

La leptine : un lien entre obésité et cancer du sein

J.-P. Peyrat¹, F. Révillion¹, J. Grosjean^{1,2}, M. Charlier³, J. Djiane³

¹ Laboratoire d'oncologie moléculaire humaine, centre Oscar-Lambret, 3, rue Frédéric-Combemale, F-59020 Lille cedex, France

² Centre hospitalier de Valenciennes, avenue Désandrouin, BP 479, F-59322 Valenciennes cedex, France

³ Unité de neuroendocrinologie moléculaire de la prise alimentaire, Institut National de la Recherche Agronomique, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy-en-Josas cedex, France

Résumé : Les liens entre obésité et cancer du sein pourraient résulter de l'action d'adipokines produites par les cellules adipeuses. Parmi ces adipokines, la leptine semble jouer un rôle important. La présence de ses récepteurs sur les cellules de cancers du sein montre qu'elle peut agir directement sur ces cellules : elle est de fait capable de stimuler leur prolifération. Les voies d'action empruntées sont endocrine, paracrine et auto-crine. De plus, la leptine serait capable de s'opposer aux traitements anti-estrogéniques. Ces observations suggèrent que le blocage de la leptine aurait un intérêt thérapeutique dans les cancers du sein.

Mots clés : Leptine – Obésité – Cancer du sein

Leptin: a link between obesity and breast cancer

Abstract: Links between obesity and breast cancer could result from the action of adipokines produced by adipocytes. Among these adipokines, leptin appears to have an important role. The presence of its receptors on breast cancer cells shows that it can act directly on these cells: it is able to stimulate their proliferation. There are three distinct modes of action through endocrine-, paracrine-, and auto-crine-mediated pathways. Moreover, leptin would appear to be able to counteract anti-estrogenic treatments. These observations suggest that it could be of therapeutic interest to target leptin in breast cancer.

Keywords: Leptin – Obesity – Breast cancer

Introduction

Le rôle de l'obésité dans les cancers du sein est complexe. Il apparaît que, chez les femmes ménopausées, l'obésité augmenterait le risque de cancer du sein [1], alors que chez les femmes non ménopausées l'obésité diminuerait ce risque [2]. De plus, les patientes obèses ont des

tumeurs plus agressives, avec plus souvent un envahissement ganglionnaire, un stade et un grade histopronostique élevés [3]. L'implication d'hormones-cytokines, dont les concentrations sont liées à l'obésité et jouent un rôle dans la fonction de reproduction, pourrait expliquer ces effets.

Parmi ces hormones, la leptine semble jouer un rôle important. Elle est produite par le gène *ob* [4] et est impliquée dans la régulation du poids corporel. La leptine est une cytokine de 16 kD qui est produite par le tissu adipeux et dont la concentration circulante dépend de l'importance de ce tissu. Elle est maintenant considérée comme un indicateur essentiel au dialogue entre les réserves adipeuses et les centres hypothalamiques de contrôle de la prise alimentaire. Mais cette adipokine est impliquée également, via des actions au niveau des organes périphériques, dans la régulation de la prolifération cellulaire. Les connaissances sur l'action de la leptine dans les cancers du sein ont augmenté considérablement ces dernières années.

Aspects expérimentaux

Effets de la leptine sur les cellules de cancer du sein in vitro

La leptine est capable de stimuler la prolifération de nombreux types cellulaires. Elle agit en particulier sur les cellules endothéliales en synergie avec le VEGF [5]. La prolifération des cellules de cancer du sein cultivées en lignées est augmentée par la leptine [6-10]. Selon Chen et al. [11] dans la lignée ZR-75-1, possédant des récepteurs à l'estradiol (RE+), la leptine associée à l'estradiol stimule plus fortement la croissance cellulaire que la leptine seule ou l'estradiol seul.

La leptine exerce son action cellulaire par l'intermédiaire de récepteurs membranaires. Plusieurs formes de récepteurs ont été décrites, une forme longue et trois

formes courtes. Seule la forme longue a la capacité de transmettre le signal complet. Nous avons mis en évidence que les formes longues et courtes du récepteur de la leptine étaient présentes dans les lignées de cellules de cancer du sein RE+ MCF7 et T47D [8]. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par d'autres groupes [6,7,10]. Garofalo et Surmacz [9] ont mis en évidence des formes longues du récepteur de la leptine seulement dans des lignées RE+.

La leptine est capable d'activer la transcription et de faciliter la translocation nucléaire de RE dans les cellules MCF7 [12]. De plus, elle favorise la production d'estradiol en augmentant l'expression et l'activité de l'aromatase ainsi que l'expression du cytochrome P450 dans cette lignée [13]. Cela suggère que la leptine pourrait s'opposer aux traitements anti-estrogéniques comme les antagonistes de l'estradiol (Tamoxifène®) ou les inhibiteurs des aromatasés (Anastrozole®). Dans les cellules de cancer du sein en lignées MCF7, l'exposition à l'anti-estrogène ICI 182,780 (Fulvestrant®, Faslodex® [10 nmol/l]) bloque la prolifération et diminue les récepteurs aux estrogènes : ces effets sont significativement atténués par le traitement des cellules par la leptine (100 ng/ml). Plus précisément, la leptine atténue les effets de l'ICI 182,780, à savoir la dégradation du RE alpha, l'inhibition de son expression et la réduction de son activité transactivatrice [14]. Ainsi, des concentrations circulantes élevées de leptine chez le sujet obèse (> 40 ng/ml) pourraient induire une résistance aux anti-estrogènes [14].

Enfin, O'Brien et al. [15] ont décrit la présence de mARN du récepteur de la leptine et/ou de la leptine elle-même dans les cellules de cancer du sein cultivées en lignées ER+ ou ER-. La leptine pourrait donc agir sur les cellules de cancers du sein non seulement par voies endocrine et paracrine, mais aussi par voie autocrine.

Effets de la leptine dans les cancers mammaires in vivo

Des études menées in vivo chez l'animal ont permis de démontrer le rôle de la leptine dans la régulation de la masse corporelle. Des souris déficientes en leptine (ob/ob) ou en son récepteur (db/db) présentent un phénotype obèse, caractérisé par une augmentation de la prise alimentaire et une diminution des dépenses énergétiques [4]. Le rôle de la leptine dans le développement normal de la glande mammaire a pu être mis en évidence dans ces modèles de souris (ob/ob) et (db/db), chez lesquels la morphogenèse des structures canalaire de la glande mammaire est incomplète [7]. De plus, l'apparition de tumeurs est observée chez 56 et 70 % des souris MMTV-TGF α (mouse mammary tumor virus) homozygotes sauvages ou hétérozygotes pour le gène de la leptine (Lep⁺ Lep⁺, Lep⁺ Lep^{ob}) ou de son récepteur (Lepr⁺ Lepr⁺, Lepr⁺ Lepr^{db}) [16,17]. Par contre, les souris transgéniques génétiquement obèses par déficit en leptine (Lep^{ob} Lep^{ob}) ou en récepteur de la leptine (Lepr^{db} Lepr^{db}) ne développent pas de tumeurs mammaires [16,17].

Aspects cliniques

Leptine circulante et cancer du sein

L'étude des concentrations circulantes de leptine dans les cancers du sein a conduit à des résultats contradictoires. Si la leptine ne semble pas influencer l'évolution tumorale [18], quatre études mettent en évidence une augmentation de leptine dans cette pathologie [19-22], sept autres études au contraire ne donnent que des résultats négatifs [23-29].

Il est peu vraisemblable que les résultats discordants proviennent de problèmes liés aux essais eux-mêmes, car ils ont des caractéristiques semblables, en particulier en termes de reproductibilité. La majorité des études inclue un nombre faible de patientes, ce qui limite leur valeur ; ces études ne concernent plus le risque de cancer puisque réalisées chez des femmes déjà atteintes, avec interférence possible de la production tumorale de leptine. Ainsi, l'article qui rapporte le plus de cas compte 251 femmes atteintes de cancer du sein avant chirurgie et 233 contrôles ; la taille des tumeurs n'est pas précisée mais 50 patientes sont déjà de stade 2 (avec possiblement des tumeurs de plus de 2 et 5 cm) et 2 patientes de stade 3 (tumeurs de plus de 5 cm) (22). Enfin, les conditions de prélèvement ne sont pas standardisées pour la leptine qui est sécrétée de manière pulsatile avec un pic matinal et dont les niveaux changent rapidement en cas de diète. La plupart des études concernent des patientes ménopausées, sans analyse de sous-groupes. Plusieurs études mettent cependant en évidence une diminution du risque de cancer du sein chez les femmes non ménopausées avec des poids augmentés [22,23].

Il est difficile d'expliquer les raisons pour lesquelles on observe une telle réduction du risque de cancer du sein chez ces femmes. Le fait que l'obésité soit associée le plus souvent à des cycles menstruels anovulatoires ou irréguliers, résultant en des profils estrogéniques altérés, pourrait être une explication. La leptine est impliquée dans la régulation de l'axe hypothalamohypophysogonadique ; cependant, son rôle direct sur les ovaires et la stéroïdogénèse n'est pas bien explicité. La régulation de la production de leptine par les hormones sexuelles est suggérée par plusieurs observations : ainsi les concentrations de leptine augmentent à la ménarche et sont plus élevées chez les femmes non ménopausées que chez les hommes d'âge comparable ou les femmes ménopausées qui ne reçoivent pas de traitement hormonal substitutif [30,31].

Les concentrations circulantes de leptine corrént positivement avec celles de l'estradiol chez les femmes et négativement avec celles de la testostérone chez les hommes [32]. Les traitements par l'estradiol et la progestérone stimulent la production de leptine [33]. La leptine participe aussi à la régulation de la folliculogénèse ovarienne avec l'IGF1, l'insuline et l'hormone de croissance [33]. Un minimum de leptine semble néces-

saire à la fertilité, mais un excès pourrait limiter la sécrétion d'estradiol dans le follicule en maturation et bloquer l'ovulation. L'ensemble de ces observations pourrait ainsi expliquer la diminution du risque de cancer du sein chez la femme non ménopausée avec des concentrations de leptine augmentées.

Récepteurs de la leptine

La leptine exerce ses effets grâce à son interaction avec un récepteur transmembranaire spécifique [34], apparenté à la superfamille des récepteurs des cytokines de classe I. Chez l'homme, quatre isoformes sont décrites [35]. À l'instar du récepteur murin [36], ces isoformes sont produites par épissage alternatif du gène *ob-r*, localisé sur le chromosome 1 [37]. Elles diffèrent par la taille de leur domaine intracellulaire et par la nature des voies de signalisation mises en jeu. L'isoforme longue (OB-RL), essentiellement exprimée dans l'hypothalamus, est responsable du contrôle par la leptine de la prise alimentaire. Les isoformes courtes (OB-RS) sont exprimées dans de très nombreux tissus périphériques, mais leur fonction biologique est mal connue. La fixation de la leptine sur les formes courtes et longues du récepteur provoque l'activation de la voie de signalisation des MAPKinases [38,39]. Cependant, seule la forme longue possède les motifs intracellulaires nécessaires à l'activation de la voie de signalisation JAK2/STAT3, aboutissant à l'expression des gènes cibles de la leptine [38,39].

Une forme soluble de ce récepteur correspondant au domaine extracellulaire a été décrite [40]. Elle se comporte comme une protéine transporteuse de la leptine circulante [41]. Elle résulterait du clivage protéolytique des isoformes longues et courtes du récepteur [42,43].

Nous avons analysé l'expression de la leptine et de ses récepteurs chez plus de 300 patientes opérées au centre

Oscar-Lambret pour un cancer primaire du sein [44]. La leptine est détectée dans 99 % des cas (318/322) et les isoformes longue et courte de ses récepteurs sont exprimées dans tous les échantillons, suggérant un mode d'action autocrine ou paracrine de la leptine sur les cellules épithéliales de cancer du sein, en accord avec d'autres études [7,8,45]. Nous avons confirmé la corrélation entre l'expression de la leptine et celle de ses récepteurs, décrite par Ishikawa et al. [45] sur une série de 76 cancers du sein. Les expressions tumorales de la leptine, d'OB-RL et OB-RS corrélaient positivement avec les taux de récepteurs de l'estradiol et de la progestérone. Les femmes ménopausées, dont les taux de récepteurs hormonaux sont élevés, ont des niveaux d'expression tumorale de leptine supérieurs à ceux mesurés chez les femmes non ménopausées. Ce résultat est à rapprocher de la mise en évidence d'une relation positive entre les taux de leptine circulante et les taux de récepteurs stéroïdes dans les cancers du sein, de l'ovaire et de l'endomètre [46]. Cette relation n'est cependant pas confirmée par Goodwin et al. [18] qui notent à l'inverse des taux élevés de leptine circulante chez les femmes atteintes de cancers du sein dépourvus de récepteurs hormonaux. Dans notre étude, le grade histopronostique et la taille de la tumeur sont inversement corrélés aux taux de leptine et de ses récepteurs, en cohérence avec le fait que les tumeurs indifférenciées, de haut grade et de grande taille sont généralement dépourvues de récepteurs hormonaux. Le rapport OB-RL/OB-RS est, quant à lui, inversement corrélé aux récepteurs de la progestérone, suggérant qu'une augmentation d'OB-RL et/ou une diminution d'OB-RS serait un marqueur d'agressivité tumorale. OB-RS s'avère être un facteur indépendant de bon pronostic ($p = 0,005$, RR = 0,46) en analyses multivariées de Cox, la survie sans récurrence des patientes étant significativement plus longue quand la tumeur exprime des taux élevés (Fig. 1). À l'inverse, une augmentation du rapport OB-RL/OB-RS est associée à un raccourcissement de la durée de survie sans récurrence (Fig. 1).

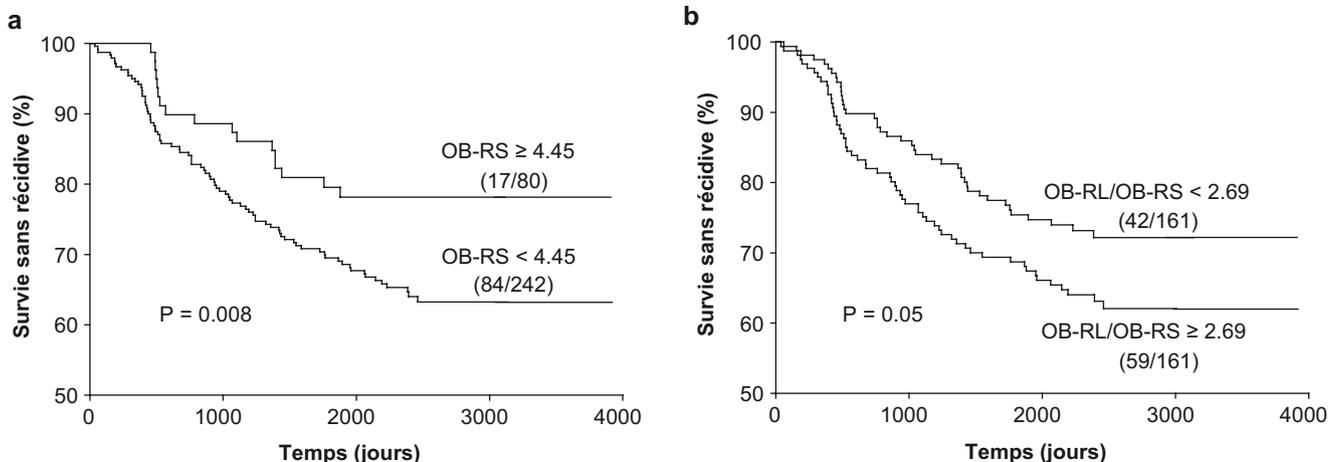


Fig. 1. Valeur pronostique des récepteurs de la leptine. Courbes de survie sans récurrence (test de Kaplan-Meier) de patientes ($n = 322$) atteintes de cancer primaire du sein en fonction. a : du niveau d'expression de l'isoforme courte du récepteur de la leptine (OB-RS) ; b : du rapport d'expression des isoformes longue et courte (OB-RL/OB-RS)

Il apparaît donc que les expressions de la leptine et de ses récepteurs sont le signe d'un phénotype tumoral plus différencié et moins agressif. Enfin, le fait que des variations d'expression relative des isoformes longues et courtes du récepteur soient associées à un mauvais pronostic suggère un rôle important de l'équilibre entre ces deux isoformes dans la progression de la maladie.

L'expression de l'oncogène HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2) est très étudiée dans le cancer du sein [47], car elle sert de base rationnelle à la mise en œuvre de traitements ciblés (Herceptin®). Nous avons recherché par RT-PCR en temps réel l'expression des récepteurs de type I des facteurs de croissance, c'est-à-dire de HER2, mais aussi du récepteur de l'EGF (REGF), de HER3 et de HER4 [48]. En effet, bien qu'aucun ligand spécifique de HER2 n'ait été identifié jusqu'à maintenant, il peut être activé par les ligands de R-EGF, HER3 et HER4, via la formation d'hétérodimères. Nous avons montré que la leptine et ses récepteurs sont corrélés positivement à HER3 et HER4 et négativement à REGF. Ces résultats sont à rapprocher de ceux d'Eisenberg et al. [49] démontrant, par des expériences de transfection transitoire de cellules de rein embryonnaire humain HEK293T, que la leptine, en se fixant sur les isoformes longues et courtes de son récepteur, était capable d'activer HER2 ; ces observations ont d'ailleurs été confirmées récemment dans les cellules cancéreuses mammaires humaines de la lignée SK-BR-3, surexprimant HER2 [50].

Polymorphismes génétiques

Dans l'espèce humaine, plusieurs polymorphismes génétiques de type *single nucleotide polymorphisms* (SNP) du gène de la leptine et de celui de son récepteur ont été décrits. Ces polymorphismes, dont la fréquence varie selon les populations, pourraient contribuer à expliquer les différences individuelles de susceptibilité à la prise de poids. Par exemple le polymorphisme G-2548A, situé au niveau du promoteur du gène de la leptine et qui participe probablement à la régulation de sa transcription [51], serait associé à une surcharge pondérale et pourrait influencer la perte de poids d'individus soumis à un régime hypocalorique [52-54]. Des effets tout à fait comparables ont été observés pour certains polymorphismes du gène du récepteur de la leptine [55-57].

Récemment, les liens entre le risque de cancer du sein et les polymorphismes du gène de la leptine et de son récepteur ont été analysés dans des populations de diverses origines. Concernant le polymorphisme G-2548A du gène de la leptine, les femmes tunisiennes hétérozygotes (GA) et homozygotes pour l'allèle rare (AA) auraient un risque accru de développer un cancer du sein [58]. Il en serait de même pour le polymorphisme Q223R du gène du récepteur de la leptine [58]. Ces deux polymorphismes seraient respectivement associés à une

diminution des durées de survies sans récurrence et globale des patientes atteintes de cancer du sein [58]. Avant la ménopause, les femmes taïwanaises, présentant le génotype RR du polymorphisme K109R du gène du récepteur de la leptine, auraient des tumeurs de plus grande taille suggérant un lien avec la progression de la maladie [59]. Aucun lien ne serait cependant observé entre les polymorphismes du gène du récepteur de la leptine, dont le polymorphisme K109R, et le risque de cancer chez les femmes coréennes [27].

Conclusion

L'obésité est à la fois un facteur de risque de cancer du sein, en particulier chez la femme ménopausée, et un facteur d'agressivité tumorale. Au-delà de ces observations, on s'interroge sur les mécanismes moléculaires responsables du développement des cancers du sein chez les femmes obèses. Dans ce cadre, les substances produites par les cellules adipeuses (adipokines) pourraient être impliquées dans la cancérogenèse mammaire : de nombreux travaux suggèrent que la leptine pourrait jouer un rôle important dans les cancers du sein [60].

Ainsi, la leptine est-elle capable de stimuler *in vitro* la prolifération des cellules de cancer du sein qui possèdent des récepteurs spécifiques de cette adipokine (Fig. 2). Elle favoriserait l'activation d'HER2 dans les cellules de cancer du sein comme la translocation nucléaire et la stabilisation de RE. De plus, elle augmenterait les phénomènes d'aromatase et donc la production des estrogènes. Enfin, la leptine est capable de stimuler la prolifération des cellules endothéliales et l'angiogenèse.

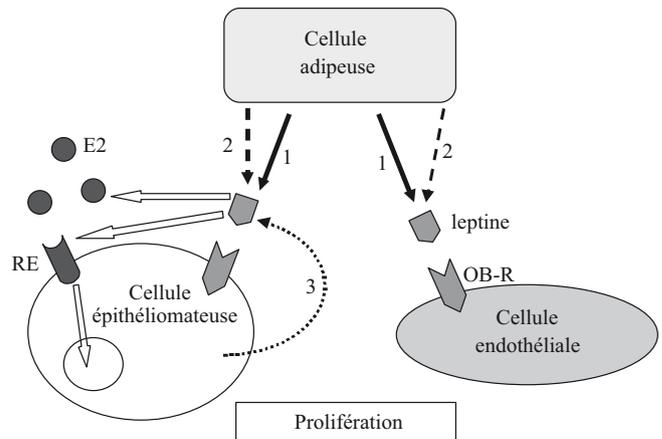


Fig. 2. Leptine et cancer du sein. La leptine produite par la cellule adipeuse agit sur les cellules endothéliales et épithéliales par voies endocrine (1) et paracrine (2). Elle active la prolifération et la survie cellulaires. Elle est aussi produite par les cellules de cancer du sein et agit alors par voie autocrine (3). La leptine régule positivement l'activité aromatasase et donc la production d'estradiol (E2) qui stimule aussi la prolifération cellulaire. La leptine est aussi capable d'activer les récepteurs de E2 (RE) et leur translocation nucléaire, même en l'absence d'E2. Les anti-estrogènes favorisent la dégradation des RE par le protéasome : la leptine réduirait ce processus, diminuant donc l'efficacité des anti-estrogènes

Dans les cancers du sein, on observe une surexpression des récepteurs de la leptine : la leptine pourrait agir par voies endocrine, paracrine et autocrine.

L'ensemble de ces résultats montre que la leptine est capable de favoriser le développement des cancers du sein, et pourrait interférer sur les différentes thérapeutiques ciblées anti-estrogéniques, anti-HER2 ou anti-angiogéniques [61]. Cela suggère que le blocage de son action aurait un intérêt thérapeutique.

Références

- Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, et al. (2003) Endogenous Hormones Breast Cancer Collaborative Group. Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* 95: 1218-26
- Van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. (2000) Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight and breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 152: 514-27
- Porter GA, Inglis KM, Wood LA, Veugelers PJ (2006) Effect of obesity on presentation of breast cancer. *Ann Surg Oncol* 13: 327-32
- Zhang Y, Proence R, Maffei M, et al. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-32
- Rose DP, Gilhooly EM, Nixon DW (2002) Adverse effects of obesity on breast cancer prognosis, and the biological actions of leptin (review). *Int J Oncol* 21: 1285-92
- Dieudonne MN, Machinal-Quelin F, Serazin-Leroy V, et al. (2002) Leptin mediates a proliferative response in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 293: 622-8
- Hu X, Juneja SC, Maihle NJ, Cleary MP (2002) Leptin: a growth factor in normal and malignant breast cells and for normal mammary gland development. *J Natl Cancer Inst* 94: 1704-11
- Laud K, Gourdou I, Pessemesse L, et al. (2002) Identification of leptin receptors in human breast cancer: functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol* 188: 219-26
- Garofalo C, Surmacz E (2006) Leptin and cancer. *J Cell Physiol* 207(1): 12-22
- Frankenberry KA, Skinner H, Somasundar P, et al. (2006) Leptin receptor expression and cell signaling in breast cancer. *Int J Oncol* 28: 985-93
- Chen C, Chang YC, Liu CL, et al. (2006) Leptin-induced growth of human ZR-75-1 breast cancer cells is associated with up-regulation of cyclin D1 and c-Myc and down-regulation of tumor suppressor p53 and p21WAF1/CIP1. *Breast cancer Res Treat* 98: 121-32
- Catalano S, Mauro L, Marsico S, et al. (2004) Leptin induces, via ERK1/ERK2 signal, functional activation of estrogen receptor alpha in MCF-7 cells. *J Biol Chem* 279: 19908-15
- Catalano S, Marsico S, Giordano, et al. (2003) Leptin enhances, via AP-1, expression of aromatase in the MCF-7 cell line. *J Biol Chem* 278: 28668-76
- Garofalo C, Sisci D, Surmacz E (2004) Leptin interferes with the effects of the anti-estrogen ICI 162,780 in MCF-7 breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 10: 6466-75
- O'Brien SN, Welter BH, Price TM (1999) Presence of leptin in breast cell lines and breast tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 259: 695-8
- Cleary MP, Phillips FC, Getsin SC, et al. (2003) Genetically obese MMTV-TGF-alpha/Lep(ob)Lep(ob) female mice do not develop mammary tumors. *Breast Cancer Res Treat* 77: 205-15
- Cleary MP, Juneja SC, Phillips FC, et al. (2004) Leptin receptor-deficient MMTV-TGF-alpha/Lepr(db)Lepr(db) female mice do not develop oncogene-induced mammary tumors. *Exp Biol Med* 229: 182-93
- Goodwin PJ, Ennis M, Fantus IG, et al. (2005) Is leptin a mediator of adverse prognostic effects of obesity in breast cancer? *J Clin Oncol* 23: 6037-42
- Tessitore L, Vizio B, Jenkins O, et al. (2000) Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. *Int J Mol Med* 5: 421-6
- Han C, Zhang HT, Du L, et al. (2005) Serum levels of leptin, insulin, and lipids in relation to breast cancer in china. *Endocrine* 26: 19-24
- Chen DC, Chung YF, Yeh YT, et al. (2006) Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. *Cancer Lett* 237: 109-14
- Falk RT, Brinton LA, Madigan MP, et al. (2006) Interrelationships between serum leptin, IGF-1, IGFBP3, C-peptide and prolactin and breast cancer risk in young women. *Breast Cancer Res Treat* 98: 157-65
- Petridou E, Papadiamantis Y, Markopoulos C, et al. (2000) Leptin and insulin growth factor I in relation to breast cancer (Greece). *Cancer Causes Control* 11: 383-8
- Ozet A, Arpacı F, Yilmaz MI, et al. (2001) Effects of tamoxifen on the serum leptin level in patients with breast cancer. *Jpn J Clin Oncol* 31: 424-7
- Coskun U, Günel N, Toruner FB, et al. (2003) Serum leptin, prolactin and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in patients with breast cancer. *Neoplasma* 50: 41-6
- Sauter ER, Garofalo C, Hewett J, et al. (2004) Leptin expression in breast nipple aspirate fluid (NAF) and serum is influenced by body mass index (BMI) but not by the presence of breast cancer. *Horm Metab Res* 36: 336-40
- Miyoshi Y, Funahashi T, Tanaka S, et al. (2006) High expression of leptin receptor mRNA in breast cancer tissue predicts poor prognosis for patients with high, but not low, serum leptin levels. *Int J Cancer* 118: 1414-9
- Woo HY, Park H, Ki CS, et al. (2006) Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea. *Cancer Lett* 237: 137-42
- Stattin P, Söderberg S, Biessy C, et al. (2004) Plasma leptin and breast cancer risk: a prospective study in northern Sweden. *Breast Cancer Res Treat* 86: 191-6
- Cento RM, Proto C, Spada RS, et al. (1999) Leptin levels in menopause: effect of estrogen replacement therapy. *Horm Res* 52: 269-73
- Hayase H, Nomura S, Abe T, Izawa T (2002) Relation between fat distributions and several plasma adipocytokines after exercise training in premenopausal and postmenopausal women. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 21: 105-13
- Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, et al. (2001) Leptin in reproduction. *Trends Endocrinol Metab* 12: 65-72
- Messinis IE, Papageorgiou I, Milingos S, et al. (2001) Estradiol plus progesterone treatment increases serum leptin concentrations in normal women. *Hum Reprod* 16: 1827-32
- Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, et al. (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83: 1263-71
- Barr VA, Lane K, Taylor SI (1999) Subcellular localization and internalization of the four human leptin receptor isoforms. *J Biol Chem* 274: 21416-24

36. Tartaglia LA (1997) The leptin receptor. *J Biol Chem* 272: 6093-6
37. Winick JD, Stoffel M, Friedman JM (1996) Identification of microsatellite markers linked to the human leptin receptor gene on chromosome 1. *Genomics* 36: 221-2
38. Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS (1997) Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 272: 32686-95
39. Yamashita T, Murakami T, Otani S, et al. (1998) Leptin receptor signal transduction: OBRa and OBRb of fa type. *Biochem Biophys Res Commun* 246: 752-9
40. Sinha MK, Poentanova I, Ohannesian JP, et al. (1996) Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 98: 1277-82
41. Brabant G, Nave H, Mayr B, et al. (2002) Secretion of free and protein-bound leptin from subcutaneous adipose tissue of lean and obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3966-70
42. Maamra M, Bidlingmaier M, Postel-Vinay MC, et al. (2001) Generation of human soluble leptin receptor by proteolytic cleavage of membrane-anchored receptors. *Endocrinology* 142: 4389-93
43. Ge H, Huang L, Pourbahrami T, Li C (2002) Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 277: 45898-903
44. Révillion F, Charlier M, Lhotellier V, et al. (2006) Messenger RNA expression of leptin and leptin receptors and their prognostic value in human primary breast cancer. *Clin Cancer Res* 12: 2088-94
45. Ishikawa M, Kitayama J, Nagawa H (2004) Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 10: 4325-31
46. Tessitore L, Vizio B, Pesola D, et al. (2004) Adipocyte expression and circulating levels of leptin increase in both gynaecological and breast cancer patients. *Int J Oncol* 24: 1529-35
47. Révillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP (1998) ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 34: 791-808
48. Pawlowski V, Révillion F, Hebbar M, et al. (2000) Prognostic value of the type I growth factor receptors in a large series of human primary breast cancers quantified with a real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay. *Clin Cancer Res* 6: 4217-25
49. Eisenberg A, Biener E, Charlier M, et al. (2004) Trans-activation of erbB2 by short and long isoforms of leptin receptors. *FEBS Lett* 565: 139-42
50. Soma D, Kitayama J, Yamashita H, et al. (2007) Leptin augments proliferation of breast cancer cells via trans-activation of HER2. *J Surg Res*. [Epub ahead of print]
51. Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P (2002) A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res* 34: 355-9
52. Mammès O, Betoulle D, Aubert R, et al. (1998) Novel polymorphisms in the 5' region of the *LEP* gene: association with leptin levels and response to low calorie diet in human obesity. *Diabetes* 47: 487-9
53. Li WD, Reed DR, Lee JH, et al. (1999) Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet* 63: 227-34
54. Wang TN, Huang TN, Chang WT, et al. (2006) G-2548A polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity* 14: 183-7
55. Mammès O, Aubert R, Betoulle D, et al. (2001) *LEPR* gene polymorphisms: associations with overweight, fat mass and response to diet in women. *Eur J Clin Invest* 31: 398-404
56. Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, et al. (2001) The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 4434-9
57. Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu-Abreu V, et al. (2006) p.Q223R leptin receptor polymorphism associated with obesity in Brazilian multi-ethnic subjects. *Am J Hum Biol* 18: 448-53
58. Snoussi K, Strosberg AD, Bouaouina N, et al. (2006) Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma. *BMC Cancer* 6: 38
59. Liu CL, Chang YC, Cheng SP, et al. (2007) The roles of serum leptin concentration and polymorphism in leptin receptor gene at codon 109 in breast cancer. *Oncology* 72: 75-81
60. Vona-Davis L, Rose DP (2007) Adipokines as endocrine, paracrine, and autocrine factors in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer* 14(2): 189-206
61. Surmacz E (2007) Obesity hormone leptin: a new target in breast cancer? *Breast Cancer Res* 9: 301