor that is differentially expressed across species. *Gene* *278*, 41–51.
- Zhai, K., Yang, Z., Zhu, X., Nyirimigabo, E., Mi, Y., Wang, Y., Liu, Q., Man, L., Wu, S., Jin, J., et al. (2016). Activation of bitter taste receptors (tas2rs) relaxes detrusor smooth muscle and suppresses overactive bladder symptoms. *Oncotarget* *7*, 21156–21167.
- Zhang, C.-H., Lifshitz, L.M., Uy, K.F., Ikebe, M., Fogarty, K.E., and ZhuGe, R. (2013). The cellular and molecular basis of bitter tastant-induced bronchodilation. *PLoS Biol.* *11*, e1001501.

- Zhang, J.-X., Liu, Y.-J., Zhang, J.-H., and Sun, L. (2008). Dual role of preputial gland secretion and its major components in sex recognition of mice. *Physiol. Behav.* 95, 388–394.
- Zhang, L., Wang, G., Chen, X., Xue, X., Guo, Q., Liu, M., and Zhao, J. (2017). Formyl peptide receptors promotes neural differentiation in mouse neural stem cells by ROS generation and regulation of PI3K-AKT signaling. *Sci. Rep.* 7, 206.
- Zhang, X., De la Cruz, O., Pinto, J.M., Nicolae, D., Firestein, S., and Gilad, Y. (2007). Characterizing the expression of the human olfactory receptor gene family using a novel DNA microarray. *Genome Biol.* 8, R86.
- Zhang, X., Marcucci, F., and Firestein, S. (2010). High-throughput microarray detection of vomeronasal receptor gene expression in rodents. *Front. Neurosci.* 4, 164.
- Zhang, X., Bedigian, A.V., Wang, W., and Eggert, U.S. (2012). G protein-coupled receptors participate in cytokinesis. *Cytoskeleton* 69, 810–818.
- Zhao, G.Q., Zhang, Y., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N.J.P., and Zuker, C.S. (2003). The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell* 115, 255–266.
- Zhao, W., Ho, L., Varghese, M., Yemul, S., Dams-O'Connor, K., Gordon, W., Knable, L., Freire, D., Haroutunian, V., and Pasinetti, G.M. (2013). Decreased level of olfactory receptors in blood cells following traumatic brain injury and potential association with tauopathy. *J. Alzheimers Dis. JAD* 34, 417–429.
- Zhou, B., Irwanto, A., Guo, Y.-M., Bei, J.-X., Wu, Q., Chen, G., Zhang, T.-P., Lei, J.-J., Feng, Q.-S., Chen, L.-Z., et al. (2012). Exome sequencing and digital PCR analyses reveal novel mutated genes related to the metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Biol. Ther.* 13, 871–879.
- Zhuang, H., and Matsunami, H. (2008). Evaluating cell-surface expression and measuring activation of mammalian odorant receptors in heterologous cells. *Nat. Protoc.* 3, 1402–1413.
- Zopun, M., Lieder, B., Holik, A.-K., Ley, J.P., Hans, J., and Somoza, V. (2018). Noncaloric Sweeteners Induce Peripheral Serotonin Secretion via the T1R3-Dependent Pathway in Human Gastric Parietal Tumor Cells (HGT-1). *J. Agric. Food Chem.* 66, 7044–7053.
- Zufall, F., Ukhanov, K., Lucas, P., Liman, E.R., and Leinders-Zufall, T. (2005). Neurobiology of TRPC2: from gene to behavior. *Pflugers Arch.* 451, 61–71.

## Résumé - Summary

Longtemps considérés comme cantonnés aux seuls organes sensoriels de la face, les chimiorécepteurs - gustatifs, phéromonaux et olfactifs - ont été mis en évidence dans de nombreux tissus et organes, notamment le pancréas, les muscles et le cerveau. Leur étude a permis de découvrir qu'ils y jouent des rôles variés : régulation du métabolisme et de la prolifération cellulaire ou encore recrutement du système immunitaire. Cependant, au niveau cérébral, leur fonction demeure énigmatique. Ce travail de thèse s'est focalisé sur deux aspects : 1) la description systématique de tous les chimiorécepteurs d'origine rhino-laryngée au niveau du cerveau humain et 2) la caractérisation de l'expression de deux récepteurs olfactifs cérébraux chez des souris sauvages ou transgéniques mimant la maladie d'Alzheimer. À l'aide d'outils bio-informatiques et de biologie cellulaire et moléculaire, il a été permis de démontrer que :

- Les transcrits des gènes codant pour les récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs sont tous exprimés au niveau du cerveau humain, principalement au niveau du système limbique.
- Leur expression s'accompagne de celle de leurs principaux partenaires canoniques de signalisation, indiquant qu'ils sont potentiellement fonctionnels dans le cerveau.
- L'expression des ARNm des récepteurs olfactifs Olfr110/111 et Olfr544 varie dans l'hippocampe et le cortex au cours du vieillissement pathologique des souris de type Alzheimer.
- Les récepteurs Olfr110/111 et Olfr544 sont principalement exprimés par les neurones et co-exprimés, à la surface des membranes cellulaires, avec leur partenaire de transduction olfactive, la protéine  $G_{\alpha_{olf}}$ , renforçant l'idée qu'ils sont potentiellement fonctionnels.

La présence et la potentielle fonctionnalité de ces familles de récepteurs suggèrent la capacité du cerveau à sentir et goûter son monde intérieur, en conditions physiologiques et pathologiques. Il convient désormais d'étudier les rôles et les voies cellulaires dans lesquels sont impliqués les récepteurs gustatifs, phéromonaux et olfactifs. Parmi les pistes possibles, on peut citer la migration des neurones néoformés, la régulation du métabolisme cérébral ou encore l'inflammation. À plus long terme, on peut envisager de moduler l'activité de ces récepteurs et de développer des molécules thérapeutiques pour les maladies neurodégénératives.

Long-thought to be exclusively confined to the sensory organs of the face, gustatory, pheromonal and olfactory chemoreceptors have been identified in many tissues and organs, including the pancreas, muscles and brain. Herein, they can regulate cell metabolism and proliferation or recruit the cells of the immune system. However, in the brain, their functions remains unknown. My work focused on: 1) the description of all naso-laryngeal chemoreceptors in the human brain and 2) the kinetic mapping of two cerebral olfactory receptors in wild-type or transgenic mice mimicking Alzheimer's disease. Using bioinformatics tools, cellular and molecular biology, my work demonstrates that:

- The transcripts of genes encoding taste, pheromone and olfactory receptors are all expressed in the human brain, mainly in the limbic system.
- They are co-expressed with their main canonical signalling partners, indicating they are potentially functional in the brain.
- The hippocampal and cortical expression of Olfr110/111 and Olfr544 transcripts varies according the pathological stages in Alzheimer-like mice.
- Olfr110/111 and Olfr544 receptors are mainly expressed by neurons and co-expressed, at the cell membrane surface, with their olfactory transduction partner, the  $G_{\alpha_{olf}}$  protein, reinforcing the idea that they are functional.

The presence and the potential functionality of these receptor families suggest the brain is able to feel and taste its own inner world, under physiological and pathological conditions. It is of importance to further study the roles and cellular pathways in which taste, pheromone and olfactory receptors are involved. Putative functions include migration of newly formed neurons, regulation of metabolism or cerebral inflammation. Further down, it could be envisioned to identify chemoreceptor agonists/antagonists in order to treat neurodegenerative diseases.