

Obésité humaine : vers les approches génomiques fonctionnelles

par Karine Clément

Inserm, Nutriomique U755, 75004 Paris, France ; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, IFR58, 75004 Paris, France ; CHRU Pitié-Salpêtrière, service de Nutrition, Hôtel-Dieu, 75004 Paris, France.

Hôtel-Dieu, Service de Nutrition, Place du Parvis Notre-Dame 75004 Paris. Tél. : 33 (0)1 42 34 86 70.

Fax : 33 (0)1 40 51 00 57. E-mail : karine.clement@htd.aphp.fr

INSERM « Avenir », EA3502, UMPC Paris 6, Service de Nutrition, Hôtel-Dieu, Paris, Place du Parvis Notre Dame. Tél. : 00 (1) 42 34 84 53. Fax : 00 (1) 40 51 00 57. <http://www.ea3502.org/>

Reçu le 8 décembre 2005

RÉSUMÉ

Le développement rapide de nouveaux concepts et des outils de génétique moléculaire permet d'aborder différemment la recherche en nutrition. L'obésité est déterminée par l'interaction de facteurs de prédisposition, génétiques et environnementaux. Dans des cas rares d'obésités monogéniques où un gène à forte influence sur le phénotype est en cause, l'approche moléculaire a été extrêmement puissante pour identifier les gènes responsables et définir des nouveaux syndromes, associés notamment à des anomalies des voies leptine et des mélanocortines. Pour les formes communes d'obésité (obésités polygéniques), la plupart des études analysent les associations génotype/phénotypes indépendamment des facteurs d'environnement (alimentation, sédentarité etc.). Un grand nombre de gènes et régions candidates ont été proposées. Parmi les facteurs qui limitent cette approche intégrée de l'obésité, on peut citer la difficulté de dis-

poser de cohortes suffisamment grandes et l'insuffisance des outils d'analyse développés pour accéder « sans hypothèse *a priori* » aux questions d'interactions multiples. L'évolution est en train de s'opérer. Le but de cette revue est de présenter quelques exemples d'études génétiques de l'obésité ainsi que les nouveaux outils en développement visant à étudier la contribution relative de nombreux gènes dans l'obésité et leurs réponses aux changements de l'environnement. L'étude conjointe de gènes multiples au niveau de l'ADN ou de l'ARN est maintenant possible. Finalement, c'est certainement l'incroyable progrès en bioinformatique qui autorisera l'intégration de ces multiples informations de nature différente (environnement, phénotype, génotype, expression du gène) et améliorera notre compréhension de cette maladie complexe. Des exemples de ces approches se développent chez l'Homme et l'animal.

SUMMARY Human obesity: toward functional genomics

Genetic and environmental aspects are recognized in the obesity field and attempts to elucidate multiple genes and gene/environment interactions are necessary. In rare cases of monogenic obesities, genetic tools have proved extremely powerful for identifying the genes responsible and for defining new syndromes. Abnormalities of genes involved in the leptin/melanocortin axis have been described. In common obesity, most studies include the search for genotype/phenotype associations without taking into account the influence of environment (diet, sedentary lifestyle) in the relationship. Many genes and candidate regions have been proposed to be involved in the determinism of human obesity. Among the limitations to this integrated approach, one can cite the difficulty of having large enough samples as well as biocomputing tools that are still in their infancy for

accessing the question of multiple interactions with no "*a priori* hypotheses". This picture will probably change rapidly in the future. The purpose of this paper is to present some examples of the knowledge acquired in the field of obesity genetics and the new ongoing tools and developments that aim at studying the contribution of genes to obesity and their response to environmental changes. The capacity for studying multiple genes at once at the DNA or RNA levels is rapidly growing. Finally, tremendous progress in biocomputing will allow the integration of information from different sources (*i.e.* environment, phenotype, genotype, gene expression) and thus improve our ability to deal with complexity. Examples of these approaches exist in humans and in animal models.

CONTEXTE

L'obésité est devenue ces dernières années un problème majeur de santé publique du fait de sa prévalence élevée dans certains pays et de sa croissance alarmante chez l'enfant (Troiano & Flegal, 1998 ; Flodmark *et al.*, 2004). Les mécanismes à l'origine du stockage de masse grasse restent mal connus. Si le déséquilibre du bilan d'énergie est un déterminant initial incontournable de l'inflation adipeuse, la physiopathologie de la maladie implique de très nombreux déterminants. A l'évidence, l'obésité ne se résume pas à des troubles du comportement alimentaire. Les progrès de la biologie cellulaire et moléculaire des tissus adipeux, les avancées de la neurobiologie du bilan d'énergie et les connaissances nouvelles sur la plasticité tissulaire, abordés dans cette Journée Claude Bernard de la Société de Biologie, ont fait émerger la notion d'une « pathologie de système ». Chaque étape du développement de la maladie (prise de poids, stabilisation, chronicisation, réponses aux actions thérapeutiques, apparition des morbidités) est probablement associée à des mécanismes moléculaires différents (Fig. 1).

L'obésité doit être considérée comme une maladie d'organes mettant en jeu le tissu adipeux, et ses relations complexes avec d'autres organes fondamentaux de la régulation de la balance énergétique, tels que le muscle, le foie, le pancréas, l'hypothalamus. La régulation du bilan d'énergie implique un dialogue « inter-organes », dont seule une partie des acteurs est identifiée. Schématiquement, le tissu adipeux n'est pas un simple réservoir d'énergie, il participe à ces échanges d'informations, en produisant des molécules « signal » (Ailhaud, 2000),

impliquées dans le dialogue inter-organes : d'une part en informant le système nerveux central des variations des réserves d'énergie (*cf.* leptine) et, d'autre part, en connectant les organes périphériques (*cf.* adiponectine adipocytaire et le muscle). Enfin, certains signaux, (*cf.* TNF α) ont une action locale contribuant vraisemblablement à limiter l'expansion du tissu adipeux. Des molécules produites par le tissu adipeux sont associées au développement de comorbidités comme le diabète, l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, certains cancers. L'ensemble des signaux, leur spécificité d'action (locale, centrale ou périphérique), leur implication dans les complications associées à l'obésité et les interactions éventuelles dans ces régulations complexes sont à identifier. Des altérations primaires, éventuellement génétiques, de production de ces molécules, ainsi que des altérations des mécanismes de leur régulation pourraient contribuer au développement de l'obésité, à la résistance à la perte de poids et aux complications associées. C'est dans ce contexte que les approches génétiques chez l'Homme se sont développées visant à repérer la contribution de polymorphismes ou mutations de gènes connus (approches gènes candidats), ou bien utilisant des approches plus systématiques pour découvrir de nouveaux gènes (approches « génome entier »).

Selon les études d'épidémiologie génétique, 30 à 80 % de la variation du poids serait déterminée par des facteurs génétiques (Bouchard, 1991 ; Carmelli *et al.*, 1994). Les études chez les jumeaux ont beaucoup contribué à décrire l'influence de facteurs génétiques dans la réponse aux changements environnementaux (études de suralimentation par exemple).

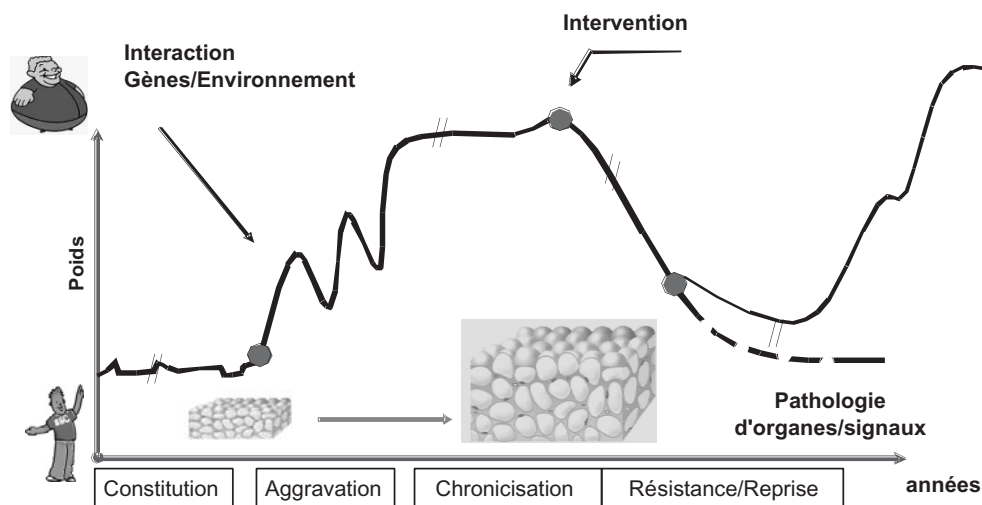


FIG. 1. – Représentation schématique de l'évolution de l'obésité humaine.

On distingue différents stades ; une phase de prise de poids et d'aggravation dépendant d'une interaction entre une susceptibilité biologique individuelle et des facteurs environnementaux modifiant le bilan énergétique (les apports énergétiques sont supérieurs aux dépenses).

Une phase d'obésité installée chronicisée. Le plateau correspondant à un nouvel équilibre du bilan d'énergie à un niveau de masse grasse supérieur (le poids est stable). C'est souvent le stade de l'entrée dans la pathologie de système et de l'apparition des complications de l'obésité.

La résistance à l'amaigrissement est un phénotype habituel qui caractérise bien souvent cette phase où, après une intervention (médicale et même parfois chirurgicale), on revient très rarement à l'état antérieur (partie hachurée de la courbe). La règle générale est celle d'une reprise de poids, souvent à un niveau supérieur (partie pleine de la courbe). Les déterminants moléculaires de ces différentes phases sont mal connus.

Ces dernières années, une approche moléculaire très florissante de l'obésité a permis d'avancer dans la compréhension des causes et des mécanismes de cette maladie. Une photographie des multiples déterminants génétiques a pu être obtenue en quelques années, presque superposable à celle des autres maladies complexes. Comme pour toutes les maladies multifactorielles, la contribution de l'hérédité à l'obésité peut être schématisée de deux façons :

- soit par des mutations uniques et rares dans certains gènes à fort impact sur le développement de l'obésité (*obésités monogéniques*). Ces obésités sont rares, très sévères et débutent généralement dans l'enfance ;

- soit par l'interaction de plusieurs variants géniques avec un environnement à risque (*obésité polygénique*). Dans ce cas, chaque gène de susceptibilité pris individuellement aurait de faibles effets sur le poids, et la contribution cumulative de ces gènes ne deviendrait significative qu'en interaction avec des facteurs environnementaux prédisposant à leur expression phénotypique (suralimentation, baisse de l'activité physique, modifications hormonales). C'est le cas des obésités communes.

SYNDROMES ASSOCIÉS AUX OBÉSITÉS

Pour identifier de nouvelles voies physiopathologiques impliquées dans la régulation du poids, plusieurs groupes tentent d'identifier les gènes et mutations responsables de syndromes génétiques associés à l'obésité. Au moins une trentaine de maladies génétiques rares est associée à une obésité souvent sévère. Une base de données nommée OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>) les répertorie et permet d'accéder à la description clinique de ces maladies. Les plus connues sont les syndromes de Prader-Willi, Cohen, Alström et Bardet-Biedl. La rareté de ces maladies a rendu difficile l'identification des gènes impliqués, mais grâce au criblage du génome réalisé dans certaines familles affectées, il a été possible de détecter des gènes et des mutations responsables de ces maladies complexes. Nous en citerons quelques exemples. Très récemment, des gènes responsables de la maladie de Bardet-Biedl (BBS) et du syndrome d'Alström ont été caractérisés. Le syndrome de Bardet-Biedl se caractérise par une obésité précoce associée à une rétinopathie pigmentaire, des anomalies morphologiques des doigts (polydactylie, syndactylie), des difficultés d'apprentissage et une maladie rénale, entre autres. Bien qu'une entité clinique homogène ait été décrite initialement, le BBS a été associé à au moins dix localisations chromosomiques différentes (dix loci) avec plusieurs mutations identifiées au sein de chacune (BBS1 en 11q13 ; BBS2 en 16q21 ; BBS3 en 3p13 ; BBS4 en 15q22.3 ; BBS5 en 2q31 ; BBS6 en 20p12 ; BBS7 en 4q27 et BBS8 en 14q32.11, BBS8 en 14q32.11, BBS9 en 7p14 et BBS10) (Chung *et al.*, 2005 ; Badano *et al.*, 2006). Si le BBS a été longtemps considéré comme un syndrome dont la transmission est autosomique récessive, il a été montré que les manifestations cliniques de certaines formes de BBS étaient

liées à des mutations récessives sur un des loci impliqués en association avec une mutation sur un second locus (transmission triallélique) (Katsanis *et al.*, 2001). Huit gènes sont identifiés dans le BBS, sans que l'on connaisse nécessairement la fonction de leur produit protéique. Au locus BBS6, une approche de clonage positionnel a permis d'impliquer le gène MKKS, situé sur le chromosome 20, qui code pour une protéine chaperonne. Les mutations identifiées dans MKKS engendreraient une protéine chaperonne tronquée et représenteraient 5 à 7 % des cas de BBS, témoignant de l'hétérogénéité moléculaire. Les liens entre MKKS, ses cibles protéiques et les traits cliniques du BBS sont à déterminer. Contrairement à BBS6, les gènes impliqués dans BBS1, BBS2 et BBS4 sont très différents de la famille des gènes MKKS, mais il est possible qu'ils codent pour des substrats des protéines MKKS (Slavotinek *et al.*, 2002). Très récemment, il a été montré, à partir d'études faites chez des organismes cellulaires simples, que certains gènes du BBS seraient spécifiques des cellules ciliées (Fan *et al.*, 2004). Ces cellules sont impliquées de façon essentielle dans le développement des mammifères, contribuant notamment à la symétrie (droite/gauche), permettant ainsi aux organes (cœur, foie, poumons) de se placer correctement. On comprend que des dysfonctionnements dans ces processus mettant en jeu les cellules ciliées puissent contribuer aux altérations des épithéliums pigmentaires et aux anomalies de structure de certains organes rencontrées dans le BBS. Il reste cependant à comprendre en quoi ces dysfonctionnements conduisent à l'obésité.

Le syndrome d'Alström est une maladie autosomique récessive de l'enfance qui associe, outre une obésité, une dystrophie des cônes rétiniens, une cardiomyopathie dilatée, un diabète de type 2 et d'autres traits cliniques de gravité variable comme une hypothyroïdie, une petite taille, un hypogonadisme, des anomalies du bilan hépatique et parfois un retard mental. Des études familiales ont démontré que des mutations du gène ALMS1 étaient en cause. Ce gène code pour une protéine d'expression ubiquitaire, dont la fonction est également inconnue (Mykytyn *et al.*, 2002).

Ces exemples soulignent la nécessité d'études multicentriques regroupant les familles touchées par ces syndromes (d'ailleurs souvent regroupées au sein d'associations) afin de caractériser les gènes responsables de ces maladies rares. Bien que certains de ces gènes aient été identifiés, il est nécessaire de décrire les liens physiopathologiques entre leurs produits protéiques et le développement des maladies aux traits cliniques multiples, mais aussi avec des points communs (rétinopathie, retard mental). En outre, il n'est pas exclu que ces gènes puissent contribuer, de façon mineure, au déterminisme de l'obésité commune.

OBÉSITÉS SYNDROMIQUES PAR ALTÉRATION DES VOIES DE LA LEPTINE ET DES MÉLANOCORTINES

A partir de la combinaison de l'approche moléculaire et de l'analyse clinique fine d'anomalies biologiques ou

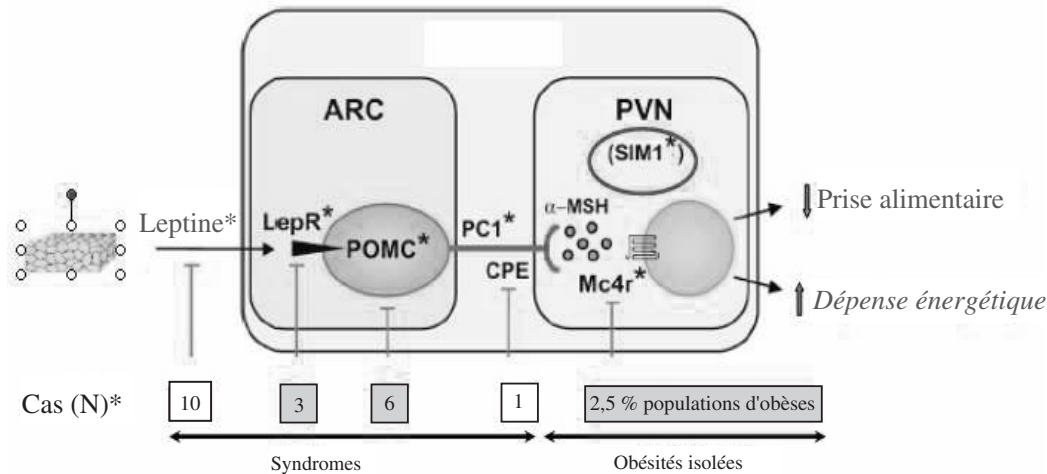


FIG. 2. – *Formes monogéniques d'obésités humaines affectant les voies leptine et mélanocortines.*

Adaptée de Cummings (Cummings & Schwartz, 2003).

La leptine stimule la proiomélanocortine (POMC), via le récepteur de la leptine (LepR).

L' α MSH (α melanocyte stimulating hormone) dérive de la POMC grâce à l'action de l'enzyme proconvertase 1 (PC1) agir sur le récepteur aux mélanocortine de type 4 (MC4R).

ARC noyau arcué de l'hypothalamus. PVN : noyau paraventriculaire. SIM1 est un facteur de transcription.

hormonales chez des sujets souffrant d'obésité massive et précoce, de nouvelles formes d'obésités génétiques ont été décrites. Elles concernent des gènes impliqués dans les obésités monogéniques du rongeur (Fig. 1).

Les anomalies génétiques en cause affectent des facteurs clés de la régulation du poids, intervenant dans la voie de la leptine (chef d'orchestre contrôlant la régulation du poids et plusieurs voies endocrines) et la voie des mélanocortines, cible essentielle de la leptine dans l'hypothalamus (Barsh *et al.*, 2000) (Fig. 2). Des mutations des gènes de la leptine, de son récepteur et de la proiomélanocortine (POMC) entraînent des situations d'obésités exceptionnelles à pénétrance complète et de transmission autosomique récessive (revue dans Barsh *et al.*, 2000). Trois familles porteuses de mutations sur le gène de la leptine ont été reconnues (Montague *et al.*, 1997), ainsi qu'une famille avec 3 patientes affectées d'une mutation sur le récepteur de la leptine (Clement *et al.*, 1998), cinq familles porteuses d'une mutation sur POMC (Krude *et al.*, 1998) et une patiente porteuse d'une mutation sur la proconvertase 1 (PC1), enzyme de clivage de POMC (Jackson *et al.*, 1997). Ces mutations sont responsables d'une obésité précoce et sévère et d'anomalies endocrines. Les courbes de poids des patients affectés sont caractéristiques et doivent attirer l'attention. Elles montrent une évolution pondérale exponentielle avec une obésité sévère qui se développe dès les premiers mois de vie. Les patients porteurs d'une mutation sur la leptine ou son récepteur présentent un impubérisme complet par hypogonadisme hypogonadotrophique et une insuffisance thyroïdienne d'origine centrale. Une insuffisance de sécrétion somatotrope est également observée chez les patientes porteuses d'une mutation sur le récepteur de la leptine.

Un déficit en POMC entraîne chez des enfants une insuffisance surrénalienne aiguë dès la naissance liée au

déficit en ACTH (hormone issue du clivage de la POMC par une proconvertase). Ces enfants ont des cheveux roux du fait de l'absence d' α -mélanocyte stimulating hormone (α MSH) sur les récepteurs aux mélanocortines périphériques impliqués dans la pigmentation. Une patiente affectée d'une mutation de PC1 souffre d'une obésité associée à des malaises hypoglycémiques post-prandiaux et des troubles de la fécondité. Les malaises postprandiaux tardifs sont expliqués par l'accumulation de la pro-insuline par défaut de proconvertase 1 (PC1), enzyme également impliquée dans la maturation de l'insuline. L'absence de maturation de la POMC due à la mutation de PC1 entraîne aussi le blocage de la voie des mélanocortines, entraînant une obésité sévère (Barsh *et al.*, 2000).

Les obésités monogéniques sont rares, voire exceptionnelles, cependant le traitement par la leptine recombinante permet de traiter les cas de déficience en leptine. L'injection journalière sous-cutanée a été bien tolérée, entraînant une perte de poids de 16,5 kg en une année, principalement de la masse grasse, avec un effet majeur sur la réduction de la prise alimentaire (Farooqi, 2002, Farooqi *et al.*, 2002). L'hypothèse d'un rôle de la leptine dans l'initiation de la puberté a été renforcée par l'observation d'une élévation graduelle des hormones gonadotropes avec l'apparition d'une pulsativité hormonale compatible avec une puberté précoce sous leptinothérapie (Farooqi, 2002; Gibson *et al.*, 2004). Chez un homme adulte âgé de 27 ans le traitement par la leptine a permis d'induire une puberté. Le traitement des patients déficients en récepteur de la leptine reste une question délicate. On peut imaginer l'existence de molécules court-circuitant le récepteur de la leptine et susceptibles d'activer la voie spécifique STAT3 dans l'hypothalamus. Ce type de molécules existe (agonistes du CNTF ou *Ciliary NeuroTrophic Factor*), mais leur efficacité et leur innocuité sont à démontrer.

Le traitement des formes monogéniques d'obésité impliquant les gènes de la voie des mélanocortines doit être évalué. La mise en place d'un traitement substitutif par les agonistes de l' α MSH est plausible chez les enfants porteurs de mutations de POMC. Dans l'avenir, des agonistes de l' α MSH seront probablement disponibles car ils sont actuellement développés par l'industrie pharmaceutique. Ce type de thérapie devra être évalué chez les patients hétérozygotes pour les mutations de MC4R lors de protocoles d'investigation clinique.

AUTRES OBÉSITÉS « HYPOTHALAMIQUES »

D'autres obésités rares ont été décrites chez l'Homme permettant d'identifier de nouvelles pistes physiopathologiques. Le cas d'une patiente ayant une obésité sévère dès les premiers mois de vie et porteuse d'une translocation *de novo* entre les chromosomes 1p22.1 et 6q16.2 a été décrit récemment. Cette translocation entraîne une délétion du gène SIM1 sur le chromosome 6. Ce gène code pour un facteur de transcription impliqué, chez la Souris, dans le développement des noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus (Fig. 2), eux-mêmes impliqués dans le contrôle de la balance énergétique (Holder *et al.*, 2000).

Une mutation hétérozygote spontanée dans le gène *NTRK2* a été mise en évidence chez un patient atteint d'obésité précoce et d'hyperphagie associées à un retard mental et à des anomalies des fonctions neurologiques (Yeo *et al.*, 2004). Ce gène code pour le TrkB, le récepteur du *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), exprimé dans le système nerveux central, lui-même impliqué dans la régulation de la prise alimentaire (Xu *et al.*, 2003). Des études ont montré que la mutation conduit à une altération fonctionnelle de TrkB, suggérant le rôle physiopathologique de ce variant. D'autres mutations de TrkB ont été retrouvées chez des patients présentant une obésité précoce et un retard de développement, mais leurs conséquences fonctionnelles et leurs implications dans l'obésité restent à démontrer.

Ces situations d'obésité, même si elles sont exceptionnelles, méritent d'être repérées par les cliniciens afin d'identifier de nouveaux gènes ayant un rôle dans l'homéostasie énergétique et potentiellement candidats dans l'obésité commune. Les facteurs impliqués dans le développement de l'hypothalamus sont vraisemblablement candidats dans les obésités hypothalamiques.

OBÉSITÉS NON SYNDROMIQUES PAR MUTATION DU RÉCEPTEUR AUX MÉLANOCORTINES DE TYPE 4 (MC4R)

MC4R, le récepteur aux mélanocortines de type 4, est un récepteur à 7 domaines transmembranaires couplé aux protéines G (Cone, 2000b, a). C'est un des acteurs importants de la voie des mélanocortines. Il est exprimé au niveau cérébral, principalement dans l'hypothalamus.

L'importance de MC4R dans le contrôle de l'homéostasie pondérale a été démontrée chez l'animal. Des souris présentant une invalidation génique de MC4R (Knock-Out) développent une obésité sévère. Les souris hétérozygotes pour une telle invalidation sont aussi affectées et présentent une obésité intermédiaire. L'utilisation d'agonistes pharmacologiques de MC4R chez le rongeur réduit la prise alimentaire et, en revanche, les antagonistes de ce récepteur l'augmentent (Huszar *et al.*, 1997).

Le gène de MC4R est devenu un candidat de choix pour l'étude génétique des obésités humaines, compte tenu de l'importance de la voie des mélanocortines dans la régulation de la prise alimentaire. Plusieurs mutations différentes, entraînant un changement d'acide aminé dans la protéine, ont été décrites dans différentes populations d'enfants et d'adultes allemands, français, anglais et américains (Vaisse *et al.*, 1998; Hinney *et al.*, 1999; Farooqi *et al.*, 2000; Vaisse *et al.*, 2000; Dubern *et al.*, 2001; Jacobson *et al.*, 2002; Miraglia Del Giudice *et al.*, 2002). La fréquence de ces mutations a été évaluée entre 0,5 à 2 % des obésités modérées et pourrait atteindre 4 % dans les formes sévères d'obésités. Dans ces familles, l'obésité a un mode de transmission le plus souvent autosomique dominant. La pénétrance de la maladie est incomplète et l'expression variable. Les sujets porteurs des mutations MC4R ne sont pas toujours obèses et, s'ils le sont, la gravité de la maladie est variable. Une étude récente montrant que les mutations MC4R résultent en une forte prédiction à l'obésité, suggère aussi le rôle non négligeable de l'environnement ainsi que celui d'autres facteurs génétiques qui pourraient moduler l'expression clinique (Dempfle *et al.*, 2004). Les sujets porteurs de mutations de MC4R ont souvent une obésité à début précoce. Une étude chez des enfants anglais a suggéré l'existence d'une augmentation de la densité minérale osseuse et de la taille en cas de mutation du gène MC4R (Farooqi *et al.*, 2003a) mais cela n'a pas été confirmé dans d'autres cohortes étudiées. L'élévation de la densité minérale osseuse pourrait être en rapport avec le rôle récemment proposé de MC4R dans le remodelage osseux. Récemment, une association entre troubles du comportement alimentaire de type "binge eating" et les mutations de MC4R a été décrite (Branson *et al.*, 2003). Cet effet sur le comportement alimentaire n'a pas été confirmé dans d'autres populations et reste actuellement très controversé (Farooqi *et al.*, 2003b; Gotoda, 2003; Herpertz *et al.*, 2003; Hebebrand *et al.*, 2004). En règle générale, l'analyse clinique ne permet pas de repérer ces formes d'obésités qui ressemblent aux formes communes d'obésité à début précoce. Elles sont dites non syndromiques et se situent entre les formes exceptionnelles d'obésité monogénique à pénétrance complète et les formes polygéniques d'obésité commune.

Il était essentiel d'analyser les conséquences des mutations sur la fonction du récepteur. L'étude fonctionnelle des mutations de MC4R a confirmé le rôle physiopathologique de ces mutations dans la survenue de l'obésité des patients. Les études de liaison des ligands au récepteur ou de la production d'AMPc intracellulaire en réponse à l' α MSH ont montré une grande hétérogénéité

dans l'activation des différents mutants MC4R en réponse à l'aMSH, allant d'une activation normale, partielle, à une absence totale d'activation (Vaisse *et al.*, 2000). Un défaut de transport intracellulaire du récepteur muté, par rétention intracytoplasmique, a été décrit pour la majorité des mutations de MC4R retrouvées dans l'obésité infantile (Lubrano-Berthelier *et al.*, 2003a ; Lubrano-Berthelier *et al.*, 2003b ; Lubrano-Berthelier *et al.*, 2003c). MC4R possède une activité constitutive, c'est-à-dire une activité basale ne nécessitant pas la présence de ligand, pour laquelle l'*Agouti Related Peptide* (AGRP) agit comme agoniste inverse (Nijenhuis *et al.*, 2001). En absence de ligand, MC4R aurait une action inhibitrice sur la prise alimentaire. L'étude systématique de l'activité basale en cas de mutation a ainsi montré qu'une altération de cette activité pouvait être la seule anomalie fonctionnelle retrouvée, en particulier pour les mutations situées dans la partie N-terminale extra-cytoplasmique du récepteur (Srinivasan *et al.*, 2004). Ceci suggère qu'un signal tonique de satiété, pourvu par l'activité constitutive de MC4R, pourrait être requis dans la régulation à long terme de la balance énergétique.

LES OBÉSITÉS COMMUNES À INFLUENCE POLYGÉNIQUES

Concepts

L'hérédité pourrait contribuer au développement des formes communes d'obésité de deux façons :

- soit par l'interaction de nombreux et fréquents variants de différents gènes, diversement combinés selon les individus et les populations (*hérédité polygénique*). Chaque gène, pris individuellement, aurait de faibles effets sur le poids corporel ; ce n'est qu'en interaction avec d'autres gènes et en interaction avec des facteurs environnementaux de prédisposition (suralimentation, sédentarité, stress) que ces gènes de susceptibilité contribueraient de façon significative à l'obésité ;
- soit par la contribution d'un plus petit nombre de mutations de gènes différents mais aux effets plus importants (*hérédité oligogénique*), intervenant sur un terrain prédisposant. L'expression de ces « oligogènes » pourrait aussi dépendre de facteurs d'environnement.

A ce jour, ces deux hypothèses théoriques restent valables car l'approche génétique n'a pas permis d'en valider l'une plus que l'autre. L'étude génétique de l'obésité commune repose sur l'analyse de variations de l'ADN génomique (polymorphismes génétiques ou SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*, microsatellites) situées au sein ou proches de gènes candidats. Des études génétiques de différents types, réalisées chez des sujets obèses apparentés (famille) ou non apparentés, utilisant différentes méthodes (études de liaison familiales, études d'association chez des sujets non apparentés), visent à déterminer s'il existe une association entre un allèle d'un gène et l'obésité (Hebebrand *et al.*, 2003 ; Perusse *et al.*, 2005). Pour cela, des banques d'ADN et de données cli-

niques ont été constituées dans plusieurs pays en Europe et aux États-Unis. Les résultats de ces études génétiques concernent de très nombreux gènes et régions chromosomiques et sont rapportés chaque année dans la revue internationale *Obesity Research* (Perusse *et al.*, 2005). Nous ne détaillerons pas l'ensemble de ces études mais précisons les points et les exemples qui nous paraissent importants.

Un grand nombre de régions génomiques

Le développement d'outils de criblage moléculaire performants et la meilleure connaissance du polymorphisme génétique ont permis l'exploration du génome de familles de patients atteints d'obésité commune. L'objectif est d'étudier l'ensemble du génome (examen systématique de tous les chromosomes) de familles de sujets obèses sans *a priori* sur la fonction de ces gènes, et ainsi d'identifier les gènes connus ou inconnus prédisposant à l'obésité, à l'aide d'outils statistiques puissants qui permettent de les positionner. Ces approches ont été développées pour différents types de cohortes : des familles comptant des membres ayant développé une obésité extrême (études françaises et américaines), des familles issues de la population générale (étude familiale québécoise), et aussi des groupes ethniques particuliers (Indiens Pima, Mexicains Américains, Africains Américains et Amish) entre autres.

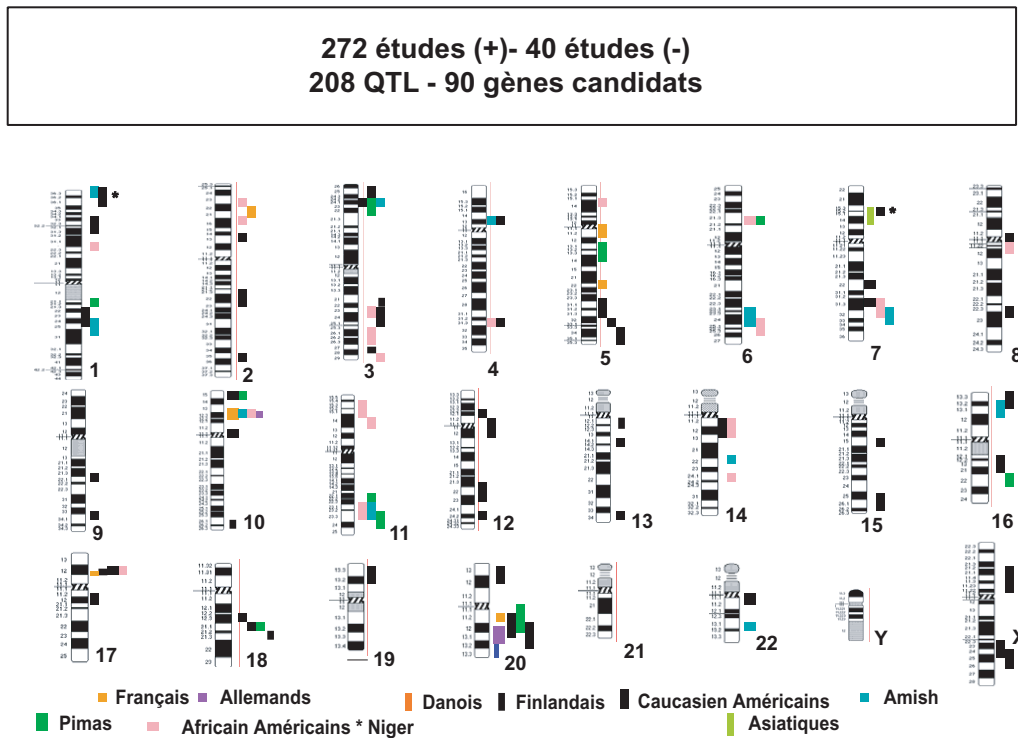
Cette stratégie a permis de mettre en évidence un grand nombre de localisations chromosomiques liées à l'obésité (Hager *et al.*, 1998 ; Perusse & Bouchard, 2000 ; Hebebrand *et al.*, 2003 ; Perusse & Bouchard, 2003 ; Bell *et al.*, 2004 ; Perusse *et al.*, 2005). Au moins, une soixantaine de régions chromosomiques (aucun chromosome n'est épargné sauf le chromosome Y) ont été liées à différents phénotypes comme la masse grasse, la distribution du tissu adipeux, la dépense énergétique au repos ou encore les taux de leptine et d'insuline circulants (Fig. 3).

Parmi les régions les plus convaincantes au vu des liens statistiques et de la confirmation dans plusieurs populations, au moins 7 gènes situés sur les chromosomes 2, 5, 10, 11, 19, 20 et X pourraient être impliqués dans l'obésité commune. La région 2p21 jouerait un rôle dans la variabilité des taux circulants de leptine chez les Caucasiens français, les Mexicains-Américains et les Africains-Américains. La région située sur le chromosome 10 est une région liée à l'obésité chez des caucasiens français et allemands et chez les Amish.

Des travaux menés dans plusieurs pays européens et aux États-Unis tentent d'identifier les gènes expliquant ces liaisons statistiques, régions qui comprennent de très nombreux gènes. Lorsque qu'ils le seront, il faudra déterminer les mutations et confirmer qu'elles sont bien en cause dans le développement de la maladie. Plusieurs candidats d'intérêt ont été identifiés dans ces régions.

Un grand nombre de gènes candidats

Le choix d'un candidat repose sur plusieurs arguments incluant: le rôle physiologique de son produit protéique



Human Obesity Gene Map, 2004

FIG. 3. – Carte non exhaustive des régions du génome liées à l'obésité humaine.

Les blocs colorés correspondent aux régions principales liées à l'obésité dans différentes populations en Europe et aux États-Unis (liste non exhaustive). Les régions sont parfois très larges et comportent des dizaines voire des centaines de gènes. Un enjeu est de rendre ces régions les plus petites possibles pour identifier les gènes candidats. Ces cartes sont publiées chaque année dans "Human obesity gene map". (+) signifie étude ayant montré une association ou une liaison positive et (-) étude ayant montré une association ou une liaison négative.

dans les mécanismes de l'obésité, sa localisation chromosomique dans une région liée à l'obésité chez l'Homme ou l'animal (régions dites QTL ou *Quantitative Trait Loci*) (Fig. 3), les conséquences de son inactivation génique (Knock-Out) ou de sa surexpression (transgénèse) chez le rongeur ou encore les caractéristiques fonctionnelles *in vitro* des mutations ou variations de l'ADN étudiées. Plus rarement sont prises en compte les caractéristiques d'expression des transcrits de ces gènes dans les tissus clefs de la régulation du poids, ni même les modifications d'expression en réponse à l'environnement.

De façon générale, l'approche «gène candidat» classique menée depuis plusieurs années n'a pas permis de dégager le rôle prépondérant de candidats dans la genèse et le développement de l'obésité.

Un grand nombre de gènes et de polymorphismes ont été testés (plus d'une soixantaine dans 250 études au sein de populations cliniquement hétérogènes). Ces gènes sont notamment impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire, la dépense énergétique et le métabolisme des lipides et des glucides (Perusse, 2000 ; Hebebrand *et al.*, 2003 ; Perusse & Bouchard, 2003 ; Perusse *et al.*, 2005). Le tableau I répertorie certains gènes parmi les plus étudiés dans des populations d'origines différentes.

Cependant, pour un même polymorphisme, les effets rapportés sont parfois incertains voire discordants, et témoignent de la complexité de l'obésité, ainsi que des difficultés statistiques dues parfois au manque de puissance des analyses. Si le rôle de ces gènes n'apparaît pas prépondérant dans le développement de l'obésité, certains variants génétiques sont associés à différents phénotypes d'obésité comme la précocité, l'aggravation au cours du temps, les complications métaboliques et cardiovasculaires associées, les caractéristiques du comportement alimentaire, la corpulence en interaction avec le degré d'activité physique.

Citons quelques exemples parmi les gènes les plus étudiés. Si les gènes impliqués dans les formes monogéniques d'obésité ne jouent pas un rôle prépondérant dans le développement des formes communes d'obésité, ils restent à l'évidence des cibles d'intérêt pour les obésités multifactorielles. C'est le cas du gène de la leptine. Bien que l'expression et la sécrétion de la leptine augmentent en proportion de la masse grasse, il existe de larges variations interindividuelles pour un même niveau de masse grasse. La région chromosomique du gène de la leptine a été liée à des phénotypes d'obésité dans plusieurs populations. Ces résultats ont été confirmés par une méta-analyse rassemblant une dizaine d'études géné-

TABLEAU I. – Exemples de mécanismes pouvant dépendre d'une susceptibilité génétique individuelle.

Des exemples de gènes candidats sont donnés pour les différentes catégories. Les symboles correspondent à une nomenclature reconnue (*human genome data base*). Des facteurs génétiques communs de ces gènes candidats ont été testés dans l'obésité commune, et des relations avec des phénotypes liés à l'obésité ont été identifiées.

Systèmes	Mécanismes physiologiques	Gènes candidats
Tissu adipeux		
Régulations locales	Différentiation, accumulation graisse	FOXC2, PPARA, PPARC, PPARG, RXRA, RXRB
Fonctions métaboliques	Balance entre lipolyse et adipogénèse	VLDLR, LIPE, LPL, SCD, UCP2, ADRB1, ADRB2, ADRA2A, INSR
Fonctions endocrines	Signaux issus du tissu adipeux	LEP, NPPA, SPARC, TNF, IL6, APM1
Prise alimentaire		
Contrôle central	Neurotransmetteurs, peptides hypothalamiques ou récepteurs	NPY, NPYR, POMC, MC4R, LEPR, CART, 5HT2C, CCKAR, AGRP, GHSR, POMC
Contrôle périphérique	Hormones ou autres signaux	CCK, apoA4, GHRL, PYY, GCG
Préférences alimentaires	Préférence pour le sucré, le gras, Aversions alimentaires dues à une sensibilité à l'amer	TAS1R, TAS2R
Dépense énergétique		
Central	Récepteurs hypothalamiques	MC3R, MC4R
Médiateur	Système sympathoadrénérgique	ADRB1, ADRB2, ADRB3, ADRA2A, ADRA2B
Effecteur	Dépense, oxydation	UCPs

tiques (Allison & Heo, 1998). Plusieurs SNPs situés dans les régions promotrices ou non codantes du gène, pourraient moduler l'expression du gène *OB* et par suite les taux circulants de leptine, et modifier ainsi la perception par le système nerveux central des réserves énergétiques de l'organisme et/ou être associés à une variation de la réponse métabolique à une restriction calorique. Par exemple, dans la famille des enfants déficients en leptine, du fait d'une mutation du gène de la leptine, les porteurs hétérozygotes ont des niveaux plus bas de leptine et une masse grasse plus élevée, suggérant qu'une réduction proportionnellement modeste de leptine pourrait contribuer au surpoids (Farooqi *et al.*, 2001). Le gène codant pour l'insuline, un autre « signal d'adiposité » essentiel au maintien de l'homéostasie énergétique, a été également impliqué dans des phénotypes liés à l'obésité. Dans ce gène, des répétitions en tandem de base de l'ADN ou VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) ont été associées à des modifications de la sécrétion d'insuline et à une prise de poids modérée chez des adolescentes obèses (Le Stunff *et al.*, 2000). Ces résultats n'ont pas été confirmés dans d'autres cohortes. D'autres gènes du métabolisme énergétique font aussi partie des facteurs génétiques les plus étudiés. L'identification des gènes impliqués dans l'obésité peut également être appréhendée par la stratégie de clonage positionnel. Le clonage positionnel consiste à identifier un gène d'intérêt à partir de la seule connaissance de sa localisation chromosomique.

Trois études récentes ont ainsi pu mettre en évidence une différence significative de la fréquence de SNP entre des populations de sujets obèses et témoins dans les gènes *SLC6A14* (Suviolahti *et al.*, 2003) et *GAD2* (Boutin *et al.*, 2003) et *ENPP1* (Meyre *et al.*, 2005). Le gène *SLC6A14* est potentiellement intéressant en tant que can-

didat car il code pour un transporteur d'acides aminés pouvant réguler la disponibilité en tryptophane lors de la synthèse de la sérotonine et affecter la régulation de l'appétit. Cependant l'étude fonctionnelle de ce polymorphisme reste nécessaire pour démontrer le rôle physiopathologique de *SLC6A14*.

Le gène *ENPP1* sur le chromosome 6q16.3 est situé dans une région associée avec l'obésité de l'enfance et liée au diabète chez des sujets obèses et diabétiques. *ENPP1* a été considéré comme un gène candidat pour le diabète de type 2. Le rôle physiologique d'*ENPP1* est discuté; il est proposé un rôle inhibiteur des voies de signalisation de l'insuline par son action sur la sous unité α du récepteur de l'insuline. L'expression des niveaux d'*ENPP1* est augmentée dans muscle et tissu adipeux de sujets insulino-résistants. L'étude génétique du gène *ENPP1* a révélé une association entre un haplotype de ce gène, l'obésité et le diabète. Un variant fréquent d'*ENPP1*, *K121Q*, ayant des conséquences sur la fonction du récepteur de l'insuline a été associé au diabète de type 2. Dans une étude française, un haplotype du gène *ENPP1* confère un risque élevé d'intolérance au glucose et au diabète de type 2 chez des enfants obèses et leurs parents. Les niveaux sériques de la protéine ENPP1 soluble sont modifiés chez les enfants en fonction de la présence ou de l'absence des variants. Comme pour *SLC6A14*, la validation dans des populations indépendantes et des études fonctionnelles sont nécessaires pour confirmer le rôle d'*ENPP1* dans l'obésité et le diabète de type 2 (Meyre *et al.*, 2005).

Le gène *GAD2* code pour l'enzyme « *Glutamic Acid Decarboxylase* » (*GAD65*) qui catalyse la formation du GABA (γ -aminobutyric acid) lui-même interagissant avec le neuropeptide Y (NPY) dans l'hypothalamus pour

stimuler la prise alimentaire. L'étude de *GAD2* illustre assez bien la complexité des études génétiques dans les maladies multifactorielles. Dans la première étude, différents SNPs analysés montrent une association avec l'obésité morbide dans une population française ainsi qu'un effet protecteur de l'allèle sauvage. Le rôle physiopathologique d'un des SNPs étudiés, situé dans le promoteur de *GAD2*, est renforcé par une étude fonctionnelle montrant que l'allèle le plus fréquemment retrouvé chez les sujets obèses a une activité transcriptionnelle plus importante que l'allèle sauvage. Ceci pourrait résulter en une augmentation du GABA hypothalamique et une activation de la prise alimentaire (Boutin *et al.*, 2003). Cependant, un an plus tard, ces données sont remises en cause dans une plus large étude d'association et de liaison familiale ne confirmant ni la liaison génétique, ni les tests fonctionnels (Swarbrick *et al.*, 2005).

D'une façon plus générale, on retrouve un risque augmenté de développement de l'obésité ou du diabète chez les sujets porteurs d'haplotypes de ces gènes candidats mais ces facteurs de risque multiples doivent être replacés dans le contexte habituel d'autres facteurs de risque (sédentarité, suralimentation, facteurs hormonaux) et ouvrent la question des interactions gènes-environnement.

DES INTERACTIONS GÈNES-GÈNES ET GÈNES-ENVIRONNEMENT MULTIPLES ENCORE MAL EXPLORÉES

Bien qu'on souligne souvent le rôle essentiel des interactions gènes-gènes et gènes-environnement dans le déterminisme de l'obésité, on est frappé de constater que ces interactions sont finalement peu abordées dans les études génétiques, du fait de la complexité induite par la construction même de ces études et le traitement des informations. Il est rarement possible de confirmer les exemples d'interactions gènes-environnement observées.

Dans la carte génétique publiée chaque année (Perusse *et al.*, 2005), une quinzaine d'études traitent de cette question, analysant le plus souvent les effets de deux polymorphismes sur un ou plusieurs phénotypes. Par exemple, la présence conjointe des deux SNPs d'*UCP1* et du récepteur β 3-adrénergique (interaction gènes-gènes) chez des sujets déjà obèses aggraverait la prise de poids au cours de la vie. Un autre travail chez des patients obèses français a montré qu'un variant du promoteur du gène *UCP3* pourrait contribuer à la corpulence des sujets obèses et également avoir des effets selon le degré d'activité physique des patients (interaction gène-environnement). La présence d'un allèle fréquent de ce variant réduirait en effet les effets bénéfiques de l'activité physique sur la corpulence. Une étude du variant fonctionnel Pro12Ala du gène *PPAR γ 2* montre que l'allèle Ala protège de l'obésité les sujets consommant beaucoup d'acides gras polyinsaturés alors que cet allèle confère un risque plus élevé à l'obésité chez des sujets avec une forte consommation d'acides gras saturés. Un

polymorphisme du récepteur β 2-adrénergique interagit avec le niveau d'activité physique.

Bien d'autres gènes encore sont étudiés dans de larges cohortes européennes dans lesquelles de nombreux facteurs environnementaux ont été caractérisés au sein d'études d'intervention.

En résumé, plusieurs variants géniques diversement combinés selon les individus contribuent au développement de l'obésité. L'effet cumulatif de ces gènes de susceptibilité ne deviendrait significatif qu'en interaction avec des facteurs d'environnement (suralimentation, sédentarité, stress...). Le rôle de facteurs épigénétiques vient aussi s'associer aux précédents. Il apparaît donc indispensable de préciser l'impact de l'environnement nutritionnel et des modifications comportementales sur la régulation de l'expression des gènes.

Un des enjeux futurs sera de déterminer les combinaisons des gènes et de leurs polymorphismes prédisposant au développement de l'obésité et sous quelle pression environnementale elles s'expriment. Les progrès dans la connaissance du génome humain, le développement de l'outil informatique et des nouvelles stratégies d'analyse prenant en compte les centaines d'informations génétiques et environnementales seront nécessaires pour aborder ces questions. La question du traitement statistique de ces données se pose (multiplicité).

VERS DES APPROCHES DE GÉNOMIQUE FONCTIONNELLE

Les difficultés pour identifier les cibles moléculaires, tiennent à des aspects d'ordre statistique et à l'existence d'une grande hétérogénéité des phénotypes liés à des différences de stades évolutifs de l'obésité et de susceptibilités individuelles dans les réponses au changement de l'environnement. Si l'obésité est considérée comme une maladie de l'adaptation à la pression de l'environnement, des racines de cette affection peuvent vraisemblablement être identifiées dans les groupes de gènes/protéines et les métabolites qui sont impliqués dans les réponses aux changements de l'environnement nutritionnel. Ainsi, par exemple, l'étude de l'expression génique dans les tissus impliqués dans le développement de l'obésité peut contribuer à dégager le rôle de certains signaux et à une meilleure connaissance des mécanismes de l'homéostasie énergétique. C'est dans cet esprit que se développent des stratégies de recherche visant à combiner différentes approches (biologique, génétique et d'expression) grâce aux outils informatiques. Des stratégies d'intégration des informations issues de l'analyse du génome et du transcriptome sont en marche. Un bel exemple de ces approches est fourni par un article du groupe Rosetta (Schadt *et al.*, 2003), publié dans la revue *Nature* en 2003, visant à regrouper les informations issues de l'étude des profils d'expression génique de 24 000 gènes du foie et celles issues de l'analyse génome entier chez des souris minces et obèses. Des liens entre les taux d'ARN messager du foie et des traits quantitatifs phénotypiques des animaux

ont été établis afin d'affiner la recherche des loci (QTL) qui confèrent une plus grande susceptibilité au stockage d'énergie. Le résultat le plus important montre qu'en se basant sur 300 gènes dont les différences d'expression sont les plus significatives entre les souris minces et obèses, on peut dégager deux sous-groupes distincts d'expression génique parmi les souris obèses ; un groupe de gènes sous-exprimé et un autre sur-exprimé, qui permet encore de classer les animaux obèses en sous types. L'étude génome-scan a montré que, sur les 24 000 gènes présents sur les puces à ADN, certains d'entre eux étaient associés à un locus (eQTL sur les chromosomes 2, 6, 7, 9, 10, 16, 17) pour lequel il existe une liaison génétique considérée comme classiquement satisfaisante (LOD score supérieur à 3). Par ailleurs, 30 % des loci significativement liés au profil d'expression (eQTL) coïncident avec la localisation du gène lui-même. Cette observation montre que l'expression d'un grand nombre de ces gènes est bien contrôlée par la présence de polymorphismes dans les gènes eux-mêmes ou dans des gènes situés dans des régions très proches. Les auteurs ont combiné les résultats obtenus avec le "genome-scan" et les données phénotypiques cliniques des souris, puis comparé les régions chromosomiques importantes révélées par l'étude des régions homologues chez l'Homme dans le but de repérer, parmi les gènes dont l'expression est modifiée, ceux impliqués dans la genèse de l'obésité. Le rôle important de trois gènes codant pour la protéine urinaire majeure 1 (MUP 1), une dolichol-diphospho-oligosaccharide glycosyltransférase et une ATP-ase transporteuse de cation a ainsi pu être dégagé. L'avenir dira si ces gènes étaient des cibles valables. Chez l'Homme ce type d'approche est plus complexe, mais les outils biologiques et informatiques d'analyse du transcriptome sont développés. Des équipes françaises regroupées dans un consortium de génomique fonctionnelle sur l'obésité ont ainsi pu récemment caractériser les gènes du muscle sensibles à l'adrénaline (Viguerie *et al.*, 2004), et aux hormones thyroïdiennes (Clement *et al.*, 2002). La restriction énergétique est ainsi associée à une forte mobilisation de gènes de l'inflammation et de l'immunité dans le tissu adipeux humain (Clément, 2004), confirmées par la mobilisation de cellules de l'inflammation (macrophages). Ces travaux ont permis d'identifier des cibles moléculaires contrôlées par des hormones clés de l'homéostasie énergétique et la restriction calorique, et ont contribué à ouvrir des perspectives de recherche sur le rôle des processus inflammatoires dans l'expansion du tissu adipeux et l'étiopathogénicité des complications (Viguerie *et al.*, 2005).

CONCLUSION

La constitution de banques d'ADN et de données cliniques de larges cohortes de patients non apparentés et de familles, a conduit à des progrès importants dans la compréhension de certains mécanismes associés aux obésités. L'étude des caractères héréditaires, l'étude du

génome et des gènes, de leur fonction, de leur régulation et de leurs interactions, sont de nature à bouleverser notre approche actuelle des maladies à fort impact sur la santé publique. L'avenir nous dira si le choix de ces stratégies était judicieux pour la mise en évidence de cibles de médicaments nouveaux.

Remerciements. – Ce programme de recherche génétique sur l'obésité dans les familles françaises est soutenu par la Direction de Recherche Clinique/Assistance Publique Hôpitaux de Paris (Programme Hospitalier de Recherche Clinique), le programme «Avenir» INSERM, l'Alfediam, et l'Institut de Recherche Servier.

BIBLIOGRAPHIE

- Ailhaud G., Adipose tissue as an endocrine organ. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000, 6, 24 Suppl. 2, S1-S3.
- Allison D. B. & Heo M., Meta-analysis of linkage data under worst-case conditions: a demonstration using the human OB region. *Genetics*, 1998, 2, 859-865.
- Badano J. L., Mitsuma N., Beales P. L. & Katsanis N., The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2006, 24, (Epub ahead of print).
- Barsh G. S., Farooqi I. S. & O'Rahilly S., Genetics of body-weight regulation. *Nature*, 2000, 6778, 644-651.
- Bell C. G., Benzinou M., Siddiq A., Lecoeur C., Dina C., Lemainque A., Clement K., Basdevant A., Guy-Grand B., Mein C. A., Meyre D. & Froguel P., Genome-wide linkage analysis for severe obesity in french caucasians finds significant susceptibility locus on chromosome 19q. *Diabetes*, 2004, 7, 1857-1865.
- Bouchard C., Heredity and the path to overweight and obesity. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 1991, 3, 285-291.
- Boutin P., Dina C., Vasseur F., Dubois S., Corset L., Seron K., Bekris L., Cabellon J., Neve B., Vasseur-Delannoy V., Chikri M., Charles M. A., Clement K., Lernmark A. & Froguel P., GAD2 on chromosome 10p12 is a candidate gene for human obesity. *PLoS. Biol.*, 2003, 3, E68.
- Branson R., Potoczna N., Kral J. G., Lentz K. U., Hoehe M. R. & Horber F. F., Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 12, 1096-1103.
- Carmelli D., Cardon L. R. & Fabsitz R., Clustering of hypertension, diabetes, and obesity in adult male twins: same genes or same environments? *Am. J. Hum. Genet.*, 1994, 3, 566-573.
- Chung W. K. & Leibel R. L., Molecular physiology of syndromic obesities in humans. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2005, 16, 267-272.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N., Cabrol S., Pelloux V., Casuto D., Gourmelen M., Dina C., Chambaz J., Lacorte J. M., Basdevant A., Bougneres P., Lebouc Y., Froguel P. & Guy-Grand B., A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 1998, 6674, 398-401.
- Clement K., Viguerie N., Diehn M., Alizadeh A., Barbe P., Thalamas C., Storey J. D., Brown P. O., Barsh G. S. & Langin D., *In vivo* regulation of human skeletal muscle gene expression by thyroid hormone. *Genome Res.*, 2002, 2, 281-291.
- Clement K., Viguerie N., Poitou C., Carette C., Pelloux V., Curat C. A., Sicard A., Rome S., Benis A., Zucker J. D., Vidal H., Laville M., Barsh G. S., Basdevant A., Stich V., Cancellor R. & Langin D., Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J.*, 2004, 18, 1657-1669.

- Cone R. D., Haploinsufficiency of the melanocortin-4 receptor: part of a thrifty genotype? *J. Clin. Invest.*, 2000a, 2, 185-187.
- Cone R. D., in *The Melanocortin Receptors* (Cone, R. D., ed), First Ed., 2000b, pp. 405-448, Humana Press, Totowa, New Jersey
- Cummings D. E. & Schwartz M. W., Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu. Rev. Med.*, 2003, 453-471.
- Dempfle A., Hinney A., Heinzl-Gutenbrunner M., Raab M., Geller F., Gudermann T., Schafer H. & Hebebrand J., Large quantitative effect of melanocortin-4 receptor gene mutations on body mass index. *J. Med. Genet.*, 2004, 10, 795-800.
- Dubern B., Clement K., Pelloux V., Froguel P., Girardet J., Guy-Grand B. & Tounian P., Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and α -melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. *J. Pediatr.*, 2001, 2, 204-209.
- Fan Y., Esmail M. A., Ansley S. J., Blacque O. E., Boroevich K., Ross A. J., Moore S. J., Badano J. L., May-Simera H., Compton D. S., Green J. S., Lewis R. A., van Haelst M. M., Parfrey P. S., Baillie D. L., Beales P. L., Katsanis N., Davidson W. S. & Leroux M. R., Mutations in a member of the Ras superfamily of small GTP-binding proteins causes Bardet-Biedl syndrome. *Nat. Genet.*, 2004, 9, 989-993.
- Farooqi I. S., Leptin and the onset of puberty: insights from rodent and human genetics. *Semin. Reprod. Med.*, 2002, 2, 139-144.
- Farooqi I. S., Keogh J. M., Kamath S., Jones S., Gibson W. T., Trussell R., Jebb S. A., Lip G. Y. & O'Rahilly S., Partial leptin deficiency and human adiposity. *Nature*, 2001, 6859, 34-35.
- Farooqi I. S., Keogh J. M., Yeo G. S., Lank E. J., Cheetham T. & O'Rahilly S., Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N. Engl. J. Med.*, 2003a, 12, 1085-1095.
- Farooqi I. S., Matarese G., Lord G. M., Keogh J. M., Lawrence E., Agwu C., Sanna V., Jebb S. A., Perna F., Fontana S., Lechler R. I., DePaoli A. M. & O'Rahilly S., Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J. Clin. Invest.*, 2002, 8, 1093-1103.
- Farooqi I. S., Yeo G. S., Keogh J. M., Aminian S., Jebb S. A., Butler G., Cheetham T. & O'Rahilly S., Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J. Clin. Invest.*, 2000, 2, 271-279.
- Farooqi I. S., Yeo G. S. & O'Rahilly S., Binge eating as a phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N. Engl. J. Med.*, 2003b, 6, 606-609; author reply 606-609.
- Flodmark C. E., Lissau I., Moreno L. A., Pietrobelli A. & Widhalm K., New insights into the field of children and adolescents' obesity: the European perspective. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2004, 10, 1189-1196.
- Gibson W. T., Farooqi I. S., Moreau M., DePaoli A. M., Lawrence E., O'Rahilly S. & Trussell R. A., Congenital leptin deficiency due to homozygosity for the Delta133G mutation: report of another case and evaluation of response to four years of leptin therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 10, 4821-4826.
- Gotoda T., Binge eating as a phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 6, 606-609; author reply 606-609.
- Hager J., Dina C., Francke S., Dubois S., Houari M., Vatin V., Vaillant E., Lorentz N., Basdevant A., Clement K., Guy-Grand B. & Froguel P., A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nat. Genet.*, 1998, 3, 304-308.
- Hebebrand J., Friedel S., Schaubel N., Geller F. & Hinney A., Perspectives: molecular genetic research in human obesity. *Obes. Rev.*, 2003, 3, 139-146.
- Hebebrand J., Geller F., Dempfle A., Heinzl-Gutenbrunner M., Raab M., Gerber G., Wermter A. K., Horro F. F., Blundell J., Schafer H., Remschmidt H., Herpertz S. & Hinney A., Binge-eating episodes are not characteristic of carriers of melanocortin-4 receptor gene mutations. *Mol. Psychiatry*, 2004, 8, 796-800.
- Herpertz S., Siffert W. & Hebebrand J., Binge eating as a phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 6, 606-609; author reply 606-609.
- Hinney A., Schmidt A., Nottebom K., Heibult O., Becker I., Ziegler A., Gerber G., Sina M., Gorg T., Mayer H., Siegfried W., Fichter M., Remschmidt H. & Hebebrand J., Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999, 4, 1483-1486.
- Holder J. L. Jr, Butte N. F. & Zinn A. R., Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 1, 101-108.
- Huszar D., Lynch C. A., Fairchild-Huntress V., Dunmore J. H., Fang Q., Berkemeier L. R., Gu W., Kesterson R. A., Boston B. A., Cone R. D., Smith F. J., Campfield L. A., Burn P. & Lee F., Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*, 1997, 1, 131-141.
- Jackson R. S., Creemers J. W., Ohagi S., Raffin-Sanson M. L., Sanders L., Montague C. T., Hutton J. C. & O'Rahilly S., Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat. Genet.*, 1997, 3, 303-306.
- Jacobson P., Ukkola O., Rankinen T., Snyder E. E., Leon A. S., Rao D. C., Skinner J. S., Wilmore J. H., Lonn L., Cowan G. S. Jr, Sjostrom L. & Bouchard C., Melanocortin 4 receptor sequence variations are seldom a cause of human obesity: the Swedish Obese Subjects, the HERITAGE Family Study, and a Memphis cohort. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 10, 4442-4446.
- Katsanis N., Lupski J. R. & Beales P. L., Exploring the molecular basis of Bardet-Biedl syndrome. *Hum. Mol. Genet.*, 2001, 20, 2293-2299.
- Krude H., Biebermann H., Luck W., Horn R., Brabant G. & Gruters A., Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.*, 1998, 2, 155-157.
- Le Stunff C., Fallin D., Schork N. J. & Bougneres P., The insulin gene VNTR is associated with fasting insulin levels and development of juvenile obesity. *Nat. Genet.*, 2000, 4, 444-446.
- Lubrano-Berthelie C., Cavazos M., Dubern B., Shapiro A., Stunff C. L., Zhang S., Picart F., Govaerts C., Froguel P., Bougneres P., Clement K. & Vaisse C., Molecular genetics of human obesity-associated MC4R mutations. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2003a, 49-57.
- Lubrano-Berthelie C., Cavazos M., Le Stunff C., Haas K., Shapiro A., Zhang S., Bougneres P. & Vaisse C., The human MC4R promoter: characterization and role in obesity. *Diabetes*, 2003b, 12, 2996-3000.
- Lubrano-Berthelie C., Durand E., Dubern B., Shapiro A., Dazin P., Weill J., Ferron C., Froguel P. & Vaisse C., Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated MC4R mutations. *Hum. Mol. Genet.*, 2003c, 2, 145-153.
- Meyre D., Bouatia-Naji N., Tounian A., Samson C., Lecoeur C., Vatin V., Ghoussaini M., Wachter C., Hercberg S., Charpentier G., Patsch W., Pattou F., Charles M. A., Tounian P., Clement K., Jouret B., Weill J., Maddux B. A., Goldfine I. D., Walley A., Boutin P., Dina C. & Froguel P., Variants of ENPP1 are associated with childhood and adult obesity and increase the risk of glucose intolerance and type 2 diabetes. *Nat. Genet.*, 2005, 8, 863-867.

- Miraglia Del Giudice E., Cirillo G., Nigro V., Santoro N., D'Urso L., Raimondo P., Cozzolino D., Scafato D. & Perrone L., Low frequency of melanocortin-4 receptor (MC4R) mutations in a Mediterranean population with early-onset obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002, 5, 647-651.
- Montague C. T., Farooqi I. S., Whitehead J. P., Soos M. A., Rau H., Wareham N. J., Sewter C. P., Digby J. E., Mohammed S. N., Hurst J. A., Cheetham C. H., Earley A. R., Barnett A. H., Prins J. B. & O'Rahilly S., Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 1997, 6636, 903-908.
- Myktyyn K., Nishimura D. Y., Searby C. C., Shastri M., Yen H. J., Beck J. S., Braun T., Streb L. M., Cormier A. S., Cox G. F., Fulton A. B., Carmi R., Luleci G., Chandrasekharappa S. C., Collins F. S., Jacobson S. G., Heckenlively J. R., Weleber R. G., Stone E. M. & Sheffield V. C., Identification of the gene (BBS1) most commonly involved in Bardet-Biedl syndrome, a complex human obesity syndrome. *Nat. Genet.*, 2002, 4, 435-438.
- Nijenhuis W. A., Oosterom J. & Adan R. A., AgRP(83-132) acts as an inverse agonist on the human-melanocortin-4 receptor. *Mol. Endocrinol.*, 2001, 1, 164-171.
- Perusse L., Genetics of human obesity: results from genetic epidemiology studies. *Ann. Endocrinol. (Paris)*, 2000, 61 (Suppl. 6), 24-30.
- Perusse L. & Bouchard C., Gene-diet interactions in obesity. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 5 Suppl., 1285S-1290S.
- Perusse L. & Bouchard C., Genetics of obesity and metabolic complications in the Quebec Family Study. *Med. Sci. (Paris)*, 2003, 10, 937-942.
- Perusse L., Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y. C., Weisnagel S. J., Argyropoulos G., Walts B., Snyder E. E. & Bouchard C., The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes. Res.*, 2005, 3, 381-490.
- Rome S., Clement K., Rabasa-Lhoret R., Loizon E., Poitou C., Barsh G. S., Riou J. P., Laville M. & Vidal H., Microarray profiling of human skeletal muscle reveals that insulin regulates approximately 800 genes during a hyperinsulinemic clamp. *J. Biol. Chem.*, 2003, 20, 18063-18068.
- Schadt E. E., Monks S. A., Drake T. A., Lusk A. J., Che N., Colnayo V., Ruff T. G., Milligan S. B., Lamb J. R., Cavet G., Linsley P. S., Mao M., Stoughton R. B. & Friend S. H., Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. *Nature*, 2003, 6929, 297-302.
- Slavotinek A. M., Searby C., Al-Gazali L., Hennekam R. C., Schrandt-Stumpel C., Orcana-Losa M., Pardo-Reoyo S., Cantani A., Kumar D., Capellini Q., Neri G., Zackai E. & Biesscker L. G., Mutation analysis of the MKKS gene in McKusick-Kaufman syndrome and selected Bardet-Biedl syndrome patients. *Hum. Genet.*, 2002, 6, 561-567.
- Srinivasan S., Lubrano-Berthelie C., Govaerts C., Picard F., Santiago P., Conklin B. R. & Vaisse C., Constitutive activity of the melanocortin-4 receptor is maintained by its N-terminal domain and plays a role in energy homeostasis in humans. *J. Clin. Invest.*, 2004, 8, 1158-1164.
- Suviolahti E., Oksanen L. J., Ohman M., Cantor R. M., Riddersstrale M., Tuomi T., Kaprio J., Rissanen A., Mustajoki P., Jousilahti P., Vartiainen E., Silander K., Kilpikari R., Salomaa V., Groop L., Kontula K., Peltonen L. & Pajukanta P., The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J. Clin. Invest.*, 2003, 11, 1762-1772.
- Swarbrick M. M., Waldenmaier B., Pennacchio L. A., Lind D. L., Cavazos M. M., Geller F., Merriman R., Ustaszewska A., Malloy M., Scherag A., Hsueh W. C., Rief W., Mauvais-Jarvis F., Pullinger C. R., Kane J. P., Dent R., McPherson R., Kwok P. Y., Hinney A., Hebebrand J. & Vaisse C., Lack of Support for the Association between GAD2 Polymorphisms and Severe Human Obesity. *PLoS Biol.*, 2005, 9, e315.
- Troiano R. P. & Flegal K. M., Overweight children and adolescents: description, epidemiology, and demographics. *Pediatrics*, 1998, 3 (Pt 2), 497-504.
- Vaisse C., Clement K., Durand E., Hercberg S., Guy-Grand B. & Froguel P., Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. *J. Clin. Invest.*, 2000, 2, 253-262.
- Vaisse C., Clement K., Guy-Grand B. & Froguel P., A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat. Genet.*, 1998, 2, 113-114.
- Viguerie N., Clement K., Barbe P., Courtine M., Benis A., Larrouy D., Hanczar B., Pelloux V., Poitou C., Khalifallah Y., Barsh G. S., Thalamas C., Zucker J. D. & Langin D., *In vivo* epinephrine-mediated regulation of gene expression in human skeletal muscle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004, 5, 2000-2014.
- Viguerie N., Poitou C., Canello R., Stich V., Clement K. & Langin D., Transcriptomics applied to obesity and caloric restriction. *Biochimie*, 2005, 1, 117-123.
- Xu B., Goulding E. H., Zang K., Cepoi D., Cone R. D., Jones K. R., Tecott L. H. & Reichardt L. F., Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat. Neurosci.*, 2003, 7, 736-742.
- Yeo G. S., Connie Hung C. C., Rochford J., Keogh J., Gray J., Sivaramakrishnan S., O'Rahilly S., Farooqi I. S., A *de novo* mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay. *Nat. Neurosci.*, 2004, 11, 1187-1189.