

NEUROIMMUNOLOGY

Brain sensing of metabolic state regulates circulating monocytes

Joao Paulo Cavalcanti de Albuquerque^{1*}, Jenna Hunter¹, Rita G. Domingues^{2,3}, Erika Harno¹, Amy A. Worth¹, Fabrizio Maria Liguori^{1,4}, Aurora D'Alessio⁴, Gabriella Aviello⁴, David Bechtold¹, Anne White¹, Simon M. Luckman¹, Matthew R. Hepworth^{2,3}, Giuseppe D'Agostino^{1,3*}

Changes in energy availability alter the dynamics of circulating immune cells. The existing view is that these effects are due to altered nutrient levels affecting peripheral tissue metabolism. Here, using mice and genetic approaches to manipulate the activity of distinct molecularly defined neurons, we show that the brain's perception of hunger and satiety alone is sufficient to drive these immune changes. Hunger-promoting Agouti-related peptide (AgRP) neurons in the hypothalamus were both sufficient and necessary to reduce circulating Ly6C^{Hi} classical monocytes during fasting. Mechanistically, these neurons suppressed hepatic mammalian target of rapamycin signaling via sympathetic regulation, decreasing circulating chemokine ligand 2 and monocyte numbers. AgRP neuron-induced corticosterone release and glucocorticoid receptor activation played a permissive role in this process. These changes in monocyte dynamics can occur independently of actual nutrient levels, revealing an unexpected brain-mediated control of peripheral immunity in response to perceived variation in energy state.

Copyright © 2025 The Authors, some rights reserved; exclusive licensee American Association for the Advancement of Science. No claim to original U.S. Government Works

Aucun conflit d'intérêt 😊

Objectif et problématique

Hypothèse classique:

Les nutriments modifient directement le comportement des cellules immunitaires.

- ▶ Si tu es à jeun → tu as moins de nutriments dans le sang → ton immunité change (par exemple : moins de monocytes).

Objectif et problématique

Hypothèse de Cavalcanti:

Aucune séparation de la:

- ▶ Disponibilité énergétique réelle
- ▶ Perception cérébrale

Arguments de sa remise en question



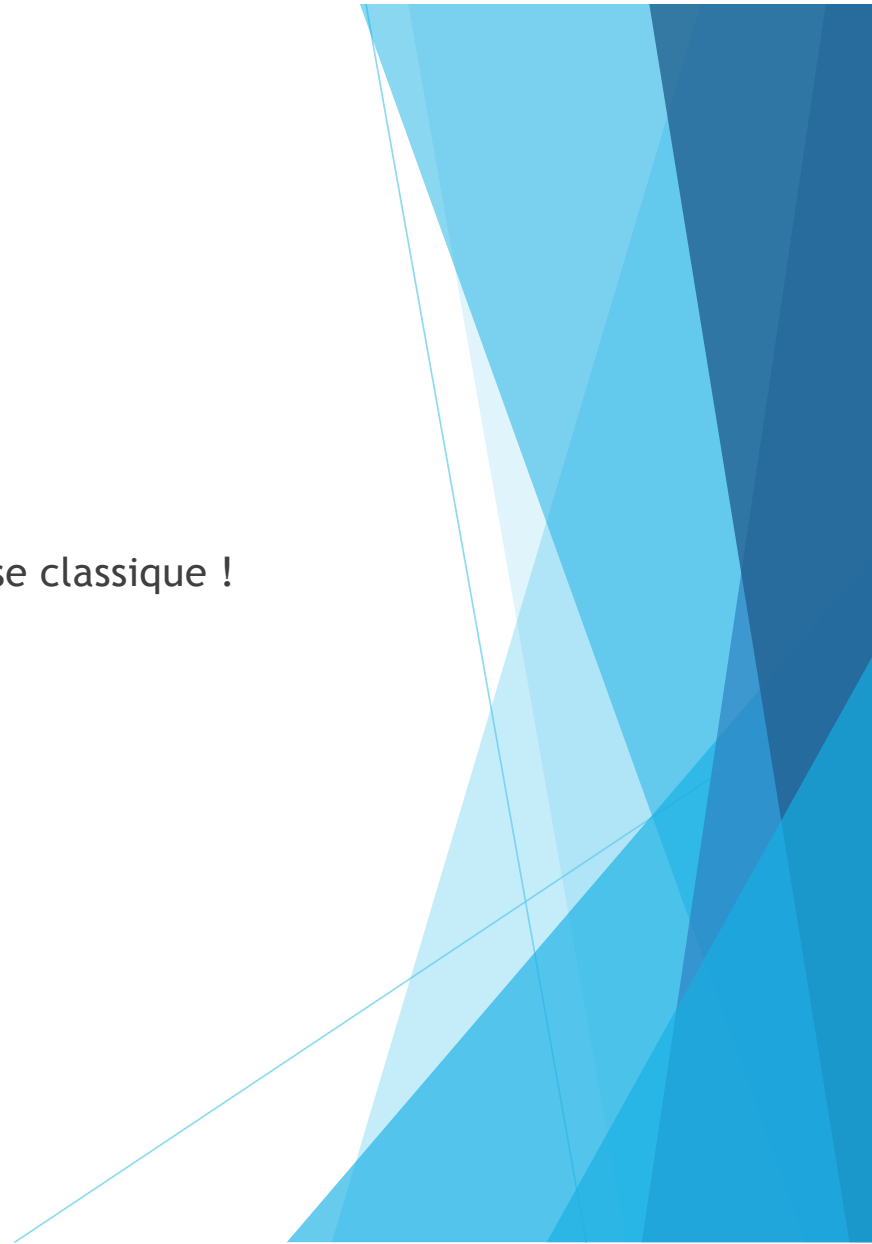
- ▶ Changements immunitaires même sans grosse baisse de nutriments
- ▶ Rôle sous-estimé du cerveau
- ▶ Hypothèse neurométabolique émergente
- ▶ Besoin de dissociation expérimentale

Objectif et problématique



Il remet en question l'hypothèse classique !

Pour se poser cette question :



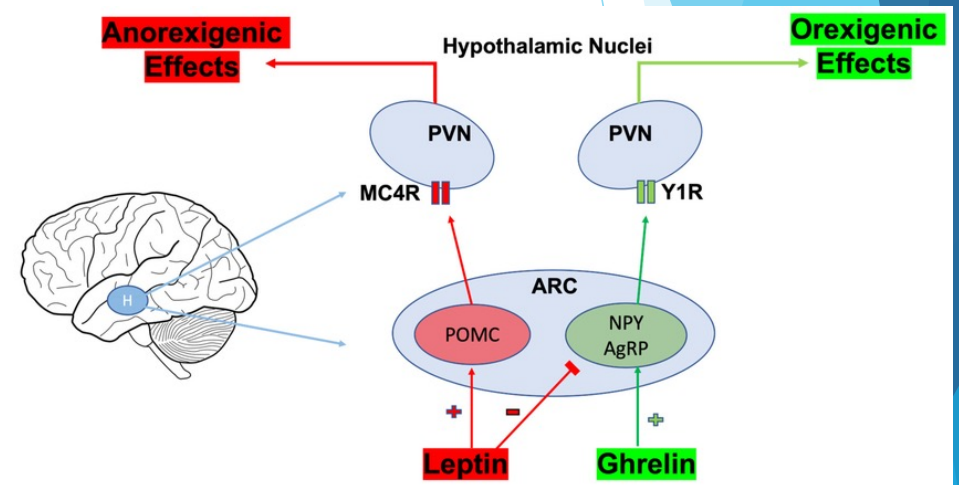


- ▶ Fasting alters leukocyte levels. But is it really the nutrients - or the brain sensing them ?
- ▶ OK, mais comment s'y prendre ? Qui est le candidat idéal ?

Système mélanocortinergique

AgRP vs POMC:

- ▶ AgRP : active la faim, activé pendant le jeûne
- ▶ POMC : active la satiété, activé après un repas
- ▶ Ces neurones influencent aussi l'immunité via foie et hormones



Le point d'entrée idéal

- ▶ Dissociation de la disponibilité en nutriments de notre perception cérébrale



Méthode principale



Manipulation génétique des neurones (trans / chimiogénétique)



Indépendamment de l'état de jeûne réel



Etats de faim ou de satiété artificiel **INDÉPENDAMMENT** de la disponibilité énergétique systémique



Perception cérébrale VS disponibilité réelle d'énergie.

Méthode	Chimiogénétique (hM3Dq + CNO)	Optogénétique (Channelrhodopsin)
Mode d'activation	Par injection d'un ligand (CNO)	Par stimulation lumineuse (laser/LED via fibre optique)
Durée d'activation	Prolongée (minutes → heures)	Très brève et contrôlable (ms à s)
Précision temporelle	Faible (effet lent à apparaître, mais durable)	Très haute (contrôle immédiat ON/OFF par la lumière)
Invasivité	Pas besoin d'implant optique → moins invasif	Nécessite implantation chirurgicale d'une fibre optique dans le cerveau
Praticité in vivo	Facile à activer par simple injection systémique	Nécessite appareil optique et connexion à l'animal
Pertinence physiologique	Mimique mieux la modulation lente et prolongée d'un état naturel (ex. jeûne prolongé)	Stimulus court, non représentatif d'une activation physiologique soutenue
Echelle spatiale	Activation globale des neurones AgRP exprimant hM3Dq	Activation locale et ciblée par la lumière à l'endroit illuminé
Pourquoi choisi ici ?	Permet d'activer les neurones AgRP de manière prolongée et diffuse, reproduisant la faim (effet "jeûne")	L'optogénétique aurait donné une activation trop intense, non physiologique, et exigé une chirurgie invasive

Résultats principaux (spoiler alert)

L'activation des neurones AgRP suffit à reproduire les effets immunomodulateurs du jeûne, en réduisant le nombre de monocytes Ly6C^{Hi} circulants.

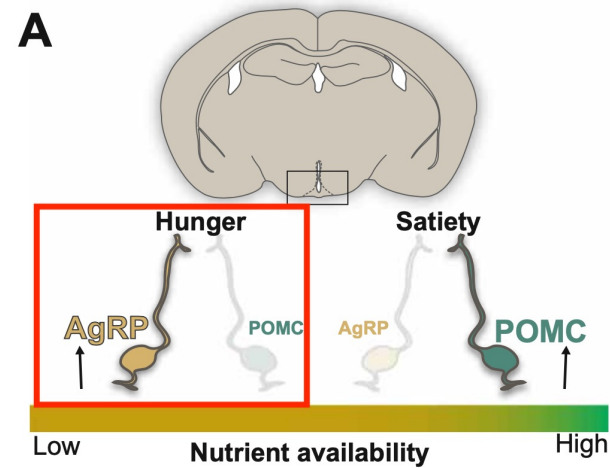
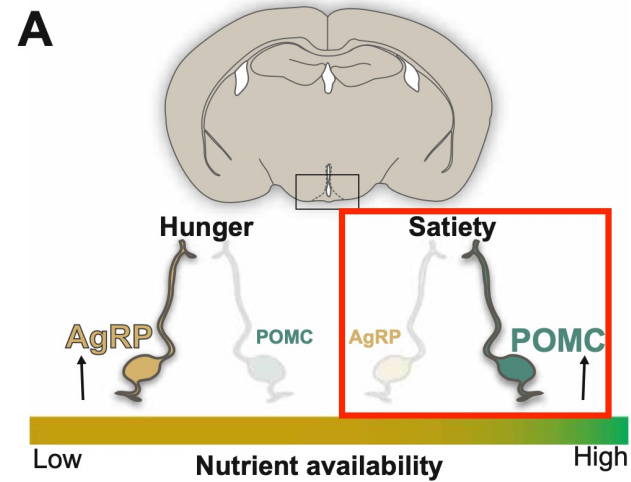
Ces neurones sont :

- **Nécessaires** et **suffisants** pour réguler ces monocytes,
- Agissent via deux axes :
 - **L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien** (HPA),
 - **Un axe hypothalamo-hépatique via le système sympathique.**

1 - Activation of hunger-promoting AgRP neurons
reduces circulating levels of Ly6C^{Hi} monocytes

EXPÉRIENCE 1

Ce qu'on sait : activation des neurones AgRP →
diminution des monocytes Ly6C^{Hi} dans le
sang (12, 13, 14-18)



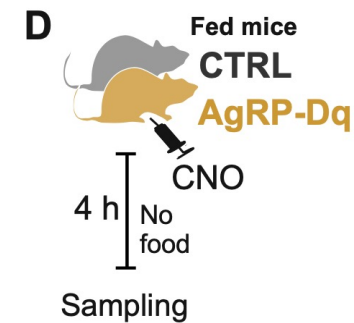
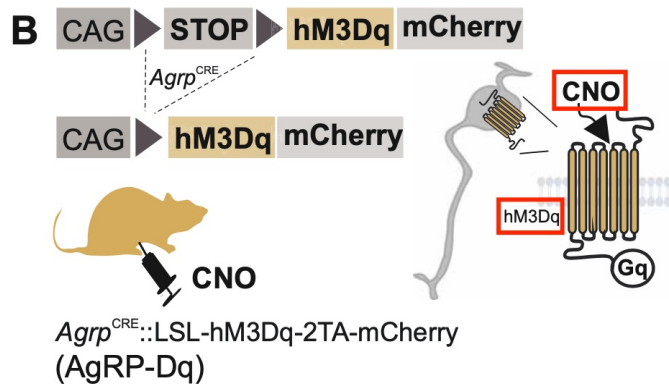
EXPÉRIENCE 1

Hypothèse : activation des neurones
AgRP → diminution des
monocytes Ly6C^{Hi} dans le sang ?

Méthode :

- AgRP-Dq mices VS CTRL
- Injection de CNO en i.p.
- Cytométrie de flux

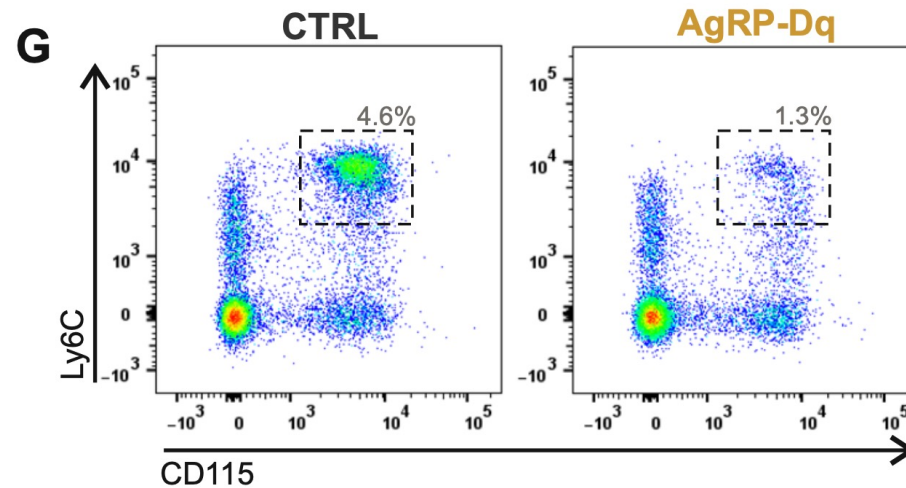
Modèle **LSL (lox-stop-lox)** → expression de hM3Dq-mCherry bloquée par une cassette STOP
floxée → supprimée chez les neurones AgRP par la Cre recombinase



EXPÉRIENCE 1

Résultats : 1) Baisse marquée et rapide des monocytes Ly6C^{Hi} (mesurée 4h après l'injection)

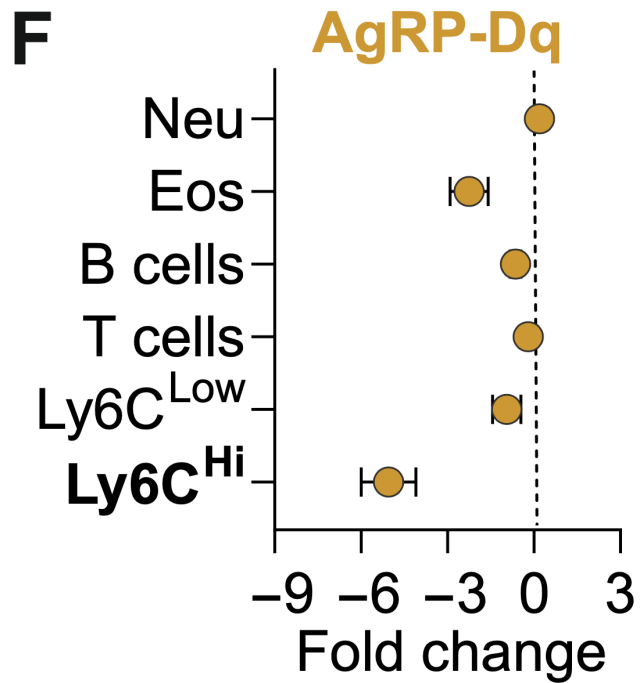
- Ly6C^{Hi} = Ag +++ = monocytes pro-inf
Ly6C^{Lo} = Ag + = monocytes patrouilleurs
- AgRP-Dq: Forte diminution des Ly6C^{Hi}
- CTRL: Non présente
- Effet dépend bien de l'activation chimogénétique mesurée 4 heures après l'injection.



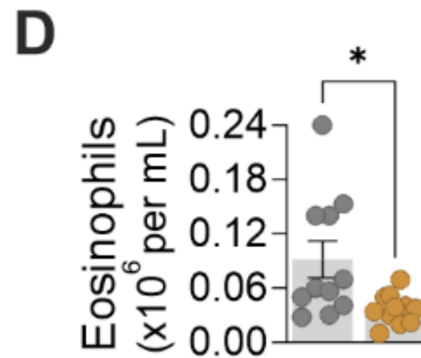
- Gating pour Ly6C^{Hi}
- CD115 – marqueur de la lignée monocytaire
- Ly6C – Ag de surface
- Ly6C^{Hi} – gating

EXPÉRIENCE 1

Résultats : 2) Légère baisse des éosinophiles (mesurée 4h après l'injection)



Les autres populations leucocytaires restent inchangées : il ne s'agit donc pas d'une leucopénie générale.

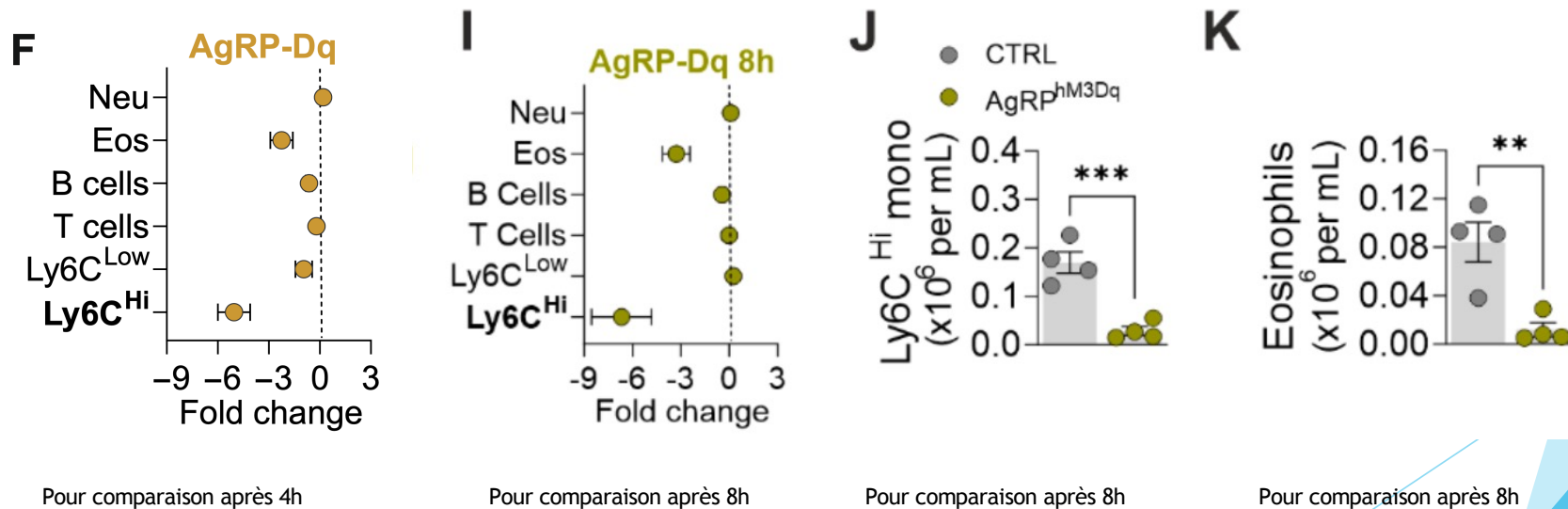


EXPÉRIENCE 1 – et les autres sous-populations leucocytaires ?

Résultats : 3) Sélectivité maintenue à 8 heures

En prolongeant l'activation jusqu'à huit heures, la réduction des Ly6C^{Hi} demeure, sans impact supplémentaire sur les autres leucocytes : l'effet est stable et spécifique

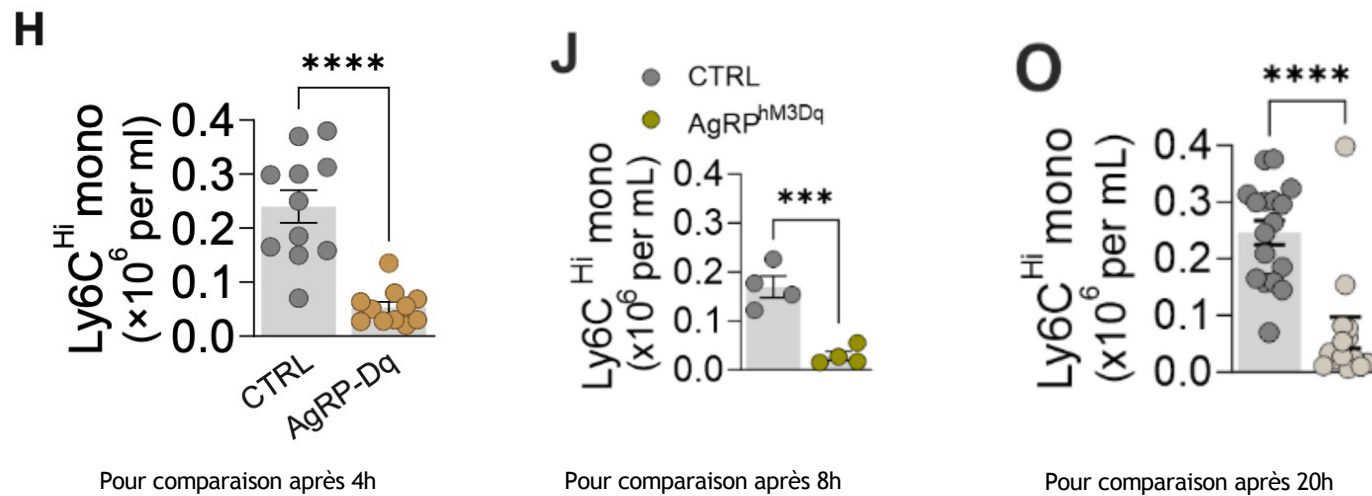
Fig. S1 – I à K



EXPÉRIENCE 1 – et les autres sous-populations leucocytaires ?

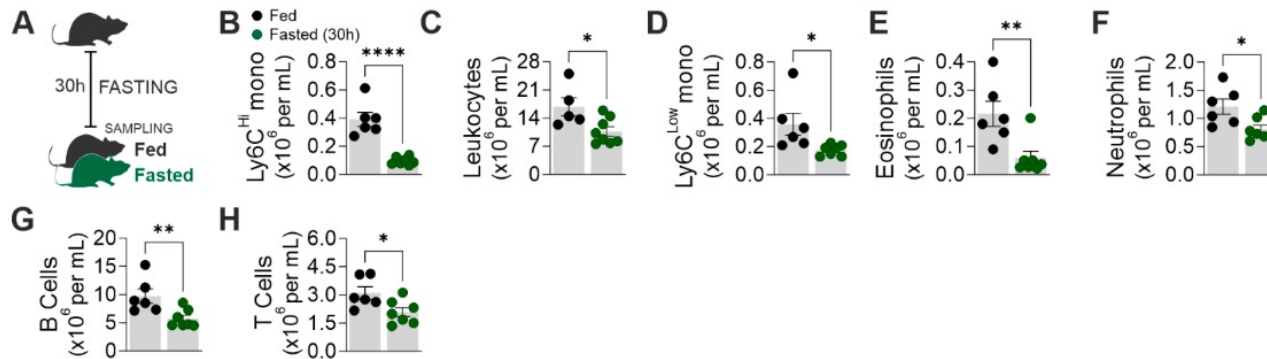
Résultats : 4) Activation aiguë des neurones AgRP (mesuré à 4h et 8h) suffit à mimer l'effet d'un jeûne de 20 h sur cette sous-population monocyttaire

Fig. 1H (4heures), S1J (8heures) et S1O (jeûne de 20h)



Side question

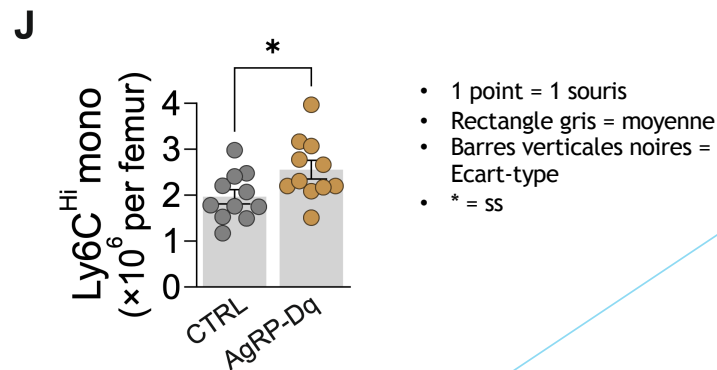
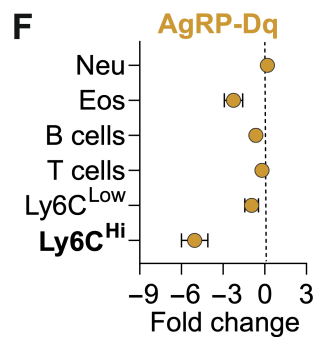
- ▶ Que se passe-t'il pour les populations leucocytaires si les souris sont à jeûn pendant 30h ?
- ▶ *We observed that extending natural fasting to 30 hours suppressed multiple leukocyte populations (fig. S3, A to H).*



OK, on a une diminution des monocytes Ly6C^{Hi}, mais où vont-ils ? MO ?

► Mécanismes suggérés:

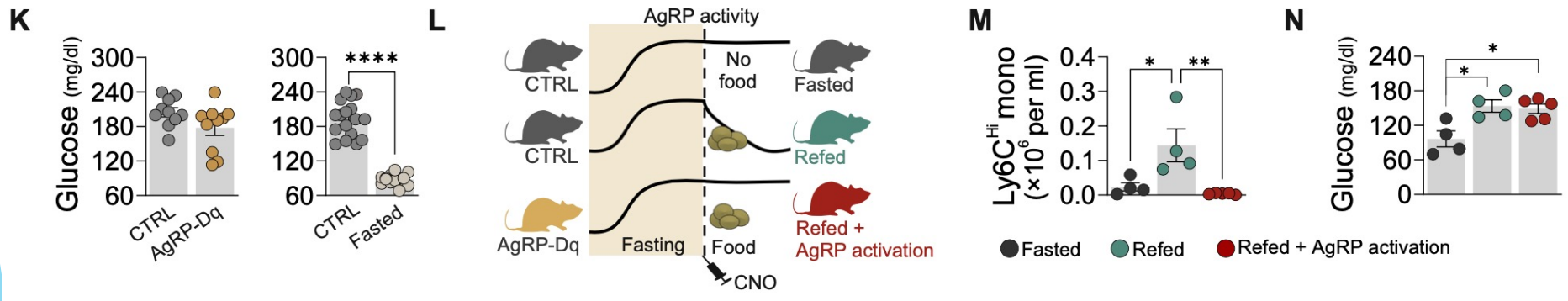
- La baisse des monocytes dans le sang n'est pas due à une destruction ou à une leucopénie générale (Fig. 1F) !
- Les monocytes Ly6C^{Hi} sont **retenus dans la moelle osseuse** (Fig. 1J)
 - Soit une diminution de leur sortie vers le sang (**egress**),
 - Soit un retour actif vers la moelle (**re-homing**),



EXPÉRIENCE 1 – Contrôle négatif de la glycémie

Objectif : écarter la glycémie comme cause directe de la monocytopenie

- Le jeûne prolongé (20 h) s'accompagne d'une hypoglycémie marquée.
- L'activation chimogénétique d'AgRP (4h) reproduit pourtant la baisse des monocytes Ly6C^{Hi} – mais sans chute de glucose.
- Démonstration dissociation « Perception cérébrale VS disponibilité réelle » → la monocytopenie n'est **pas déclenchée par un manque immédiat de substrat énergétique (glucose) circulant**, mais par un signal top-down émanant du cerveau.



EXPÉRIENCE 1 – Conclusion

- ▶ Activation des neurones AgRP suffit à mimer l'effet d'un jeûne de 20 h sur cette sous-population monocyttaire, et ce sans aucune privation calorique réelle.
- ▶ Le cerveau, via le circuit de la faim, peut donc contrôler rapidement et sélectivement l'immunité périphérique, **indépendamment des nutriments circulants**.

EXPÉRIENCE 1 – Résumé

- ▶ AgRP activation = chute de la numération monocyttaire ($\downarrow$ Ly6C^{Hi}, mimics fasting)
- ▶ Légère baisse des éosinophiles (Fig. 1E)
- ▶ Pas d'effet sur les autres leucocytes, pas de leucopénie généralisée (Fig. 1F, 1J)
- ▶ Même effet qu'après 20h de jeûne (Fig. 1I)

Side question

- ▶ On sait que: *The reduction in circulating Ly6C monocytes during fasting is transient, with refeeding increasing monocyte blood count (6, 9).*

Ma question:

Reversibility and memory of monocyte regulation

- ▶ After AgRP-induced reduction in Ly6C^{Hi} monocytes, how long does it take for monocyte levels to return to baseline after AgRP deactivation? Is this system rapidly reversible, or is there any evidence for a form of “immune memory” of this activation ?

3 points clés de la question



La **cinétique** (combien de temps dure cet effet ?)

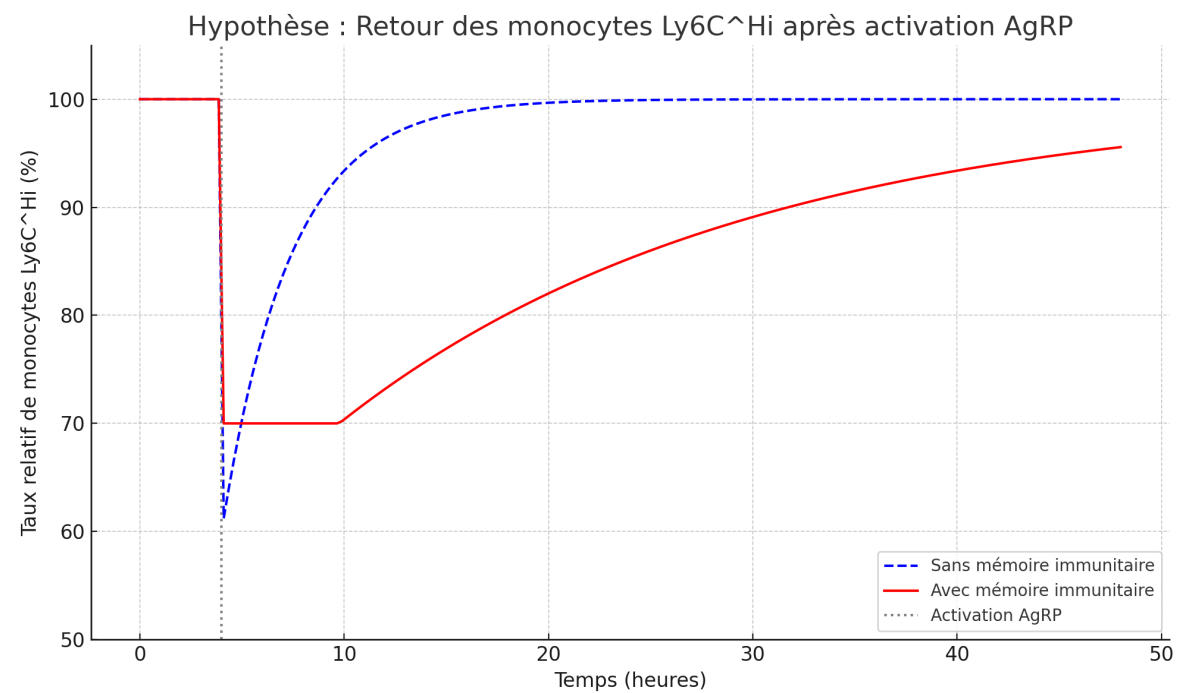


La **réversibilité** (est-ce complètement réversible ou partiellement ?)



La possibilité d'une trace prolongée → une **mémoire immunitaire** fonctionnelle.

Mon hypothèse



Impact clinique

Si tel est le cas, on pourrait mieux comprendre l'impact:

- ▶ **Jeûne intermittent répété**
- ▶ **Anorexie mentale (TCA) :**
 - ▶ Patients en jeûne chronique → activation chronique des circuits AgRP → immunosuppression prolongée → risque accru d'infections
- ▶ **Cachexie (cancer) :**
 - ▶ Perturbation de l'équilibre entre activation / inhibition des neurones AgRP / POMC

S'il existe une mémoire immunitaire liée à AgRP

- On pourrait imaginer des thérapies visant à :
 - Réinitialiser cette «mémoire»
 - Bloquer sélectivement la trace laissée par AgRP sur les monocytes
 - Accélérer la récupération immunitaire

Expérimentalement testable et transposable (à l'humain)

- ▶ **fMRI** : regarder l'activité de l'hypothalamus arqué pendant des états de jeûne ou après alimentation.
- ▶ **Dosage sanguin** : mesurer les monocytes Ly6C^{Hi} équivalents humains (classical CD14⁺⁺ CD16⁻ monocytes).

La réponse de Calvacanti

- ▶ *Great question! We are currently conducting studies on this topic, and I hope to be able to answer it on another occasion.*

Expérience activation POMC neurones (satiété artificielle)

► Hypothèses:

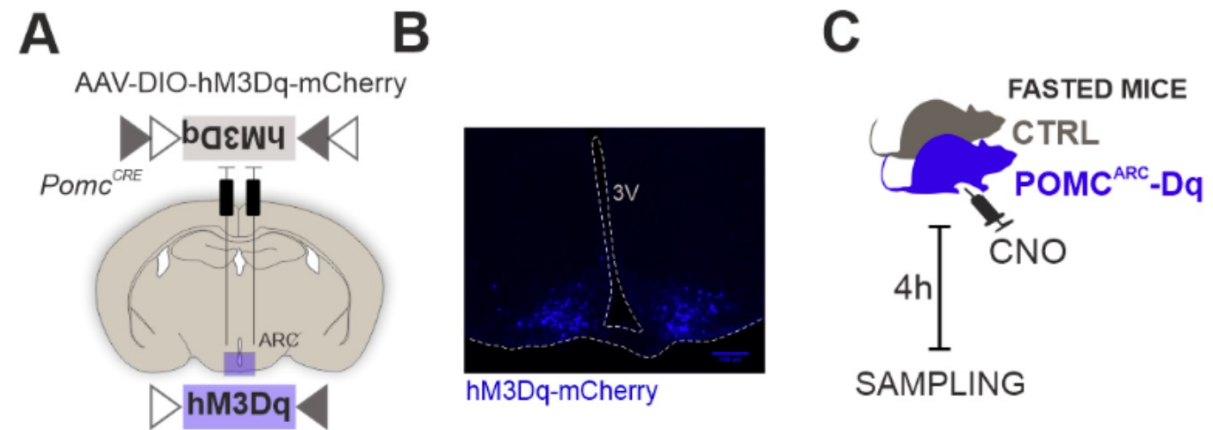
- 1) Si on active artificiellement les neurones POMC (satiété) chez une souris à jeun, peut-on annuler la baisse des monocytes Ly6C^{Hi} causée par le jeûne ?
- 2) Entre la vraie nourriture et la perception cérébrale de satiété, qui commande l'immunité ?

Expérience activation POMC neurones (satiété artificielle) - Méthode

Contexte: Souris à jeun $\rightarrow$ AgRP⁺⁺ ($\downarrow$ activité POMC) $\rightarrow$ $\downarrow$ monocytes Ly6C^{Hi}

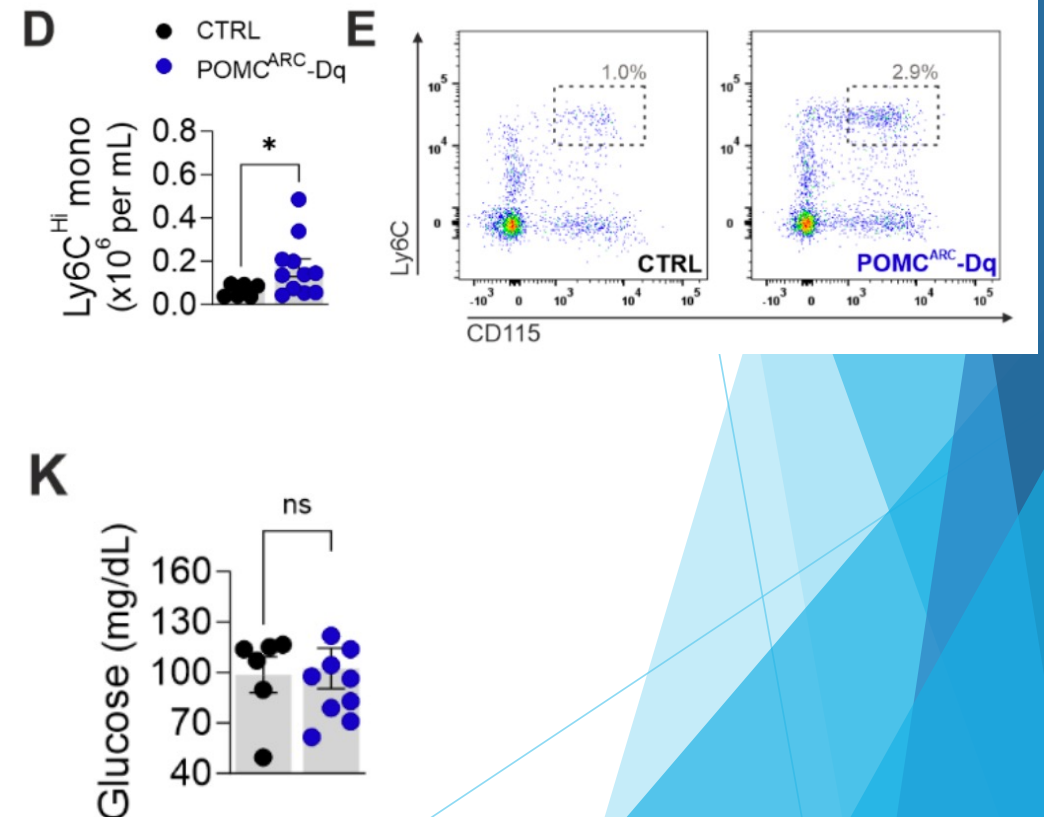
But: Activer artificiellement la satiété, même à jeun

- ▶ Souris POMC-Cre VS CTRL
- ▶ Injection AAV-hM3Dq dans l'hypothalamus
- ▶ CNO i.p. = active spécifiquement les neurones POMC



Expérience activation POMC neurones (satiété artificielle) - Résultats

- ▶ ↑ Monocytes Ly6C^{Hi} malgré l'absence de nourriture → effet cérébral seul
- ▶ Glycémie reste basse ⇒ pas d'apport énergétique réel
- ▶ “Chemogenetic activation of hypothalamic POMC neurons increased the number of circulating Ly6C^{Hi} monocytes in fasted mice despite the absence of food and unchanged fasting-induced hypoglycemia (fig. S4, D to K) ».



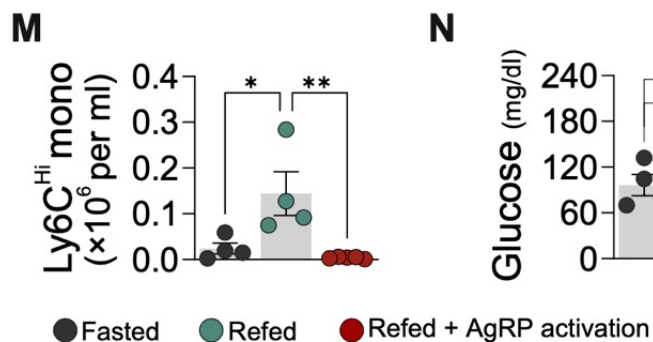
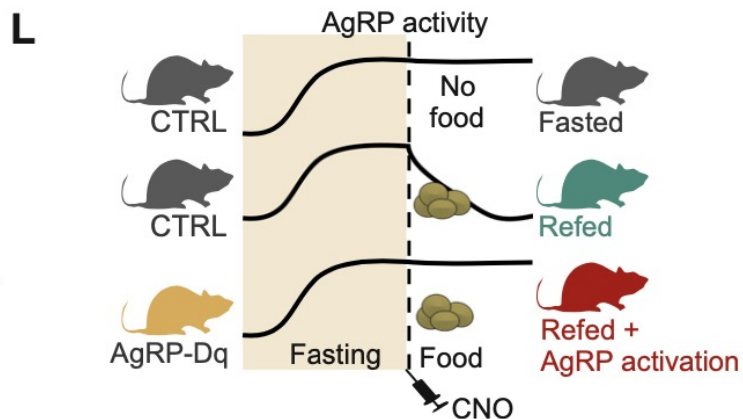
Expérience activation POMC neurones (satiété artificielle) - Conclusion

- ▶ L'activation de la satiété dans le cerveau **suffit** à inverser les effets immunitaires du jeûne.
- ▶ C'est donc bien le cerveau qui pilote l'immunité, pas uniquement la nutrition réelle.

Expérience activation AgRP neurones (faim artificielle) – Méthode + Résultats

On fait l'inverse:

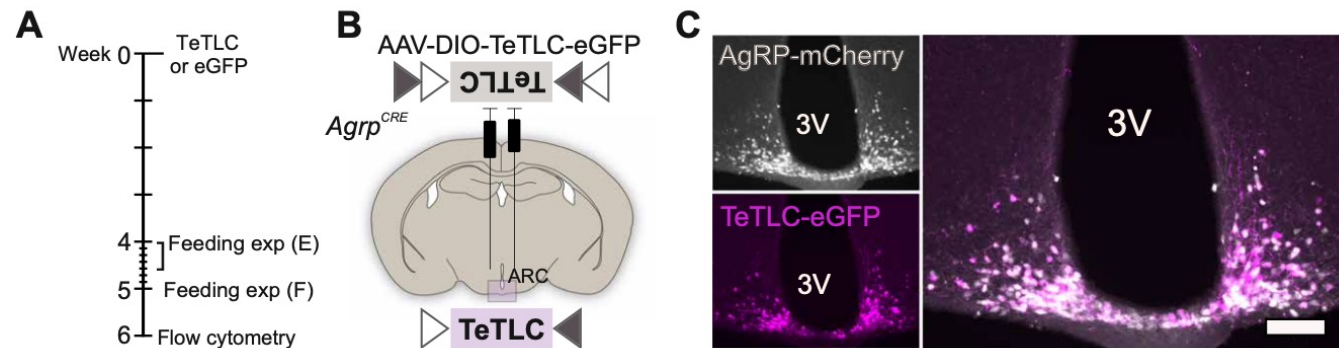
- (Expérience précédente) – si on active artificiellement les neurones POMC (satiété) chez une souris à jeun, peut-on annuler la baisse des monocytes $Ly6C^{Hi}$ causée par le jeûne ? Oui
- (Expérience actuelle) – Si on active artificiellement les neurones AgRP (satiété) chez une souris rassasiée, peut-on restaurer la numération monocyttaire $Ly6C^{Hi}$?



- 
- The background of the slide features abstract geometric shapes in various shades of blue. On the right side, there is a large, complex shape composed of several overlapping triangles and polygons. On the left side, there is a smaller, simpler blue triangle. These shapes are set against a plain white background.
- ▶ Indépendamment de l'activation chimiogénétique des neurones AgRP, la consommation d'aliments a complètement rétabli les niveaux de glucose dans le sang (Fig. 1N) → dominance perception cérébrale sur la disponibilité énergétique réelle.
 - ▶ LES NEURONES AgRP SONT SUFFISANTS !

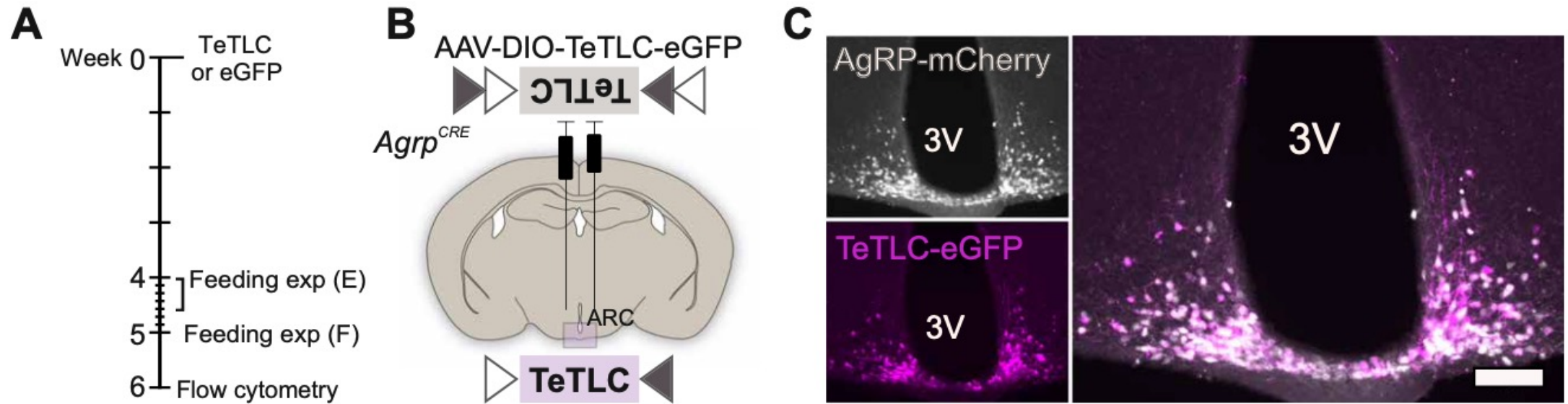
2 - AgRP neuron is required for the regulation of circulating Ly6C^{Hi} monocytes

Expérience



- ▶ Ce qu'on sait : les neurones AgRP sont **suffisants** (à eux seuls) pour réguler la [monocytes circulants Ly6C^{Hi}].
- ▶ Hypothèse: Mais sont-ils **nécessaires** ?
- ▶ Méthode: Injection stéréotaxique dans AgRP (ARC) → **gène d'origine viral = Cre**
 - ▶ Contrôlé que par promoteur du gène AgRP → Cre produit que dans neurones qui expriment AgRP → Toutes les autres cellules du cerveau ou du corps = Cre pas présent.
 - ▶ Gène Cre transcrit et traduit → enzyme nommée « **recombinase Cre** » → activer sélectivement un gène (toxine tétanique légère → inhibe la transmission synaptique (silencing)) dans un type cellulaire précis — neurones AgRP de l'hypothalamus arqué.
 - ▶ Reconnaissance séquences spécifiques d'ADN (balises) → **LoxP** → encadrent le gène TeTLC inversé → remise à l'endroit = expression possible
 - ▶ eGFP = fluo / mCherry = fluorophore





But :

- Tester si les AgRP sont **nécessaires** à la baisse [Ly6C^{Hi}]

Méthode :

- Souris transgéniques AgRP-TeTLC (inhibition synaptique → neurones AgRP inactifs)
- Souris transgéniques AgRP-mCherry (CTRL)
- (Mise à jeun pendant 20h)
- Mesure des monocytes Ly6C^{Hi}

Week 4 - BW + alimentation ad libitum

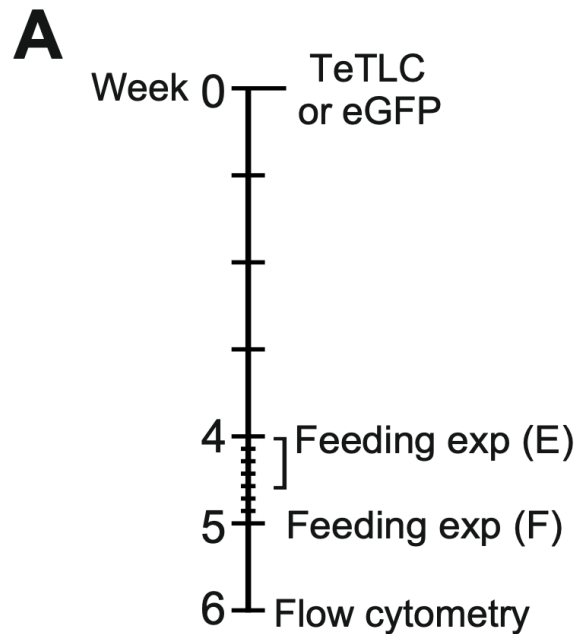
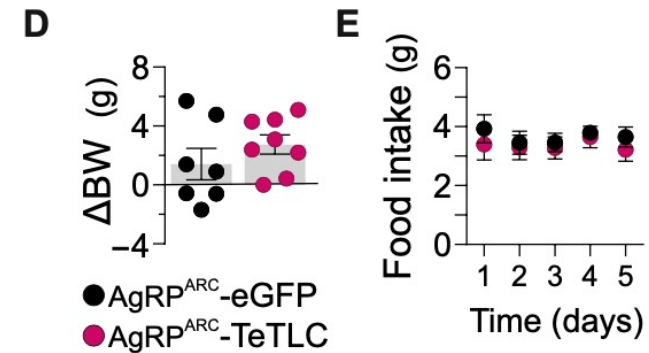


Fig. 2D: Body weight gain (Week 4)

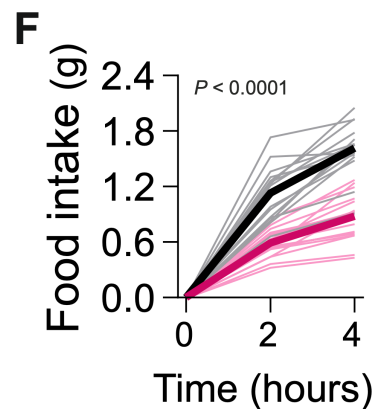
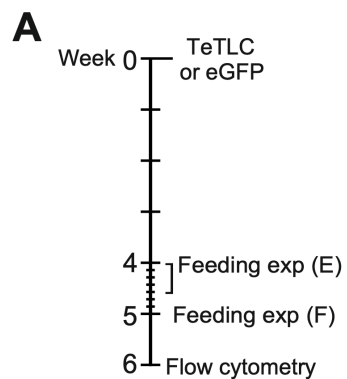
- Aucune différence significative ΔBW
- AgRP ne sont pas nécessaires à la prise alimentaire normale quotidienne.

Fig. 2E: consommation ad libitum (W4 - 5j)

- Aucune différence significative
- Inactivation des neurones AgRP n'empêche pas la prise de poids normale sur le long terme.



Week 5 - Consommation après jeûne



Méthode:

- A jeun pendant 1 nuit
- Refeeding après jeûne nocturne

Résultats:

- TeTLC mangent nettement moins après le jeûne.

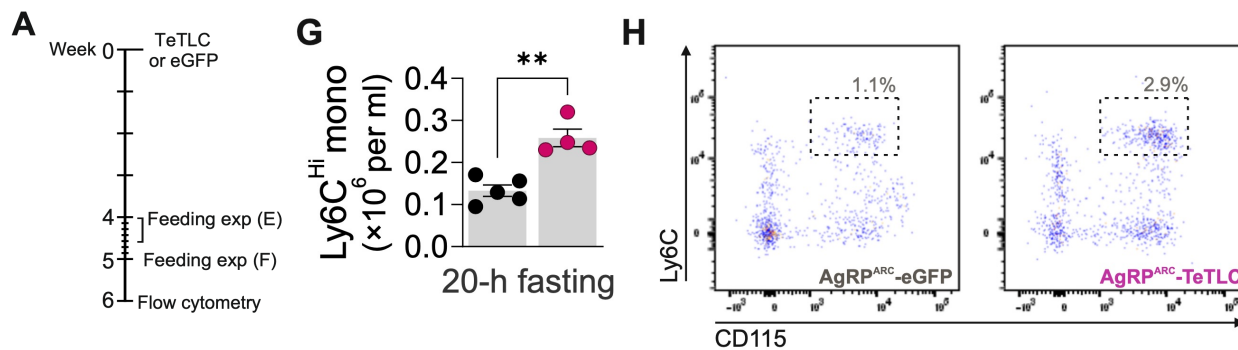
→ Les neurones AgRP sont indispensables pour déclencher la prise alimentaire **post-JEÛNE**.

Interprétations

Ces deux expériences ont été conçues pour tester la **nécessité** des neurones AgRP dans deux contextes :

- E = condition normale (basale) : pas besoin d'AgRP pour se nourrir.
- F = condition de faim (jeûne) : AgRP **indispensables**.

Suite de l'expérience



- Méthode: prolonger le jeûne (pas de 4h mais de 20h)
- Résultats: Les souris avec AgRP inhibés (TeTLC) n'ont **pas de baisse des monocytes** malgré le jeûne.
- Interprétations: Les neurones AgRP sont **nécessaires** à cette réduction.
- Jeûne $\rightarrow$ AgRP ++ $\rightarrow$ $\downarrow$ [Ly6C^{Hi}]

Expérience - Rythme circadien

Ce qu'on sait :

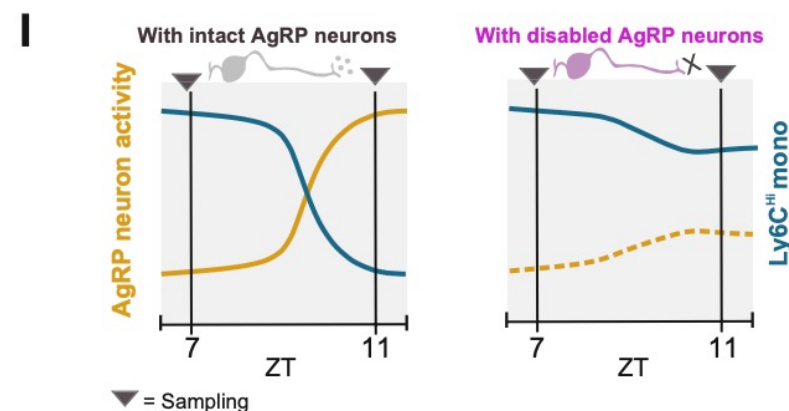
- En condition d'alimentation ad libitum, l'activité des neurones AgRP augmente le soir (chez la souris, nocturne), juste avant les repas (21, 24).
- [Ly6C^{Hi}] présentent une variation inverse → diminuent le soir.

Hypothèse: RC altéré si AgRP inhibés ?

Résultats et interprétation:

- Altération de la variation monocyttaire

→ Neurones AgRP régulent le rythme naturel des monocytes circulants.



Preuve supplémentaire que les AgRP neurones :

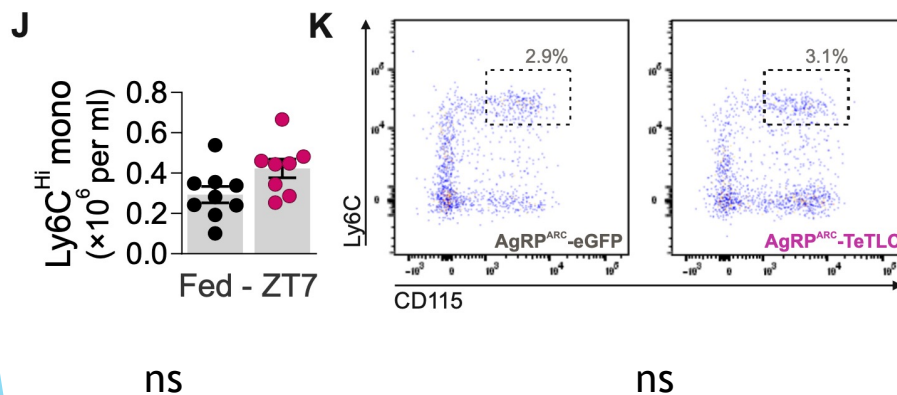
- ne sont pas (peu) actifs en situation basale
- mais bien en situation à jeûn

Méthode:

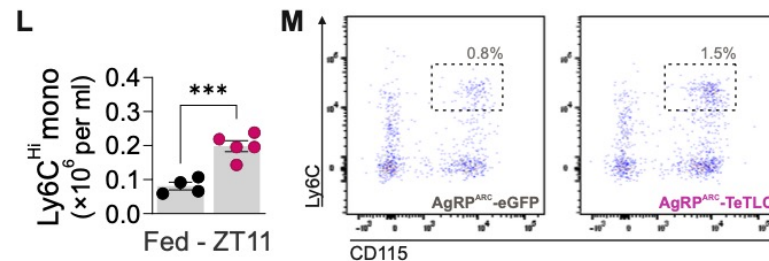
- Souris AgRP^{ARC}-eGFP + Souris AgRP^{ARC}-TeTLC
- Pas à jeûn

Résultats:

- Activité faible des AgRP à ZT7 (milieu de phase lumineuse, vers midi)
- [Ly6C^{Hi}] à son paroxysme



Conclusion: si pas à jeûn → neurones AgRP pas actifs → donc leur inactivation n'a pas d'effet sur les monocytes Ly6C^{Hi}.



Souris normale (eGFP) :

- En fin de journée, AgRP +++ → ↓ monocytes Ly6C^{Hi}.

Chez souris AgRP-TeTLC :

- AgRP inactifs → pas d'effet top-down → les monocytes ne diminuent pas.

→ neurones AgRP régulent le rythme immunitaire de façon physiologique, même sans jeûne !

Conclusion

Neurones AgRP sont à la fois **suffisants** et **nécessaires** pour la régulation des monocytes Ly6C^{Hi} en réponse :

- Au jeûne
- Au rythme circadien (avant l'alimentation nocturne)



3 - A hypothalamus-to-liver axis controls circulating Ly6C monocyte levels via sympathetic regulation of hepatic mTOR signaling

Expérience 3 : AgRP → foie → CCL2

Ce qu'on sait:

- ▶ L'activation des neurones AgRP hypothalamiques diminuent la numération monocytaire (6).
- ▶ Le jeûne diminue les niveaux plasmatiques de **CCL2** chez la souris et l'humain (6).
 - ▶ Jeûne → **AgRP ++** → diminution de la [Ly6C^{Hi}]
 - ▶ Mais aussi.. Jeûne → diminution de la [CCL2]

Expérience 3 : AgRP → foie → CCL2

Objectif :

- ▶ Identifier comment les neurones AgRP réduisent les monocytes Ly6C^{Hi} → via la régulation de CCL2 (chimokine mobilisant les monocytes) ?

Méthode :

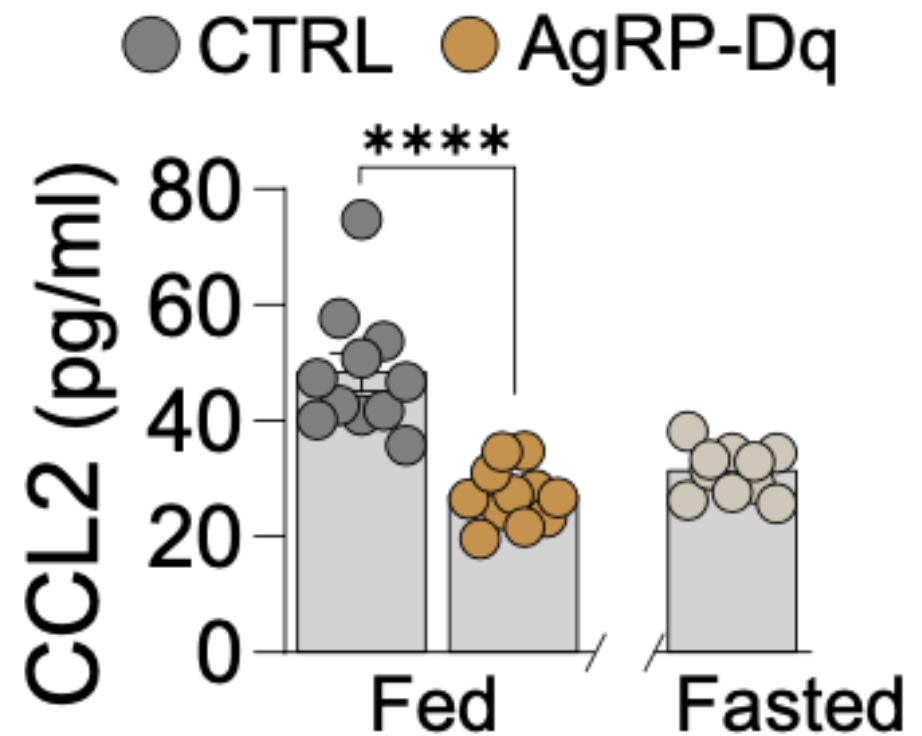
- Activation chimogénétique des neurones AgRP chez souris nourries
- Mesure du taux plasmatique de CCL2

CCL2 est une chimiokine essentielle à la sortie des monocytes Ly6C^{Hi} de la moelle osseuse (via son récepteur CCR2)

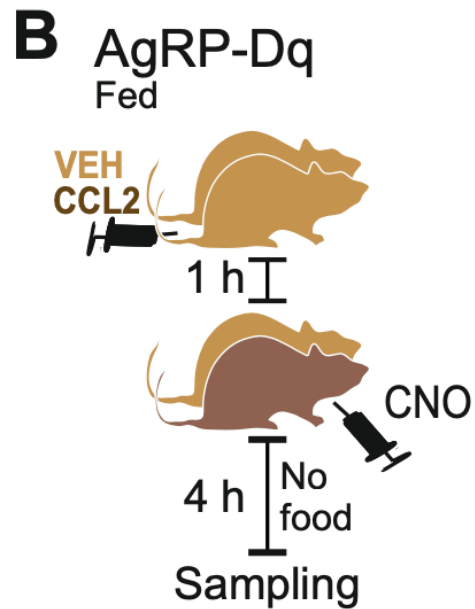
Résultats

- ↓ CCL2 plasmatique après activation d'AgRP
- Comparable à la baisse induite par 20h de jeûne
- Interprétations: il y a une corrélation ($\neq$ cause-effet) entre l'activation AgRP et la diminution de CCL2

A



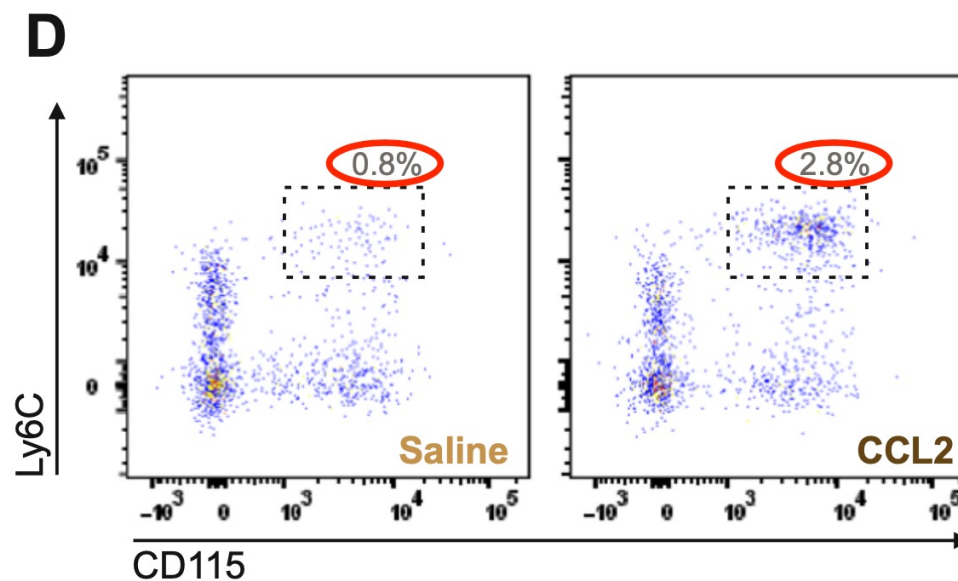
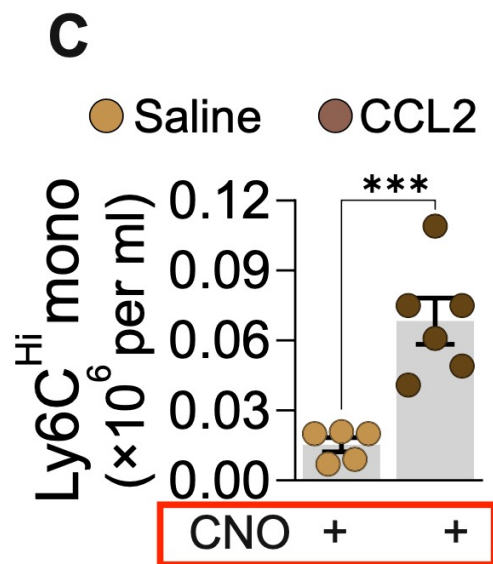
Relation causale !



- ▶ On observe / hypothèse : diminution CCL2 = diminution des monocytes ?
- ▶ Méthode:
 1. On utilise des souris AgRP-Dq, donc :
 - Les neurones AgRP peuvent être activés à volonté avec CNO (chimiogénétique).
 2. 1 heure avant d'activer les neurones AgRP, on injecte :
 - Soit un véhicule (solution saline),
 - Soit du CCL2 recombinant (forme exogène, injectée).
 3. Ensuite, CNO est injecté pour activer les neurones AgRP.
 4. On attend 4 heures, puis on mesure les monocytes Ly6C^{Hi} dans le sang.

Résultats

- CNO (AgRP++) + Saline : activation d'AgRP → ↓ CCL2 → monocytes diminuent
- CNO + CCL2 exogène : CCL2 injecté → l'effet AgRP semble bloqué → Les monocytes ne baissent pas !



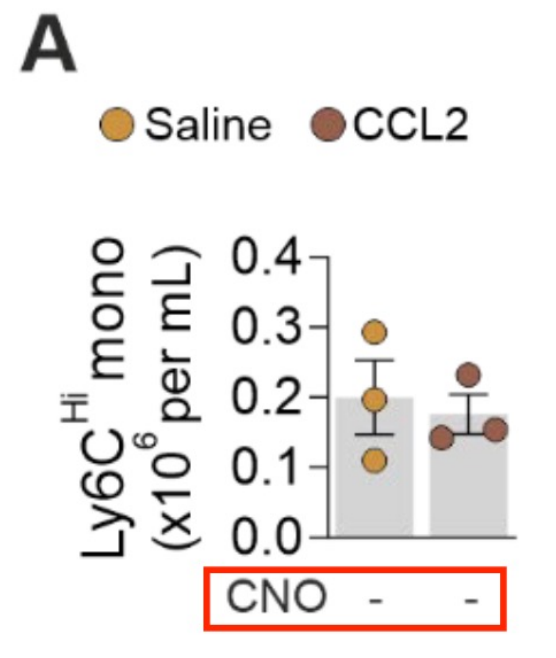
La réduction de CCL2 est **nécessaire** pour l'effet immunitaire des neurones AgRP

Petit apparté - Fig. S5A

- Injecter du CCL2 tout seul (sans activer les neurones AgRP avec CNO) → ne change PAS le nombre de monocytes Ly6C^{Hi}.

Si le CCL2 exogène baissait ou augmentait les monocytes tout seul, alors il aurait un effet direct, indépendant.

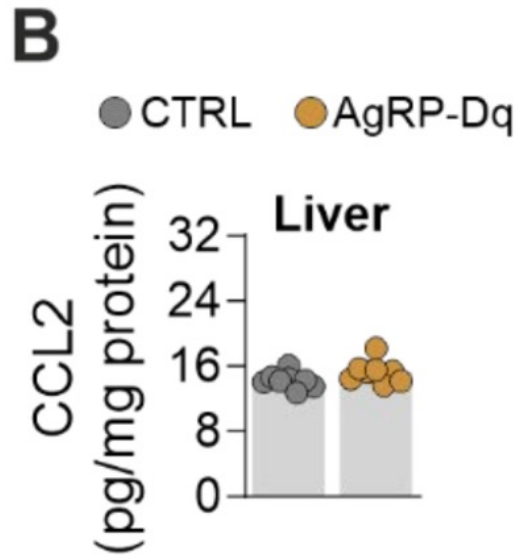
- Auteurs: montrer que CCL2 est nécessaire uniquement pour bloquer l'effet d'AgRP, et pas qu'il agit seul.



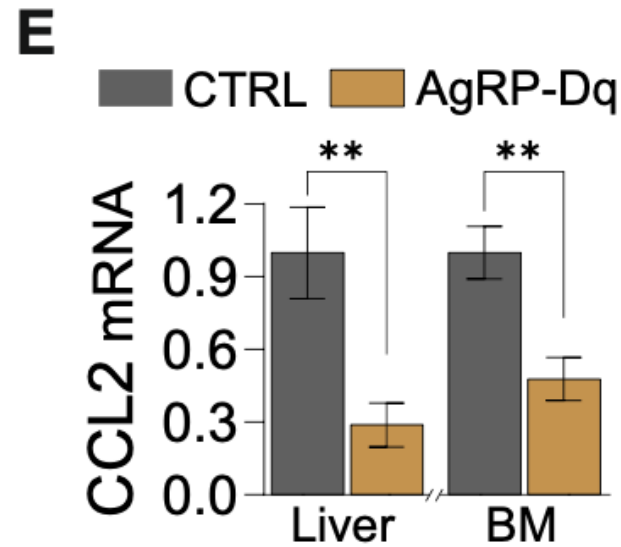
OK, mais pourquoi CCL2 agit lorsque les neurones AgRP sont activés, mais pas quand il est injecté seul ? Voici une explication

- ▶ "L'absence d'effet de CCL2 seul est un point intéressant : elle suggère qu'en conditions basales, la moelle osseuse est déjà sous l'influence d'un taux suffisant de CCL2 pour maintenir une mobilisation constante. Il faudrait un signal central (comme l'activation d'AgRP ou un stress) pour créer un **besoin de mobilisation**, auquel CCL2 pourrait alors répondre. Ce modèle reste à explorer."

Pourquoi tester le foie ? Fig. S5B et 3E



Taux de protéine CCL2 hépatique inchangé → foie ≠ source directe de CCL2



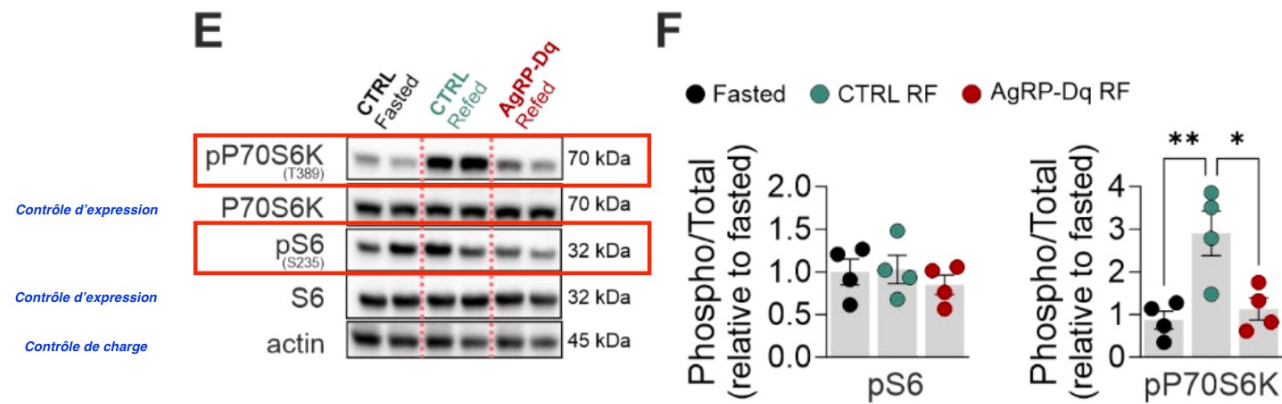
Activation des neurones AgRP diminue l'expression de l'ARNm de CCL2 dans le foie et la MO

Des études antérieures (6) → le “fasting secretome” hépatique régule les niveaux plasmatiques de CCL2, sans que l'on connaisse nécessairement si le foie est la source directe du CCL2. Le foie influence néanmoins le CCL2 plasmatique, par une voie indirecte foie → moelle, non totalement élucidée (6).

Voie mTOR dans le collimateur - réponse transcriptionnelle

Méthode:

- Extraction ARNm 4h après activation AgRP
- WesternBlot → mesure activité transcriptionnelle (mTOR) (Fig. S5E)
- 3 groupes: (1) à jeun, (2) réalimentées, (3) réalimentées + AgRP activés

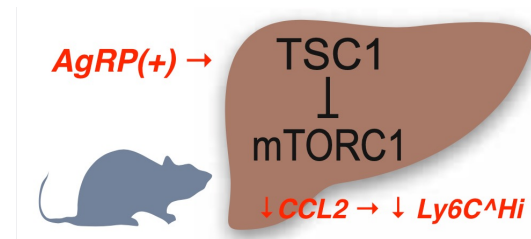


Quantification des rapports phosphorylation/protéine totale (pS6/S6 et pP70S6K/P70S6K), normalisés par rapport au groupe jeûné (Fasted).

Place à la causalité

- ▶ Les chercheurs ont observé que (corrélation) :
- ▶ Activer les neurones AgRP → inhibe mTOR dans le foie → diminue CCL2 → diminue les monocytes Ly6C^{Hi} dans le sang.
- ▶ Méthode: (prouver que mTOR est causalement impliqué)
 - ▶ Empêcher la baisse de mTOR tout en activant les AgRP → baisse monocytes ?
 - ▶ Est-ce que c'est vraiment à cause de la baisse de mTOR dans le foie que les monocytes diminuent ? Ou est-ce que c'est juste une coïncidence ?

- ▶ On a besoin :
 - ▶ 1 groupe souris avec mTOR activé perpétuellement et 1 groupe souris CTRL
 - ▶ 2) Activer sélectivement les neurones AgRP (dans les 2 groupes)
 - ▶ 3) Empêcher l'inhibition de mTOR (groupe mTOR)
- ▶ Activation artificielle neurones AgRP → activation de TSC1 → diminution mTOR → diminution CCL2 → diminution des Ly6C^{Hi} circulants



- ▶ (1) Activation artificielle neurones AgRP → activation de TSC1 (frein mTOR) → diminution mTOR → diminution CCL2 → diminution des Ly6C^{Hi} circulants
- ▶ (2) Activation artificielle neurones AgRP → **TSC1 est supprimé** → **mTOR activé perpétuellement** → augmentation CCL2 ? → augmentation des Ly6C^{Hi} circulants ?

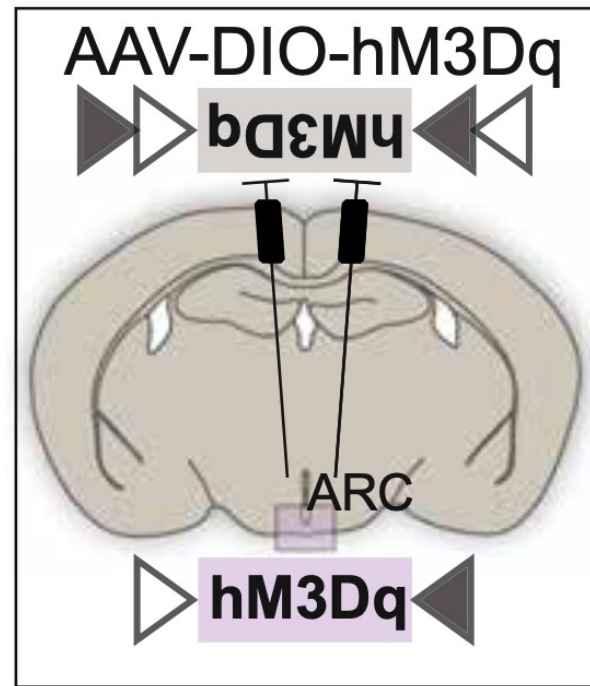
(1) Activer sélectivement les neurones AgRP

Pour les 2 groupes:

CNO → hM3Dq → AgRP activé

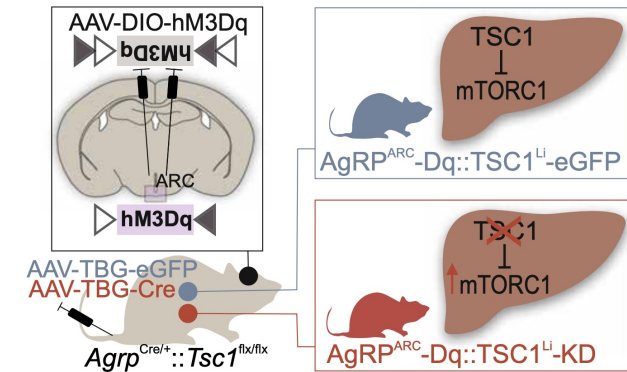
De naissance: Cre recombinase présente de naissance dans les 2 groupes

hM3Dq = interrupteur du neurone AgRP (via CNO)



(2) On veut activer perpétuellement mTOR

- ▶ Dans le groupe souris TSC1 supprimé (TSC1-KD)
- ▶ Injection intraveineuse du vecteur viral (AAV-TBG-Cre) dans la veine caudale = veine de la queue de la souris
- ▶ La circulation sanguine distribue le vecteur à tous les organes
- ▶ Pourquoi le foie « capte » l'essentiel du virus ?
 - ▶ Tropisme naturel de l'enveloppe AAV8/9 : ces sérotypes sont très efficaces pour infecter les hépatocytes
 - ▶ Les autres tissus, surtout le SNC, sont beaucoup moins permissifs et la BBB limite l'accès.
 - ▶ Cre « supprime » TSC1



Spécificité d'expression : le rôle du promoteur TBG

Élément	Fonction
Promoteur TBG (human Thyroxine-Binding Globulin)	Actif quasiment exclusivement dans les hépatocytes.
gène cargo (Cre ou eGFP)	Ne sera transcrit que là où le promoteur est actif.

- Donc : même si quelques particules virales atteignaient le cerveau, **Cre ne serait pas transcrit** car le promoteur TBG est silencieux dans les neurones et la glie.

Preuves pratiques que l'expression reste hépatique

1. Groupe témoin AAV-TBG-eGFP

1. Les auteurs (et de très nombreux papiers) ne voient la fluorescence **que dans le foie** en immunofluorescence ou en Western.
2. Pas de signal eGFP détectable dans l'hypothalamus ou d'autres organes.

2. Western blot/RT-qPCR Cre

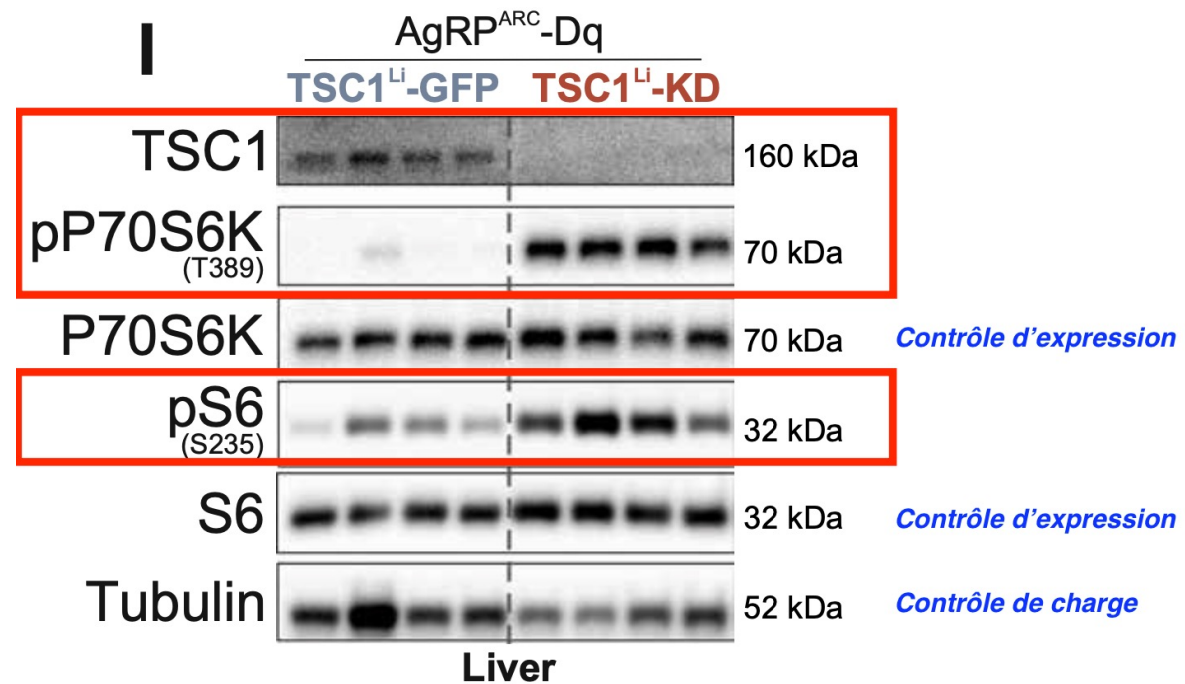
1. Signal Cre présent dans l'extrait hépatique, absent du cerveau.

3. Phénotype

1. Si Cre s'exprimait dans le SNC, il couperait aussi *Tsc1* dans bien d'autres neurones, entraînant des troubles (épilepsie, macrocéphalie) qui ne sont pas observés ici.
2. Les seules altérations métaboliques correspondent à ce qu'on attend d'un **mTOR hépatique "ON"**.

L'injection d'AAV-TBG-Cre supprime bien TSC1 dans le foie et active mTORC1

- TSC1 = frein de mTOR
- pP70S6K = marqueur d'activation de mTOR (activé si TSC1 supprimé)
- pS6 = marqueur d'activation en aval de mTOR (activé si TSC1 supprimé)



Résumé de la méthode

- **Voie d'administration** : intraveineuse, mais le tropisme + le promoteur rendent l'expression pratiquement exclusive au foie.
- **Cre n'est pas « injectée » dans le foie** : c'est l'AAV qui y entre, puis le promoteur TBG décide où Cre est transcrite.
- **Contrôle expérimental** : fluorescence eGFP, Western, absence de phénotype CNS → la Cre du virus reste bien fidèle aux hépatocytes.

Tests contrôle

Fig. 3J :

AgRP^{ARC}-Dq::TSC1^{Li}-GFP (CTRL):

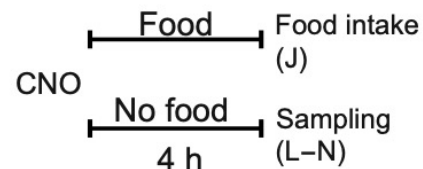
- Rc hM3Dq (CNO)
- AAV-TBG-**eGFP** (aucun effet, TSC1 intact → mTOR normal dans le foie).

1. AgRP^{ARC}-Dq::TSC1^{Li}-KD:

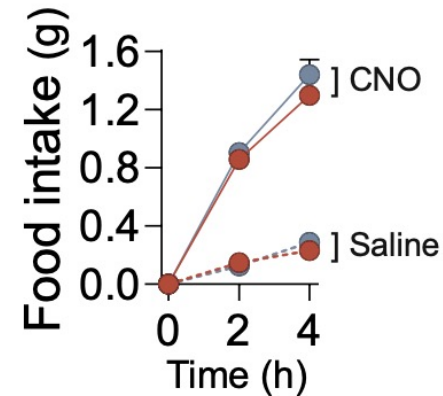
- Rc hM3Dq (CNO)
- AAV-TBG-**Cre** (Tsc1 supprimé dans le foie → mTOR activé en permanence dans le foie).

J

● AgRP^{ARC}-Dq::TSC1^{Li}-GFP
● AgRP^{ARC}-Dq::TSC1^{Li}-KD



K



L

1) Injection de CNO pour les 2 groupes → activation chimiogénétique AgRP (hM3Dq)

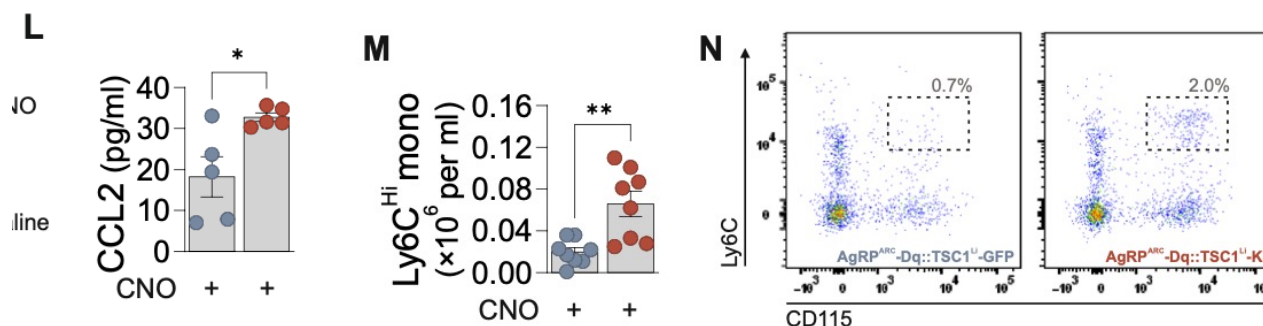
2) Division en 2 conditions:

- Food (eGFP et KD) → Fig. 3K
- No Food (eGFP et KD) → Fig. 3L, 3M et 3N

Résultats: aucune différence significative, supprimer TSC1 dans le foie n'altère PAS l'effet hyperphagique de l'activation des neurones AgRP.

Tests contrôle

- ▶ La diminution du CCL2 plasmatique induite par AgRP est atténuée (Fig. 3L) si mTOR reste activé (foie).
- ▶ La réduction des monocytes Ly6C^{Hi} est aussi atténuée (Fig. 3M et 3N) si mTOR reste activé (foie).
- ▶ Conclusion: le foie et sa signalisation mTOR sont nécessaires pour la régulation des monocytes par les neurones AgRP.
- ▶ Normalement: si AgRP++ → diminue mTOR hépatique → diminue CCL2 → empêche la sortie des monocytes Ly6C^{Hi} de la moelle → baisse des monocytes Ly6C^{Hi} circulants.
- ▶ Autrement dit: mTOR hépatique est une étape clé reliant l'activité cérébrale (neurones AgRP) à l'immunité



Quel circuit entre les neurones AgRP et le foie ?

- ▶ Le système nerveux sympathique (SNA)
- ▶ Pourquoi ?
 - Le contrôle métabolique rapide (glucose, lipolyse, activité mTOR) est principalement sous l'influence du SNS (28, 35, 36).
 - Le contrôle immunitaire (libération de chimiokines, mobilisation des monocytes) est aussi médié par le SNS (28, 35, 36).

Hypothèse: est-ce que l'inhibition de mTOR par les neurones AgRP passe nécessairement par la baisse de l'activité sympathique ?

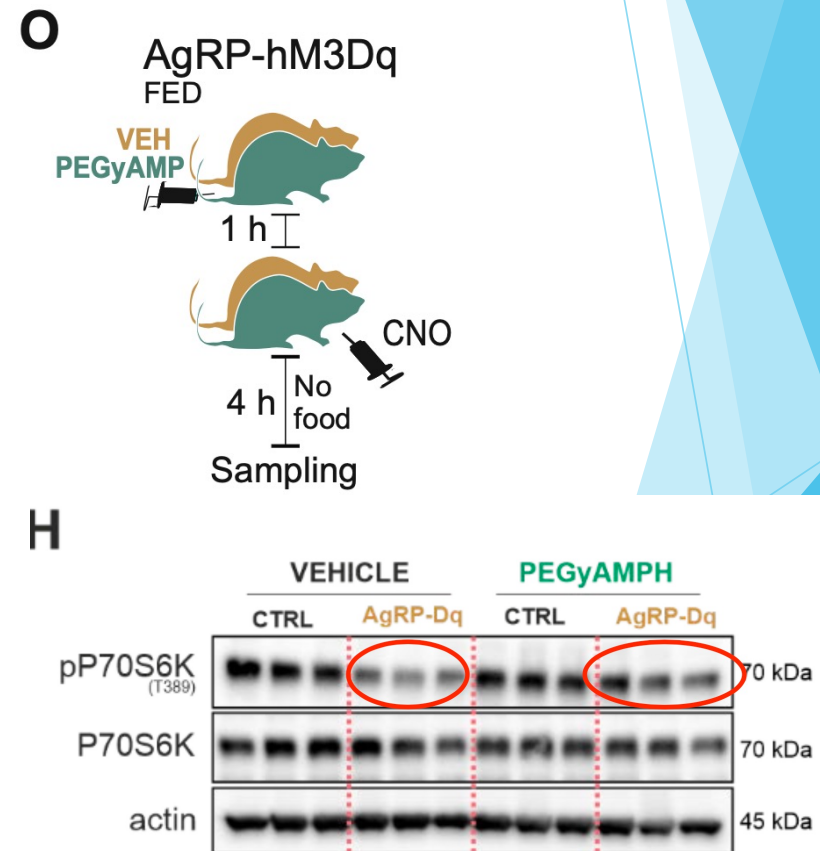
Normalement: activer les neurones AgRP $\rightarrow$ $\downarrow$ SNS $\rightarrow$ $\downarrow$ mTOR hépatique $\rightarrow$ $\downarrow$ CCL2 $\rightarrow$ $\downarrow$ Ly6C^{Hi}.

► **Méthode:**

- Activation SNS cste tout en activant AgRP
- VEH et PEGy-AMPH (SNS pér. ++ / $\otimes$ BBB)

► **Résultats:**

- PEGyAMPH empêche la baisse d'activité de mTOR hépatique provoquée par l'activation des neurones AgRP (Fig. S5H).



Résultats

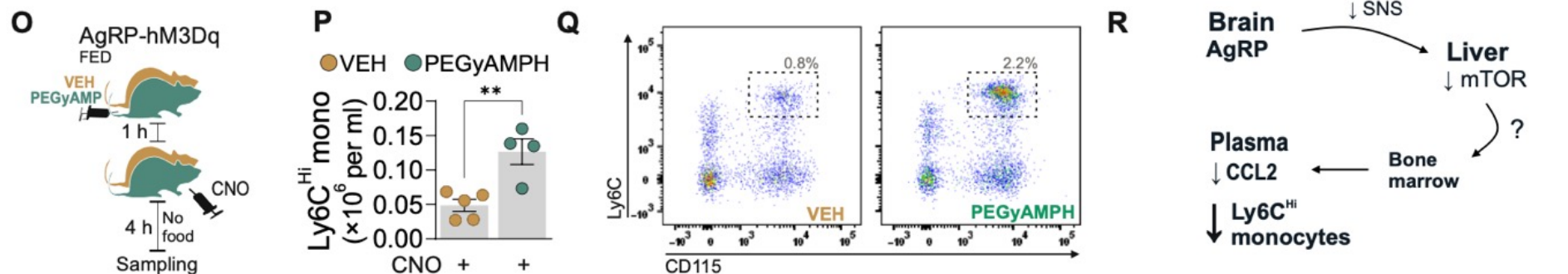


Fig. 3P :

- VEH → baisse des monocytes après activation AgRP
- PEGyAMPH → bloque cette baisse → plus de monocytes Ly6C^{Hi}

Le système nerveux sympathique agit comme un intermédiaire clé :

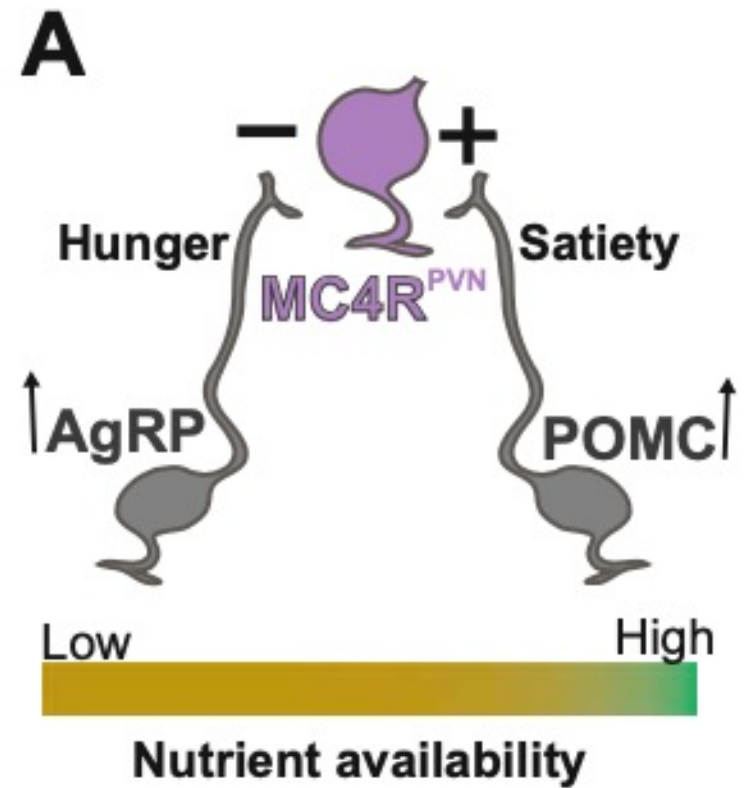
- Les neurones AgRP régulent l'activité sympathique
- L'activité sympathique régule mTOR hépatique
- mTOR hépatique régule la sécrétion de CCL2
- CCL2 contrôle la sortie des monocytes de la moelle
→ Un circuit cerveau → nerf sympathique → foie → immunité innée.

4^e partie

4 - Les voies neuronale et endocrinienne agissent en synergie pour ajuster la numération monocytaire Ly6C^{Hi} en fonction de l'état énergétique.

- ▶ Leur question: Si les neurones AgRP sont en amont, qui est en aval pour relayer le signal ?
- ▶ Les auteurs savent que:
 - Les neurones AgRP inhibent les neurones MC4R^{PVN} (Fig. 4A)
 - Les neurones POMC activent ces mêmes neurones MC4R^{PVN} (Fig. 4A)

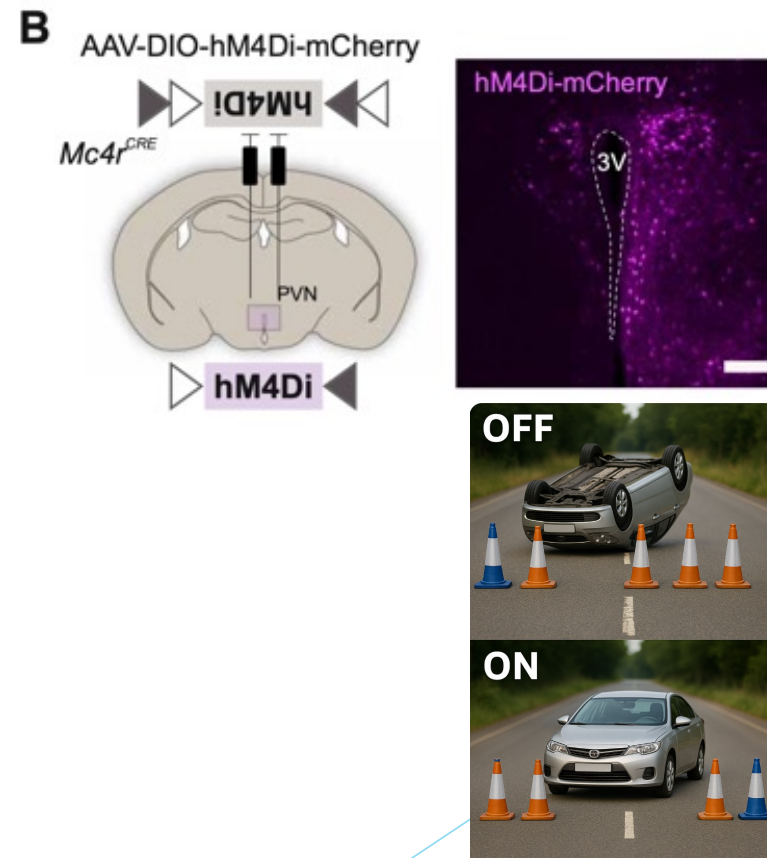
MC4R^{PVN} = candidats idéaux pour relais central de la réponse immunitaire !



Hypothèse : les neurones AgRP agissent via l'inhibition des neurones MC4R du PVN (MC4R^{PVN}) pour réguler les monocytes.

Méthode: pour savoir si la réduction de la numération monocytaire Ly6C^{Hi} induite normalement par l'activation des AgRP se produit en inhibant les neurones MC4R^{PVN}, il suffit de **bloquer sélectivement** les neurones MC4R^{PVN} – même effet qu'AgRP+ ?

- ▶ Souris MC4R^{CRE} recombinaise
- ▶ Injection vecteur viral → neurones MC4R^{PVN} → PVN de l'hypothalamus.
- ▶ AAV-DIO-hM4Di → gène hM4Di → Rc chimio génétique inhibiteur = **hM4Di**.
- ▶ CNO → Rc hM4Di → inhibition neurones MC4R^{PVN} = blocage sélectif des neurones MC4R^{PVN}

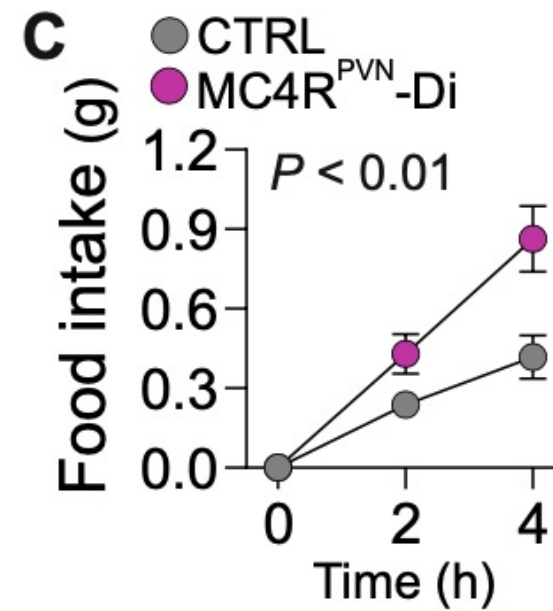


A quoi s'attendre d'un blocage sélectif des neurones MC4R^{PVN} ?

- ▶ ↑ Prise alimentaire ?
- ▶ ↓ mTOR hépatique ?
- ▶ ↓ numération monocyttaire Ly6C^{Hi} circulants ?

↑ Prise alimentaire ? OUI

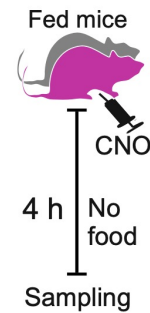
- ▶ Inhibition des neurones $MC4R^{PVN}$ ↑ prise alimentaire !
 - ▶ Effet anorexigène (contrôle de l'appétit)
- ▶ Tout comme le feraient les AgRP activés qui inhiberaient les $MC4R^{PVN}$



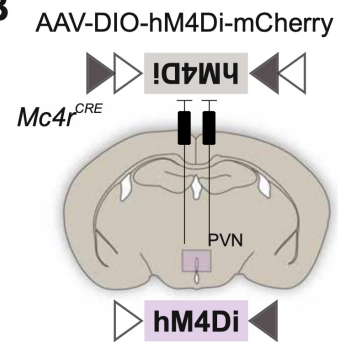
↓ mTOR hépatique ? OUI

- ▶ ↓ marqueurs de phosphorylation **p-P70S6K** et **p-S6** dans le foie chez les $MC4R^{PVN-Di}$ comparés aux CTRL = ↓ activité voie mTOR hépatique

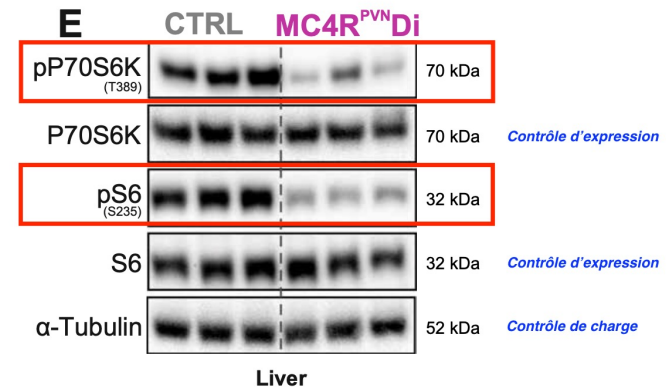
D



B



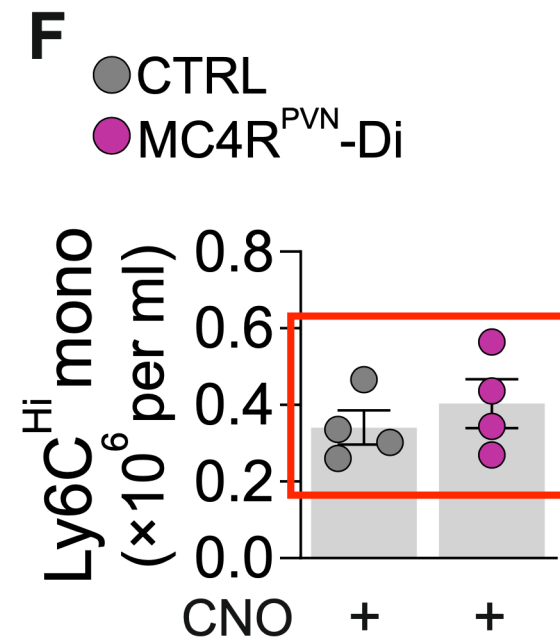
E



↓ numération monocyttaire Ly6C^{Hi} circulants ? NON

► Absolument INATTENDU de la part des chercheurs !

► Pas de baisse des monocytes Ly6C^{Hi} !



Rappel

- ▶ Activation sélective neurones AgRP → Inhibition neurones MC4R^{PVN} → ↓ numération monocyttaire Ly6C^{Hi} circulants.
- ▶ Inhibition sélective neurones MC4R^{PVN} → Aucun changement !
- ▶ Qu'est-ce que ça veut dire ? L'inhibition seule des neurones MC4R^{PVN} (et donc la baisse de mTOR hépatique) ne suffit pas à provoquer la réponse immunitaire complète observée avec les neurones AgRP.

Résumé

Inhibition des neurones MC4R^{PVN} :

- ↑ l'appétit (Fig. 4C)
- ↓ mTOR hépatique (Fig. 4E)
- Mais ne suffisent pas à baisser les monocytes ! (Fig. 4F)

A retenir : neurones MC4R^{PVN} requis mais pas suffisants à eux-seuls.

Leur vision

- ▶ Le signal neuronal depuis AgRP = $\downarrow$ [Ly6C^{Hi}]
- ▶ Mais, le signal neuronal depuis MC4R^{PVN} n'est **pas suffisant** pour déclencher la réponse immunitaire complète !
 - ▶ *Il manque donc quelque chose...*

Se posent la question: une composante endocrinienne ?

La voie endocrinienne

Les auteurices se rappellent que:

- ▶ Les glucocorticoïdes augmentent lors d'un jeûne (39, 40).
- ▶ Activation neurones AgRP $\uparrow$ [glucocorticoïdes]
- ▶ Les glucocorticoïdes sont connus pour être immunosuppresseurs (39, 40).
- ▶ **Hypothèse:** Jeûne $\rightarrow$ neurones AgRP ++ $\rightarrow \uparrow$ [glucocorticoïdes] $\rightarrow \downarrow$ [Ly6C^{Hi}] ?

En d'autres termes

- ▶ Peut-être que les glucocorticoïdes travaillent avec la voie neuronale pour induire la baisse de monocytes.

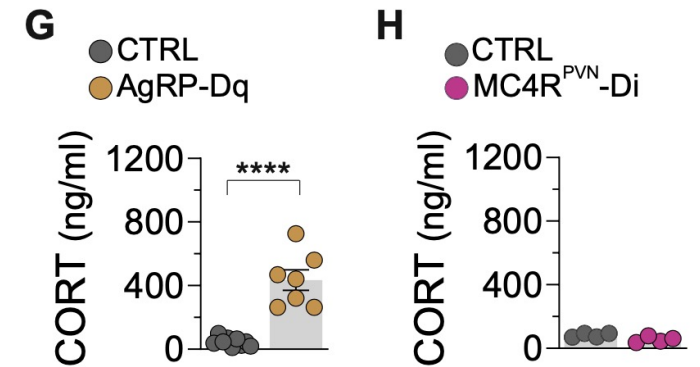
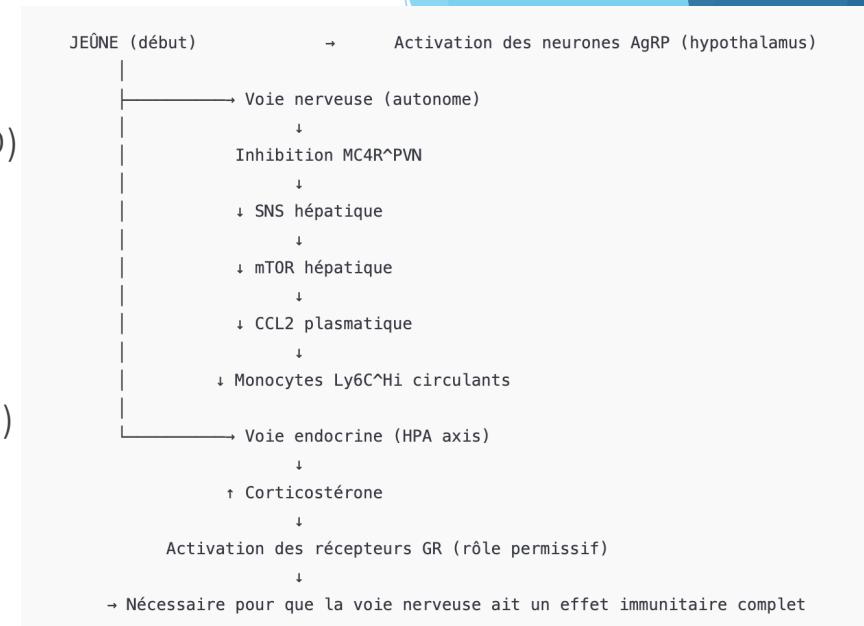
Fig. 4G :

- ▶ Activation chimiogénétique neurones **AgRP** (récepteur hM3Dq par CNO)
 - ▶ Augmentation [corticotérorone] plasmatique ! (via axe HPA)

Fig. 4H :

- ▶ Inhibition chimiogénétique neurones **MC4R** (récepteur hM4Di par CNO)
 - ▶ Aucun changement [corticotérorone] plasmatique !

→ Le signal endocrinien ne passe pas par MC4R^{PVN} !

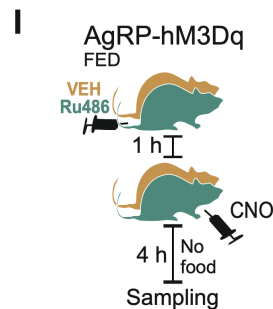
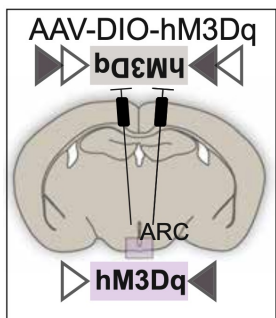


Blocage des Rc aux glucocorticoïdes

But: Est-ce que la baisse des monocytes Ly6C^{Hi} après activation des neurones AgRP dépend de l'action des glucocorticoïdes sur leur récepteur GR ?

Méthode:

- 2 groupes de souris transgéniques (VEH et RU486)
- Les 2 groupes sont AgRP^{Cre} + AAV-DIO-hM3Dq (AgRP-hM3Dq)
- **Groupe VEH:** injection systémique du solvant (i.p.) (sans molécule active)
- **Groupe RU486:** injection systémique RU486 (ant. Rc progest)
- 1h d'attente → injection systémique i.p. CNO → activation sélective AgRP neurones



Interesting fact : RU 486 (Mifépristone)

- Antagoniste des récepteurs à la progestérone. Elle est utilisée chez la femme comme abortif, pour l'avortement chimique du début de la grossesse (*Wikipédia*).



Nos attentes

► Groupe VEH :

→ Activation des neurones AgRP (par CNO) + récepteurs GR **disponibles** → **réduction des Ly6C^{Hi} circulants** → car signal endocrinien (glucocorticoïdes via GR) + signal nerveux (inhibition mTOR) fonctionnent ensemble.

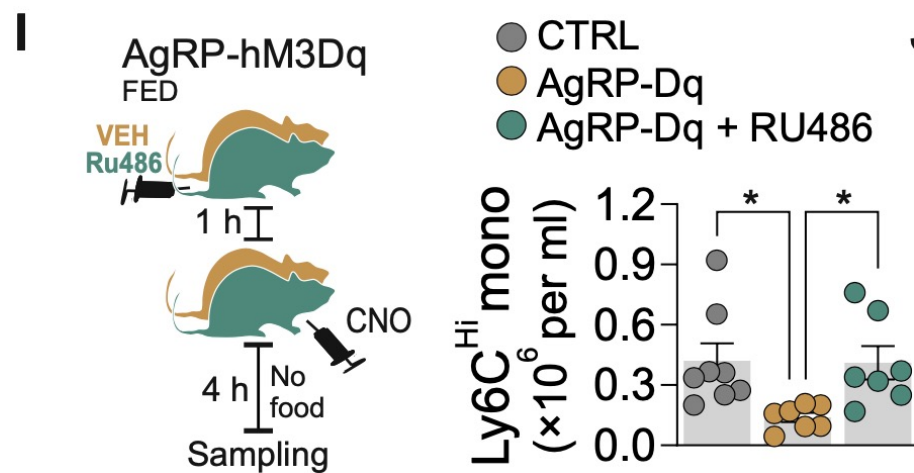
► Groupe RU486 :

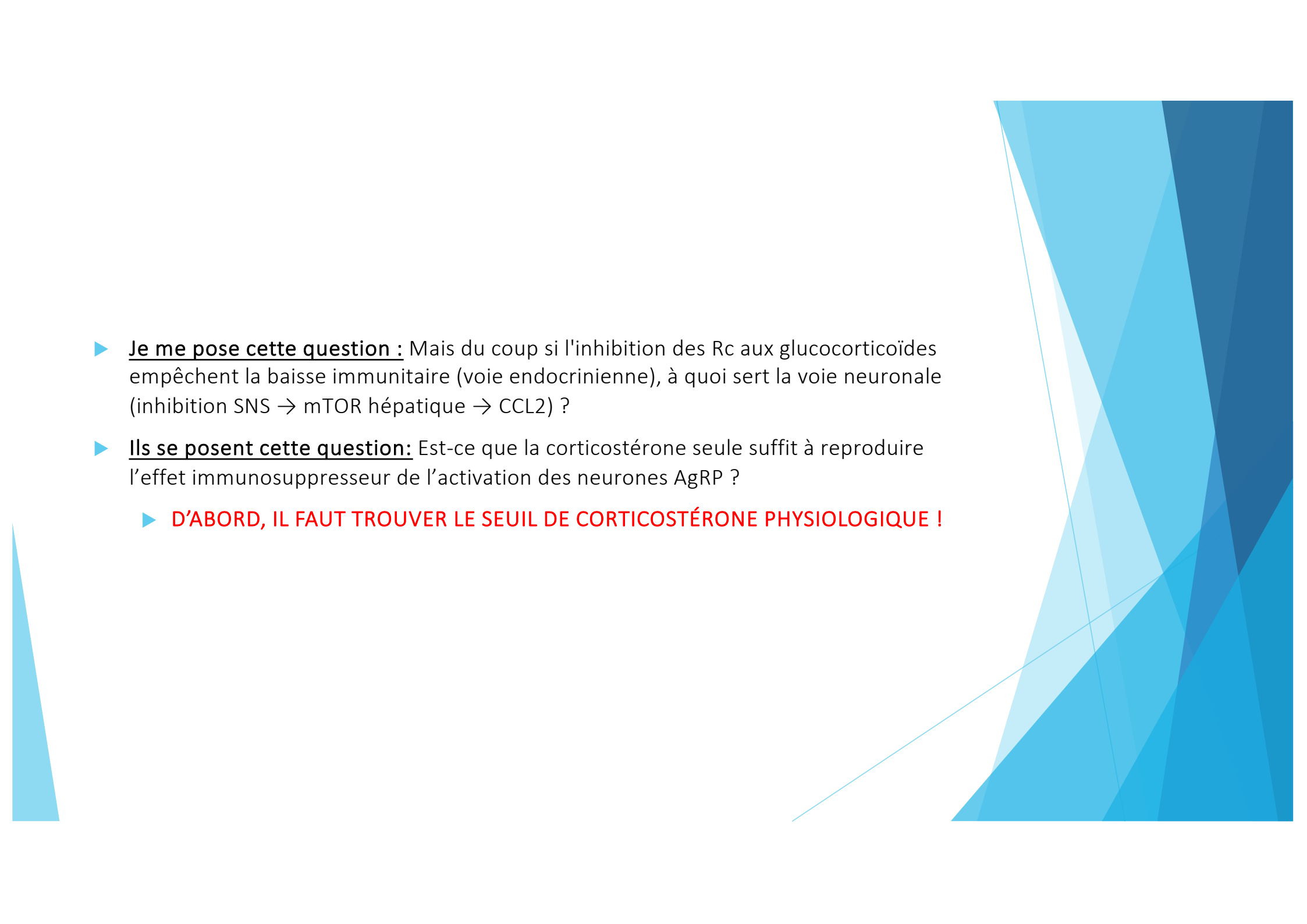
→ Activation des neurones AgRP (par CNO) + récepteurs GR **bloqués** par RU486 → **pas de réduction des Ly6C^{Hi} circulants**, car le signal endocrinien est bloqué → pas d'effet complet immunosuppresseur.

Résultats

- ▶ Groupe VEH :
→ Réduction des Ly6C^{Hi} circulants
- ▶ Groupe RU486 :
→ Pas de réduction des Ly6C^{Hi} circulants

Conclusion: le GR est **nécessaire** à l'effet immunitaire complet induit par l'activation des neurones AgRP ([Fig. 4I](#)).



- 
- The background of the slide features abstract geometric shapes in various shades of blue, including triangles and polygons, creating a modern and scientific aesthetic.
- ▶ **Je me pose cette question :** Mais du coup si l'inhibition des Rc aux glucocorticoïdes empêchent la baisse immunitaire (voie endocrinienne), à quoi sert la voie neuronale (inhibition SNS → mTOR hépatique → CCL2) ?
 - ▶ **Ils se posent cette question:** Est-ce que la corticostérone seule suffit à reproduire l'effet immunosuppresseur de l'activation des neurones AgRP ?
 - ▶ **D'ABORD, IL FAUT TROUVER LE SEUIL DE CORTICOSTÉRONE PHYSIOLOGIQUE !**

[CORT] physiologique à jeûn

CE QU'ILS ONT DÉMONTRÉ JUSQUE-LÀ : Activer les neurones AgRP → augmente la corticostérone → diminue les monocytes Ly6C^{Hi}.

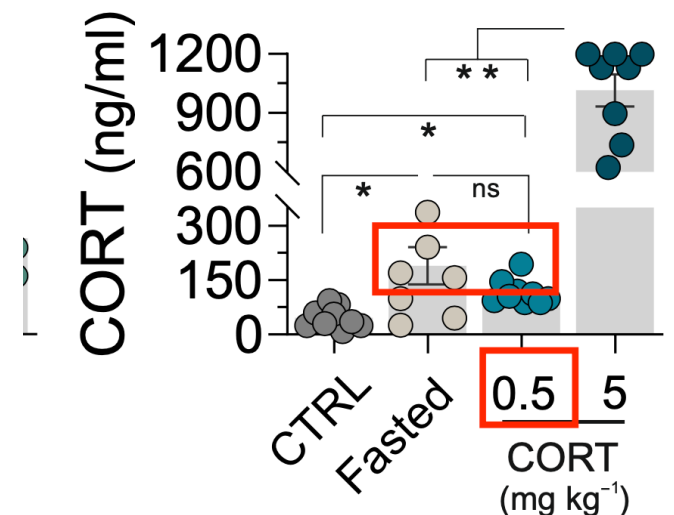
LEUR QUESTION: Est-ce que la corticostérone seule suffit à reproduire l'effet immunosuppresseur de l'activation des neurones AgRP ?

HYPOTHÈSE :

Si l'activation d'AgRP → augmente la corticostérone → réduit les monocytes Ly6C^{Hi}, alors → administrer directement de la corticostérone exogène (par injection) devrait aussi réduire les Ly6C^{Hi}. Ils testent donc si les glucocorticoïdes sont suffisants à eux seuls.

D'ABORD, IL FAUT TROUVER LE SEUIL DE CORTICOSTÉRONE PHYSIOLOGIQUE A JEUN =
[CORT] physiologique à jeûn = 0.5 mg / kg

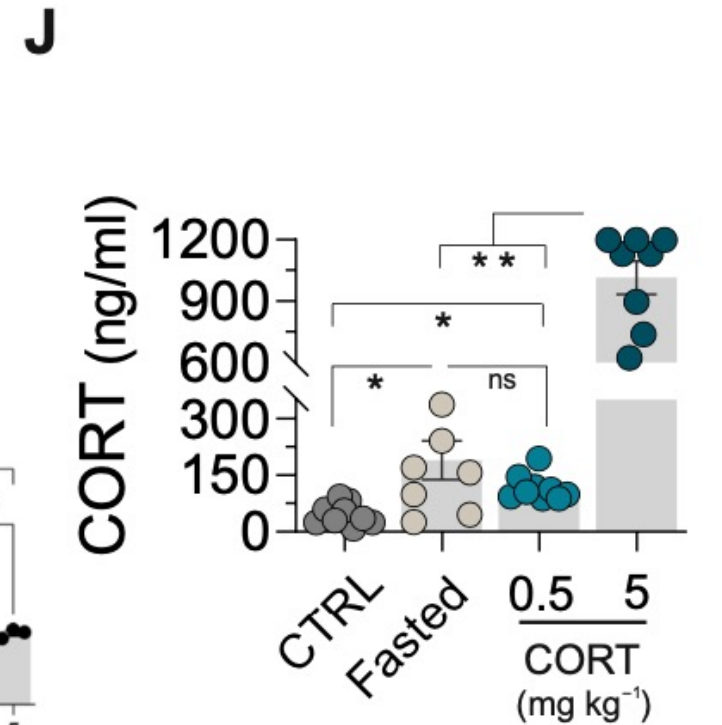
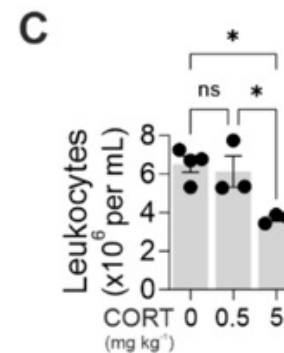
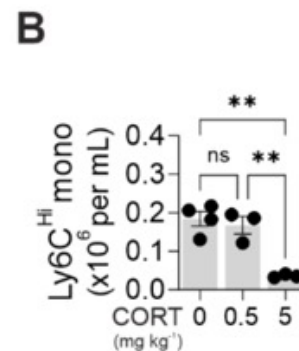
J



Corticostérone seule → effet dose-dépendant

Les effets de la corticostérone sont dose-dépendants

- ↑ forte dose de CORT → ↓ monocytes mais aussi leucopénie
- Petite dose (niveau jeûne) : pas d'effet seul (ns)
- Effet réel = “permissif”



La dose physiologique (0.5 mg/kg, qui mime les niveaux atteints pendant un jeûne) → ne change rien.

Seule la dose pharmacologique (5 mg/kg, qui donne des niveaux supraphysiologiques) réduit les monocytes.

- ▶ Cela prouve que la corticostérone seule, à un niveau physiologique, n'est PAS suffisante pour faire baisser les Ly6C^{Hi} → Il faut autre chose (une autre voie en plus de la corticostérone).

On revient à cette question

- ▶ **Je me pose cette question** : Mais du coup si l'inhibition des Rc aux glucocorticoïdes empêchent la baisse immunitaire (voie endocrinienne), à quoi sert la voie neuronale (inhibition SNS → mTOR hépatique → CCL2) ?

Remise en contexte

Ils ont montré : activation AgRP $\rightarrow$ $\downarrow$ [Ly6C^{Hi}] via :

- ▶ Inhibition mTOR (voie neuronale)
- ▶ $\uparrow$ glucocorticoïdes (voie endocrine)

Mais :

- ▶ Glucocorticoïdes insuffisants à eux seuls (à dose physiologique) pour $\downarrow$ monocytes.
- ▶ Inhiber MC4R^{PVN} ne suffit pas non plus

$\rightarrow$ Il faut plusieurs signaux agissant ensemble.

Hypothèse

- ▶ Comme les glucocorticoïdes seuls → insuffisants pour diminuer [Ly6C^{Hi}]
- ▶ Comme l'inhibition MC4R^{PVN} seule → insuffisante pour diminuer [Ly6C^{Hi}]
- ▶ Et si les glucocorticoïdes jouaient un rôle permissif, mais avaient besoin d'un autre signal (e.g. l'inhibition des neurones MC4R^{PVN}) pour produire l'effet immunomodulateur complet ?”
- ▶ Un effet synergique à explorer ?

Première question

- ▶ Est-ce que l'effet des glucocorticoïdes sur les monocytes Ly6C^{Hi} passe directement par ces cellules ?
- ▶ **Méthode:** supprimer Rc aux glucocorticoïdes dans cellules myéloïdes

Ils ont croisé :

- Souris exprimant Cre dans cellules myéloïdes
 - Souris floxées pour gène du Rc aux glucocorticoïdes
- ▶ → Résultat = souris $\text{LysM}^{\text{GR-KO}}$ = souris sans récepteurs aux glucocorticoïdes dans les cellules myéloïdes.

Résultats 1

- ▶ Jeûne (20h) → même baisse des Ly6C^{Hi} chez les LysM^{GRKO} et les CTRL.
→ Rc GR cellules myéloïdes **PAS nécessaire** pour la baisse de Ly6C^{Hi} induite par le jeûne.

Par contre:

- ✓ Quand injection pharmacologiquement de CORT (haute dose) → Pas de baisse des Ly6C^{Hi} chez les LysM^{GRKO}.
→ Baisse provoquée par la corticostérone pharmacologique passe bien directement par le GR des monocytes.
→ Les glucocorticoïdes n'agissent pas pareil selon leur origine (**endogène** vs **pharmacologique**).

Mécanismes par lesquels le jeûne et l'injection pharmacologique de glucocorticoïdes réduisent les monocytes sont différents.

- ▶ Le jeûne agit via d'autres voies **indirectes** (neuro et endocrino)
- ▶ Dose pharmacologique agit **directement** sur les monocytes via leur récepteur GR.

Deuxième question

Test combiné : inhibition des neurones MC4R^{PVN} + faible dose de corticostérone.

- ▶ Inhibition des MC4R^{PVN} seule = pas de baisse Ly6C^{Hi}
- ▶ Faible dose de corticostérone = pas de baisse Ly6C^{Hi}

→ tester les deux ensembles !

Méthode :

- Souris injectées avec AAV-DIO-hM4Di dans le PVN (pour inhiber chimiogénétiquement les MC4R^{PVN} via CNO).
- Injection systémique de corticostérone à faible dose (celle qui reproduit les niveaux de jeûne → cf. figure 4J).
- Mesure des monocytes Ly6C^{Hi} et du CCL2 plasmatique.
- ▶ But → tester si ces deux signaux agissent ensemble pour diminuer les monocytes.

Résultats 2

- ▶ Inhibition des MC4R^{PVN} seule = pas de baisse Ly6C^{Hi}
- ▶ Faible dose de corticostérone = pas de baisse Ly6C^{Hi}
- ▶ **Ensembles → forte baisse des Ly6C^{Hi} monocytes.**
 - ▶ CCL2 plasmatique aussi diminué.

→ **EFFET SYNERGIQUE**



Interprétations

Les glucocorticoïdes endogènes jouent un rôle permissif, mais pas suffisant
→ co-activation nécessaire de voies neuronales (inhibition MC4R^{PVN}).

La régulation des monocytes Ly6C^{Hi} pendant le jeûne est donc intégrée → à la fois
HORMONALE (glucocorticoïdes) et **NEURONALE** (inhibition MC4R^{PVN} → SNS → foie → CCL2).

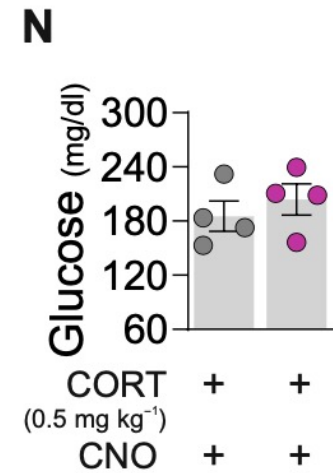
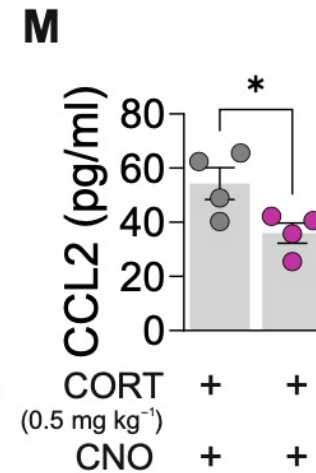
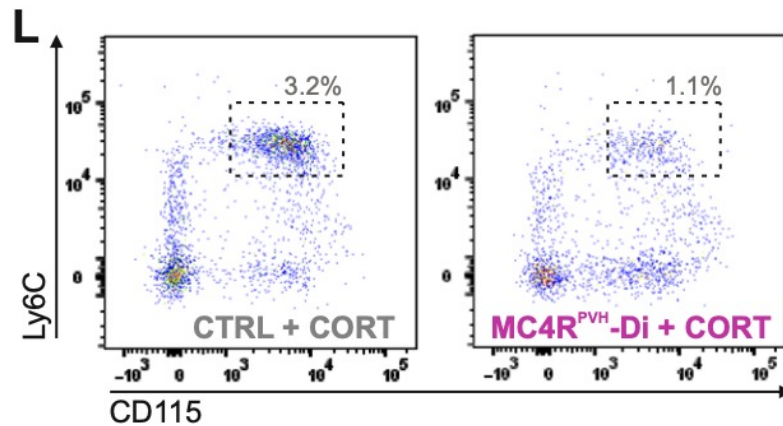
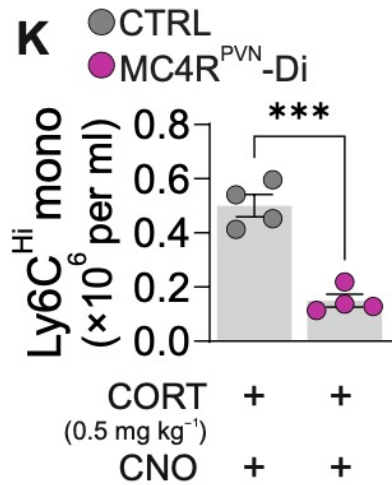
Résumé

- Est-ce que Rc aux CORT des monocytes étaient nécessaires → non pour le jeûne, mais oui pour la corticostérone pharmacologique.
- Ni l'inhibition des MC4R^{PVN} seule, ni la corticostérone faible seule ne suffisent.
- Mais ensemble → effet synergique et baisse des Ly6C^{Hi}.
- Donc les glucocorticoïdes agissent comme un “feu vert” (permissif), mais ont besoin du signal neuronal pour l'effet complet.

Double manipulation : effet synergique

Inhibition de MC4R + petite dose de CORT → baisse des monocytes

- Ni MC4RPVN inhibition, ni CORT faible dose seuls → pas d'effet
- Les deux ensemble → ↓ monocytes + ↓ CCL2 (Fig. 4K-M)
- Glycémie non affectée → effet central, pas métabolique (Fig. 4N)

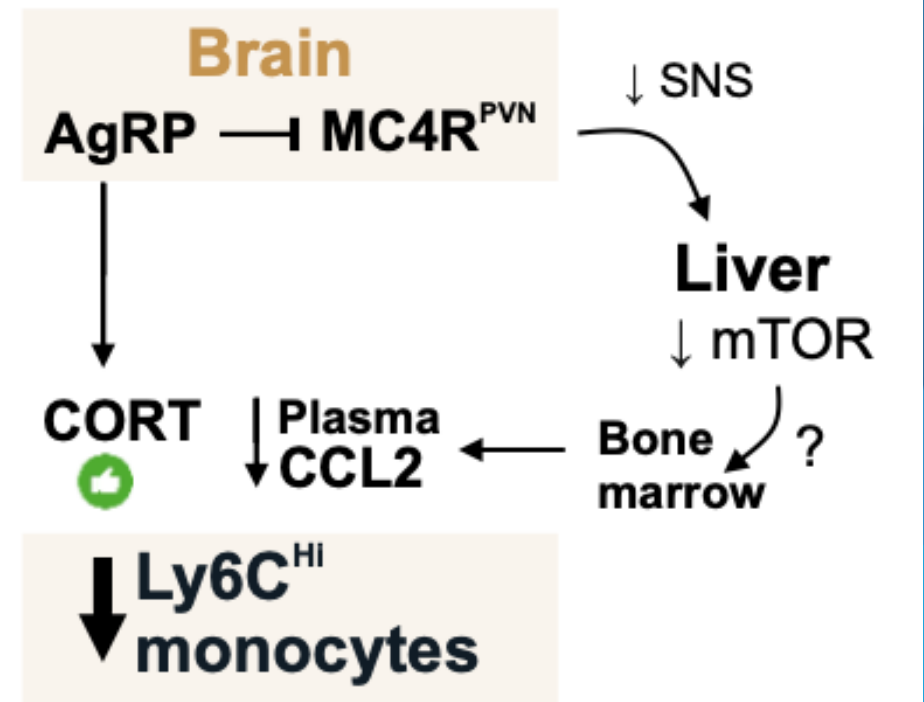


Conclusion

Un modèle intégratif : cerveau → foie → moelle

- AgRP → inhibition MC4R + activation HPA
- Foie : inhibition mTOR → ↓ CCL2
- Monocytes restent dans la moelle

O



Take-home messages

Les neurones AgRP régulent précocement les monocytes Ly6C^{Hi}

L'activation d'AgRP est “scalable”

Deux voies indépendantes depuis AgRP

AgRP = sentinelle du stress énergétique

Implications cliniques



Système mélanocortinien
= nouvelle cible immuno-
métabolique



Anorexie & obésité



Cachexie & génétique
humaine

Limites

Conditions
expérimentales
non
physiologiques

Action des
glucocorticoïdes
mal localisée

Synergie MC4R +
corticostérone
reproduite
artificiellement

6. Human translatability

- ▶ Given the known differences between murine and human hypothalamic circuitry, how do you envision the translational relevance of your findings, especially in **cachexia** or **obesity**, where inflammation is chronically dysregulated? Have you gathered, or do you plan to gather, preliminary human data, such as **fMRI** of **hypothalamic activity in fasting states**, or cortisol measurements, to explore similar pathways in humans?
- ▶ **Réponse de Calvacanti:** Mutations in MC4R result in a distinct obesity syndrome in humans (see works by Stephen O’Rahilly, Sadaf Farooqi, and Giles Yeo). **Understanding how the melanocortin** system regulates inflammation could **open new therapeutic avenues for obesity** (could we activate the circuits that reduce monocytes without stimulating hunger?) or cachexia (could we induce hunger and modulate inflammation?). To pursue such questions, **we need to understand the system’s fundamentals**. While we continually look for opportunities to work in human models, **this requires expertise we do not yet possess**.

Références

1. K. ganesan, J. nikkanen, K. man, y. A. leong, y. Sogawa, J. A. maschek, t. Van Ry, D. n. Chagwedera, J. e. Cox, A. Chawla, energetic trade-offs and hypometabolic states promote disease tolerance. *Cell* 177, 399–413.e12 (2019).
2. I. A. o’neill, R. J. Kishton, J. Rathmell, A guide to immunometabolism for immunologists. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 553–565 (2016).
3. S. Jordan, n. tung, m. Casanova-Acebes, C. Chang, C. Cantoni, D. Zhang, t. h. Wirtz, S. naik, S. A. Rose, C. n. Brocker, A. gainullina, D. hornburg, S. horng, B. B. maier, P. Cravedi, D. leRoith, F. J. gonzalez, F. meissner, J. ochando, A. Rahman, J. e. Chipuk, m. n. Artyomov, P. S. Frenette, I. Piccio, m. I. Berres, e. J. gallagher, m. merad, Dietary intake regulates the circulating inflammatory monocyte pool. *Cell* 178, 1102–1114.e17 (2019).
8. J. C. Bruning, h. Fenselau, integrative neurocircuits that control metabolism and food intake. *Science* 381, eabl7398 (2023).
9. m. J. Krashes, S. Koda, C. ye, S. C. Rogan, A. C. Adams, D. S. Cushner, e. maratos-Flier, B. I. Roth, B. B. lowell, Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice. *J. Clin. Invest.* 121, 1424–1428 (2011).
10. y. Aponte, D. Atasoy, S. m. Sternson, AgRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat. Neurosci.* 14, 351–355 (2011).