



**HAL**  
open science

# Médecine de précision du diabète de type 2 et des obésités génétiques

Lauriane Le Collen

► **To cite this version:**

Lauriane Le Collen. Médecine de précision du diabète de type 2 et des obésités génétiques. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2023. Français. NNT : 2023ULILS042 . tel-04428276

**HAL Id: tel-04428276**

**<https://theses.hal.science/tel-04428276>**

Submitted on 31 Jan 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université de Lille

École doctorale Biologie Santé de Lille

# Médecine de précision du Diabète de type 2 et des Obésités génétiques.

*Thèse de doctorat de l'Université Lille préparée à Lille*

## Le Collen Lauriane

**Date de soutenance : 11 décembre 2023**

**Composition du jury :**

Madame le Pr Anne Vambergue : **examinatrice, Présidente (Lille)**

Madame le Pr Brigitte Delemer : **co directeur de thèse (Reims)**

Monsieur le Pr Philippe Froguel : **co directeur de thèse (Lille)**

Madame le Pr Corinne Vigouroux : **rapporteur (Paris)**

Monsieur le Pr Jean Pierre Riveline : **rapporteur (Paris)**

Madame le Dr Sara Barraud : **examinatrice du jury (Reims)**

## Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le Pr Anne Vambergue, le Pr Jean Pierre Riveline, le Pr Corinne Vigouroux et le Dr Sara Barraud pour avoir accepté de siéger en tant que membres de mon jury de thèse et pour l'honneur qu'ils me font ainsi.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers le Pr Philippe Froguel pour m'avoir accueillie au sein de son unité et m'avoir témoigné sa confiance en me confiant ce passionnant projet de thèse. J'adresse des remerciements spéciaux au Dr. Amélie Bonnefond, dont la patience et la pédagogie m'ont permis d'appréhender les fondements de la biologie moléculaire et ont suscité en moi le désir de persévérer dans cette voie. Son engagement envers l'excellence et son souci du détail ont constamment contribué à améliorer la qualité de mon travail. Je souhaite également remercier chaleureusement Aurélie Dechaume pour sa bienveillance et son aide précieuse dans la résolution de questions qui, à ses yeux, ont permis de revisiter ses connaissances sous un nouvel angle.

Je tiens à adresser mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire, notamment à Mathilde pour son expertise en statistiques, à Mehdi et Alaa pour leur contribution en matière de bioinformatique, ainsi qu'à tous mes autres collègues pour leur accueil et leurs conseils bienveillants (Martine, Pascale, Corentin, Bénédicte, Frédéric, Timothé, Stéphane...). Un grand merci à tous ceux qui m'ont encadrée, formée et soutenue tout au long de ces années. La collaboration avec chacun d'entre vous a été une expérience véritablement enrichissante et un immense privilège.

Je tiens également à remercier Madame le Pr Delemer, dont le soutien indéfectible a été déterminant dans mon parcours. Sa confiance en moi et notre collaboration sur des cas non résolus resteront gravées dans ma mémoire.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers le service de Diabétologie-Endocrinologie et le service de Génétique à Reims, qui m'ont offert l'opportunité de réaliser un clinicat en parallèle de ma thèse, axé sur les pathologies rares qui me passionnent.

Mes remerciements s'adressent aussi à ceux qui ont précédemment évalué mes travaux, notamment madame le Pr Dubern et monsieur le Pr Roussel.

Je souhaite exprimer mes plus sincères remerciements à tous nos patients ainsi qu'à leurs parents, qui ont eu confiance dans la génétique moléculaire et ont accepté de poursuivre leurs analyses dans l'espoir de trouver des réponses à leurs interrogations.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers ma famille : mes parents pour leur soutien inébranlable, et ma sœur qui a été mon pilier tout au long de ces épreuves, dès ma première année de médecine.

Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude envers mes amis Pauline, Diane et Ioko, qui m'ont constamment soutenu dans les moments parfois difficiles tout au long de ces années.

Je suis profondément reconnaissante envers tous ceux qui, même s'ils ne sont pas explicitement cités dans cette liste non exhaustive, ont joué un rôle essentiel en contribuant à ma thèse et en m'apportant leur soutien tout au long de ces années.

## Publications présentées dans cette thèse

### Articles :

1. **Lauriane Le Collen**, Brigitte Delemer, Marta Spodenkiewicz, Pascale Cornillet Lefebvre, Emmanuelle Durand, Emmanuel Vaillant, Alaa Badreddine, Mehdi Derhourhi, Ait Tarik Mouhoub, Guillaume Jouret, Juttet Pauline, Pierre François Souchon, Martine Vaxillaire, Philippe Froguel, Amélie Bonnefond\*, Martine Doco Fenzy\* ; \*These authors contributed equally

**Compound genetic etiology in a patient with a syndrome including diabetes, intellectual deficiency and distichiasis** : article publié le 28 février 2022 (Orphanet Journal)

2. **Lauriane Le Collen**, Brigitte Delemer, Christine Poitou, Martine Vaxillaire, Bénédicte Toussaint, Aurélie Dechaume, Alaa Badreddine, Mathilde Boissel, Mehdi Derhourhi, Karine Clément, Jean Michel Petit, Frédéric Tran Mau-Them, Ange-Line Bruel, Christel Thauvin-Robinet, Alexandru Saveanu, Blandine Gatta Cherifi, Johanne Le Beyec-Le Bihan, Philippe Froguel, Amélie Bonnefond

**Heterozygous pathogenic mutations in *POMC* are not responsible for monogenic obesity: implication for MC4R agonist use** : article publié le 21 avril 2023 (Genetics in Medicine)

3. Youssef Kouidrat\*, Lauriane Le Collen\*, Martine Vaxillaire, Aurélie Dechaume, Bénédicte Toussaint, Emmanuel Vaillant, Souhila Amanzougarene, Mehdi Derhourhi, Brigitte Delemer, Mustapha Azahaf, Philippe Froguel and Amélie Bonnefond



**Dominant *PDX1* deficiency causes highly penetrant diabetes at different ages, associated with obesity and exocrine pancreatic deficiency: lessons for precision medicine** : article

soumis dans Diabetes

4. **Lauriane Le Collen**, Camille Desgrouas, Céline Lukas Croisier, Martine Vaxillaire, Brunot Creugnet, Aurélie Dechaume, Alaa Badreddine, Mehdi Derhourhi, Alexandre Lourdelle, Brigitte Delemer, Nathalie Bonello-Palot, Philippe Froguel, Catherine Badens, Amélie Bonnefond

**Dominant *ZMPSTE24* deficiency and hypertriglyceridemia: unveiling a novel possible cause of mild partial lipodystrophy?** : soumission imminente

**Présentations orales associées à ce travail**

**Lauriane Le Collen**, Brigitte Delemer, Christine Poitou, Martine Vaxillaire, Bénédicte Toussaint, Aurélie Dechaume, Alaa Badreddine, Mathilde Boissel, Mehdi Derhourhi, Karine Clément, Jean Michel Petit, Frédéric Tran Mau-Them, Ange-Line Bruel, Christel Thauvin-Robinet, Alexandru Saveanu, Blandine Gatta Cherifi, Johanne Le Beyec-Le Bihan, Philippe Froguel, Amélie Bonnefond

**Les mutations hétérozygotes pathogènes de *POMC* ne sont pas responsables d'obésité**

## Table des matières

<b>I. Liste des figures.....</b>	<b>7</b>
<b>II. Liste des tableaux.....</b>	<b>9</b>
<b>III. Liste des abréviations.....</b>	<b>10</b>
<b>IV. Résumé .....</b>	<b>13</b>
<b>V. Introduction .....</b>	<b>16</b>
<b>A. Diabète .....</b>	<b>16</b>
1. Contexte .....	16
2. Définitions des types de diabète .....	17
3. Chevauchement phénotypique des diabètes et description des diabètes monogéniques .....	23
4. Diabète Commun et Monogénique : vers un continuum.....	37
5. Médecine de précision dans le cadre des diabètes rares.....	42
<b>B. Obésité et syndrome métabolique .....</b>	<b>45</b>
1. Contexte .....	45
2. Définitions de l'obésité et du syndrome métabolique .....	49
3. Critères d'obésité rare.....	53
4. Les quatre catégories des obésités rares.....	54
5. Obésité Commune et Monogénique : vers un continuum.....	65
6. Médecine de précision dans le cadre des obésités rares.....	71
<b>C. Lipodystrophie partielle familiale.....</b>	<b>74</b>
1. Contexte .....	74
2. Définition et phénotype.....	74
3. Types de lipodystrophie partielle familiale .....	77
4. Médecine de précision .....	82
<b>VI. Analyses génétiques des formes monogéniques .....</b>	<b>85</b>
<b>A. Analyse de liaison .....</b>	<b>85</b>
<b>B. Sanger.....</b>	<b>87</b>
<b>C. Séquençage nouvelle génération ou séquençage à haut débit (NGS) .....</b>	<b>88</b>
1. Exome .....	88
2. Méthodes.....	90
3. Interprétation.....	91
<b>VII. Objectifs.....</b>	<b>98</b>
<b>VIII. Présentations des articles.....</b>	<b>99</b>
<b>A. Diabète .....</b>	<b>99</b>
1. Compound genetic etiology in a patient with a syndrome including diabetes, intellectual deficiency and distichiasis .....	99
2. Dominant <i>PDX1</i> deficiency causes highly penetrant diabetes at different ages, associated with obesity and exocrine pancreatic deficiency: lessons for precision medicine .....	107
<b>B. Obésité .....</b>	<b>112</b>
1. Heterozygous pathogenic variants in <i>POMC</i> are not responsible for monogenic obesity: Implication for MC4R agonist use .....	112
<b>C. Lipodystrophie partielle familiale et hypertriglycéridémie .....</b>	<b>120</b>
1. Dominant <i>ZMPSTE24</i> deficiency and hypertriglyceridemia: unveiling a novel possible cause of mild partial lipodystrophy? .....	120
<b>IX. Discussion générale et perspectives.....</b>	<b>127</b>

<b>X. Références.....</b>	<b>135</b>
<b>XI. Annexes .....</b>	<b>151</b>

## I. Liste des figures

**Figure 1.** Représentation mondiale du nombre de diabétique en 2019 selon IDF Diabetes Atlas, 9th Edition.

**Figure 2.** Mécanismes physiopathologiques du Diabète de Type 2.

**Figure 3.** Emplacement fonctionnel des gènes impliqués dans le diabète monogénique au sein des cellules  $\beta$  pancréatiques (Bonfond *et al.*).

**Figure 4.** Prévalence de l'obésité régionale selon Obépi-Roche 2020.

**Figure 5.** Courbe de corpulence (IMC chez les garçons).

**Figure 6.** Gènes codant des protéines régulant l'homéostasie énergétique (basé sur le PNDS obésités rares).

**Figure 7.** Physiopathologie de la voie leptine-mélanocortine.

**Figure 8.** Clivage de POMC en divers biopeptides Incluant l'ACTH et l'  $\alpha$ -MSH.

**Figure 9.** Schéma du phénotype clinico-biologique de la LFP2 et de ses complications associées (cardiaques, métaboliques et gynécologiques).

**Figure 10.** Séquençage par terminaison de chaîne (ou Séquençage Didéoxy) : méthode fondée sur la détection de nucléotides marqués en tant que terminateurs de chaînes, incorporés par l'ADN polymérase durant la réplication matricielle.

**Figure 11.** Schématisation des régions codantes (exons) de l'ADN, des introns et des sites de début et de fin de traduction.

**Figure 12.** Visualisation de deux fichiers extraits d'IGV pour le diagnostic d'un patient (abordé dans l'Article « Heterozygous pathogenic variants in *POMC* are not responsible for monogenic obesity »: Implication for MC4R agonist use) : détection de deux variants hétérozygotes composites dans *POMC* (A. c416dup/p.Tyr139Ter ; B. c-11C>A).

**Figure 13.** Illustration d'Alamut présentant le variant c-11C>A dans *POMC*, localisé dans la région promotrice du gène, déjà identifié comme pathogène dans ClinVar.

**Figure 14.** Phénotype des porteurs hétérozygotes/homozygotes de variants pathogènes dans *WFS1*.

**Figure 15.** Représentation simplifiée de deux TADs.

**Figure 16.** Phénotype des individus porteurs de variants pathogènes hétérozygotes/homozygotes dans *PDX1*.

**Figure 17.** Courbe pondérale d'un des deux premiers patients avec un déficit bi-allélique en *POMC*, publié par Krude en 1998.

**Figure 18.** Témoignage d'une patiente présentant une déficience en *POMC*, ayant bénéficié d'une thérapie ciblée par agoniste MC4R.

**Figure 19.** De la pré-lamine A à la lamine A : processus de maturation.

## II. Liste des tableaux

**Tableau 1.** Définition du diabète selon l'ADA en 4 catégories.

**Tableau 2.** Liste des gènes inclus dans le panel diabète, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 66 gènes.

**Tableau 3.** Diabètes Monogéniques et leurs présentations cliniques.

**Tableau 4.** Diabètes MODY : présentation clinique et approche thérapeutique basée sur le Génotype (conformément aux recommandations des PNDS pour diabètes Mody et *HNF1B*, et selon Bonnefond *et al*).

**Tableau 5.** Synthèse clinique des gènes de la voie leptine-mélanocortine associés à une obésité précoce et sévère, classés en catégorie A.

**Tableau 6.** Synthèse clinique des Obésités Syndromiques de Catégorie A.

**Tableau 7.** Liste des gènes inclus dans le panel obésité, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 124 gènes.

**Tableau 8.** Traitements actuellement disponibles pour les obésités rares.

**Tableau 9.** Lipodystrophie partielle familiale selon Mosbah *et al.*, Fernández-Pombo *et al.* et Capeau *et al.*

**Tableau 10.** Liste des gènes inclus dans le panel lipodystrophie/insulinorésistance, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 27 gènes.

**Tableau 11.** Liste des gènes inclus dans le panel dyslipidémie, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 72 gènes.

**Tableau 12.** Critères de classification des variants issus du séquençage.

### III. Liste des abréviations

**ACMG**: american college of medical genetics and genomics

**ADA** : association américaine du diabète

**AD**: autosomique dominant

**ADO** : antidiabétiques oraux

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AMTR**: anémie mégaloblastique thiamine-réactive

**AR**: autosomique récessif

**ARNm**: arn messenger

**ARNt**: arn transfert

**CIDEc** : cell death-inducing Dffa-like effector

**CNV** : variations du nombre de copies

**CTCF** : CCCTC-binding factor

**DG** : diabète gestationnel

**DI** : déficience intellectuelle

**dNTP** : désoxynucléotides

**ddNTP** : didésoxynucléotides

**DT1** : diabète type 1

**DT2** : diabète type 2

**GH** : growth hormon, hormone de croissance

**GIP** : polypeptide insulino-trope dépendant du glucose

**GHSR-1a** : growth hormone secretagogue-1a

**GWAS** : genome-wide association studies

**HGMD**: Human Gene Mutation Database

**HTA** : hypertension artérielle

**HTZ** : hétérozygote

**HMZ**: homozygote

**IA** : intelligence artificielle

**IMC** : indice de masse corporelle

**LEP** : leptine

**LEPR** : récepteur de la leptine

**LFP** : lipodystrophie partielle familiale

**LFP2** : syndrome de Dunnigan

**MAF** : minor allele frequency

**MC1R** : récepteur de la mélanocortine 1

**MC2R** : récepteur de la mélanocortine 2

**MC3R** : récepteur de la mélanocortine 3

**MC4R** : récepteur de la mélanocortine 4

**MC5R** : récepteur de la mélanocortine 5

**MODY**: maturity-onset diabetes of the young

**NGS** : séquençage nouvelle génération ou séquençage à haut débit

**PCR** : polymerase chain reaction

**PCSK1** : proconvertase

**PDX1** : pancreatic and duodenal homeobox 1

**PLIN1**: perilipine

**PNDS** : protocoles nationaux de diagnostic et de soins

**PPARgamma** : peroxisome-proliferator- activated receptor gamma

**PRS** : score de risque polygénique



**RCAD** : renal cysts and diabetes

**RCIU** : retard de croissance intra-utérin

**RE** : réticulum endoplasmique

**SEMA3A–G** : sémacorines de classe 3

**SNP** : single nucleotide polymorphisme

**STR** : short tandem repeats

**SU** : sulfamide hypoglycémiant

**T2D Portal** : type 2 diabetes knowledge portal

**TAD** : domaines d'association topologique

**TCA** : trouble du comportement alimentaire

**TND** : troubles neurodéveloppementaux

**TSA** : troubles du spectre autistique

**UCSC**: university of california, santa cruz

**VCF** : variant call format

**WES** : whole exome sequencing

**XLD** : dominant lié à l'X

**XLR** : récessif lié à l'X

## IV. Résumé

Cette thèse de sciences s'est consacrée à une exploration approfondie de la composante génétique de cas de diabète, d'obésité et de lipodystrophie familiale (FPLD). Ces maladies métaboliques d'origine multifactorielle sont des enjeux de santé cruciaux en raison de leurs impact majeur sur l'espérance et la qualité de vie des malades, mais aussi sur les systèmes collectifs de santé. L'objectif central était d'exploiter les capacités du séquençage de nouvelle génération (NGS), par exome, pour détecter des variants au sein de gènes déjà associés à ces affections chez des patients en errance diagnostic. Il est maintenant démontré qu'au moins 2% des cas de diabète de type 2 peuvent être attribués à des variants pathogènes dans des gènes liés au diabète Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY). Cette étude avait pour objectif d'améliorer le processus de diagnostic et d'optimiser la prise en charge thérapeutique de ces patients, tout en démontrant l'efficacité de l'approche de séquençage dans la gestion globale de ces affections complexes. Dans un premier cas, nous avons démontré l'importance de cette démarche en examinant un patient présentant un diabète atypique de forme syndromique. Nous avons identifié un variant hétérozygote pathogène dans *WFS1*, transmis par le père atteint de diabète. Cette découverte a eu un impact majeur sur le traitement de ce patient, mettant en évidence l'efficacité d'un traitement par analogue du GLP1 pour optimiser la gestion de son diabète. Notre étude a aussi examiné l'impact d'une délétion en 16q24.2 de novo, ayant le potentiel d'affecter la régulation d'un gène voisin, *FOXC2*, impliqué dans le syndrome lymphœdème-distichiasis. Ce cas soulevait aussi des questions sur les troubles neurodéveloppementaux, liés potentiellement à la délétion et à un variant hérité de sa mère dans *USP9X*. Ces résultats mettent en lumière l'importance cruciale du diagnostic précis dans le choix des traitements appropriés. Notre recherche a aussi porté

sur *PDX1* (*MODY4*), en analysant les porteurs hétérozygotes de variants pathogènes. Nos investigations ont révélé une pénétrance complète du diabète, une augmentation de l'indice de masse corporelle et un risque accru d'insuffisance pancréatique chez ces individus. Une fois de plus, l'utilisation d'analogues du GLP1 s'est révélée bénéfique pour optimiser la gestion de la glycémie.

Ensuite, nous avons exploré le cas d'une patiente souffrant d'obésité morbide, présentant un déficit hypophysaire combiné et une hétérozygotie composite en *POMC*. Cette observation a remis en question la notion selon laquelle l'hétérozygotie en *POMC* pouvait être la cause d'une obésité monogénique. Cela soulève la question de l'efficacité du traitement par agonistes de MC4R chez ces patients, qu'il convient de réserver aux cas dont l'étiologie génétique est avérée.

Enfin, nous avons étudié une famille présentant un syndrome métabolique associé à une possible FPLD. L'analyse génétique a révélé un variant dans *ZMPSTE24*, déjà identifié dans la même région géographique, ce qui a soulevé la question d'un variant fondateur. Cependant, la contribution de ce variant hétérozygote à la FPLD reste à confirmer, nécessitant des études complémentaires pour établir définitivement son rôle.

En conclusion, cette thèse a mis en évidence l'efficacité du NGS pour élucider des cas complexes de diabète et d'obésité atypiques, mettant en avant des formes monogéniques de ces affections. Cette recherche a élargi la portée de ses investigations en examinant ces données à l'échelle de la population générale, grâce à une revue de la littérature et à l'analyse de différentes bases de données, telles que Human Gene Mutation Database, RaDIO et UK Biobank. Nous espérons que ces résultats convaincants contribueront à encourager une adoption plus répandue du séquençage génétique, ouvrant ainsi la voie à

une personnalisation accrue des traitements en fonction du génotype des patients dans un avenir proche.

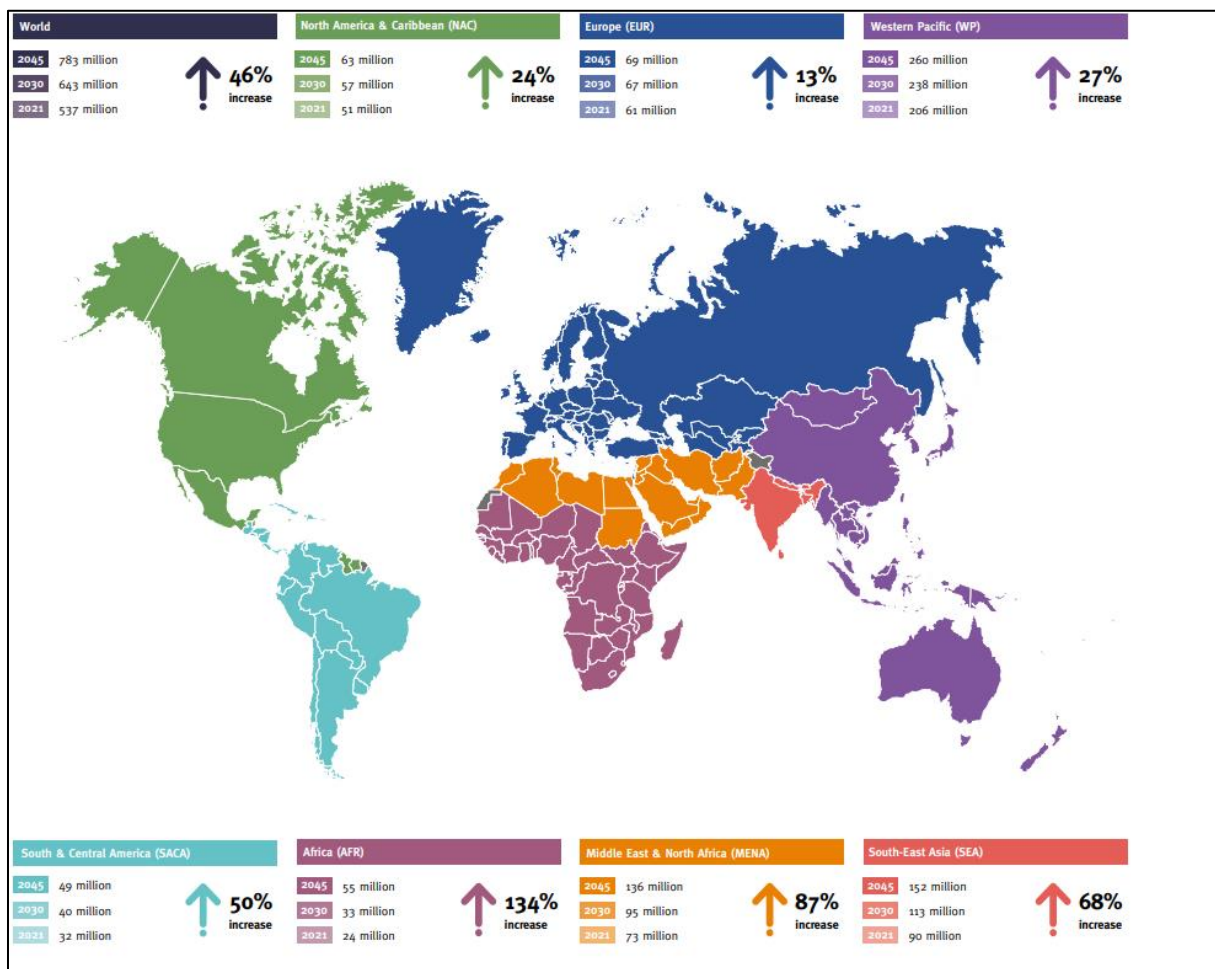
## V. Introduction

### A. Diabète

#### 1. Contexte

Le diabète, la sixième cause de mortalité<sup>1</sup>, trouve sa forme la plus fréquente dans le diabète de type 2. Selon la Fédération internationale du diabète (FID), le nombre d'adultes âgés de 20 à 79 ans touchés par le diabète était de 415 millions en 2015<sup>2</sup>, un chiffre qui a grimpé à 463 millions en 2019<sup>3</sup> (**Figure 1**). En 2021, plus de 537 millions de personnes dans le monde sont touchées par le diabète, soit une personne sur dix, dont 61 millions en Europe<sup>4</sup>.

Les conséquences de cette hyperglycémie chronique engendrent un éventail de complications, à la fois microangiopathiques et macroangiopathiques, pouvant entraîner des conséquences létales.



**Figure 1. Représentation mondiale du nombre de diabétique en 2021 selon IDF Diabetes Atlas, 10th Edition<sup>4</sup>.**

## 2. Définitions des types de diabète

L'Association Américaine du Diabète (ADA) définit le diabète comme une altération de la fonction bêta favorisée par une résistance à l'insuline<sup>5</sup>. L'ADA divise le diabète en quatre grandes catégories, tel que mis en évidence dans le **Tableau 1**.

Catégories	Types	Causes
I	DT1	<i>Auto-immun</i>
		<i>Idiopathique</i>
II	DT2	
III	Autres	<i>Génétique</i> par déficit des cellules $\beta$ pancréatiques (MODY, néonatal, mitochondrial) / de l'action insulinique liée à une cause génétique (insulino résistance de Type A, Léprechaunisme, Syndrome de Rabson-Mendenhall, diabète lipoatrophique)
		Maladie du <i>pancréas</i> exocrine (Pancreatite, pancreatectomie, hémochromatose, Néoplasie, etc)
		<i>Endocrinopathies</i> (Acromégalie, syndrome de Cushing, Glucagonome, etc)
		<i>Iatrogène</i> (glucocorticoïdes, etc)
		<i>Infectieux</i> (CMV, Rubéole congénitale, etc)
		Diabète <i>immunitaire</i> (syndrome de Stiff man, etc)
		Autres <i>syndromes</i> génétiques associant du diabète ( Syndrome de Wolfram, Syndrome de Down, Turner, Klinefelter, etc)
IV	Diabète gestationnel	

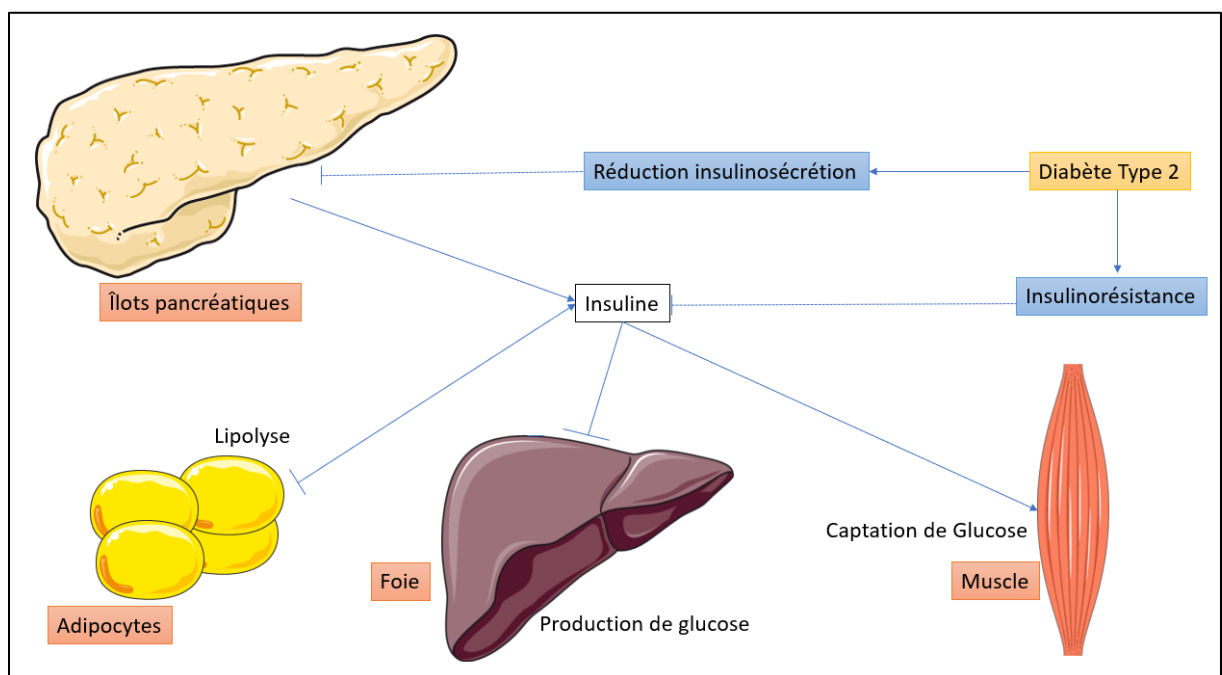
**Tableau 1. Définition du diabète selon l'ADA en 4 catégories<sup>5</sup>.**

**Le diabète de type 1 (DT1)** ne concerne qu'une minorité, environ 5 à 10 %, des personnes atteintes de diabète<sup>5</sup>. Pour rappel, les îlots de Langerhans du pancréas abritent

principalement deux types de cellules endocrines : les cellules  $\alpha$  et  $\beta$ . Les cellules  $\beta$ , prédominantes, ont un rôle crucial dans la production d'insuline. Cette hormone est sécrétée en réponse à une élévation de la glycémie plasmatique. En parallèle, les cellules  $\alpha$ , sont responsables de la sécrétion de glucagon en cas de diminution de la glycémie. Le DT1 résulte d'une **réaction auto-immune** à médiation cellulaire qui engendre la destruction des **cellules  $\beta$  du pancréas**. Cette réaction se manifeste par la présence d'auto-anticorps dirigés contre les cellules des îlots de Langerhans, l'insuline, GAD (GAD65) ainsi que les tyrosine phosphatases IA-2 et IA-2 $\beta$ . Ces auto-anticorps servent de marqueurs pour identifier la destruction immunitaire des cellules  $\beta$ , constatée chez 85 à 90 % des individus lors du diagnostic. Bien que le diabète de type 1 soit généralement identifié au cours de l'enfance, il peut également apparaître à l'âge adulte (sous la forme de DT1 lent)<sup>5</sup>.

**Le diabète de type 2 (DT2)** représente environ 90 à 95 % des cas de diabète. Dans cette forme, les patients présentent généralement une résistance à l'insuline accompagnée d'une carence relative en insuline<sup>5</sup> (**Figure 2**). La figure 2 illustre deux mécanismes essentiels : la dégradation de la capacité **d'insulinosécrétion** et **l'insulinorésistance**. L'altération des capacités d'insulinosécrétion est essentiellement d'origine génétique, bien que son impact puisse être accentué par l'hyperglycémie, une condition dénommée **glucotoxicité**. La glucotoxicité se caractérise par le fait que l'hyperglycémie peut, en elle-même, exacerber à la fois l'insulinorésistance et les perturbations de la sécrétion d'insuline. De plus, l'insulinorésistance est principalement attribuée à des facteurs environnementaux, notamment la sédentarité et une alimentation excessive et de faible qualité sur le plan nutritionnel<sup>6</sup>. L'insulinorésistance se manifeste par la nécessité d'une concentration plus élevée d'insuline pour engendrer une réponse au niveau des organes cibles :

- Dans le tissu musculaire, on observe une réduction de la captation, de l'utilisation et du stockage du glucose.
- Au niveau du foie, l'inhibition de la production hépatique de glucose est altérée, contribuant ainsi à l'hyperglycémie à jeun.
- Les adipocytes affichent une lipolyse excessive, entraînant une augmentation des acides gras libres en circulation. La lipotoxicité résulte de l'augmentation de la concentration plasmatique en acides gras libres, laquelle aggrave les anomalies de la sécrétion d'insuline, stimule la production hépatique de glucose, et inhibe la captation de glucose par les muscles.



**Figure 2. Mécanismes physiopathologiques du Diabète de Type 2. Nous exposons ici les deux mécanismes primordiaux sous-tendant l'apparition du diabète de type 2 : la détérioration de la capacité d'insulinosécrétion et l'insulino-résistance.**

Cependant, l'hyperglycémie ne survient pas sans une altération de la sécrétion d'insuline : toutes les formes de diabète découlent d'une incapacité à générer une quantité suffisante



d'insuline pour répondre aux exigences métaboliques du corps, qu'elles soient normales (comme dans le diabète de type 1) ou augmentées (chez les individus résistants à l'insuline). La sensibilité à l'insuline diminue progressivement avec l'âge, ce qui peut contribuer à la survenue du diabète si la production d'insuline ne parvient pas à compenser les demandes croissantes. Contrairement au diabète de type 1, il n'y a pas de destruction auto-immune des cellules  $\beta^5$ . La découverte du DT2 survient souvent de manière asymptomatique à l'âge adulte<sup>5</sup>.

La majorité des individus atteints de DT2 sont en surpoids, et leur résistance à l'insuline est en grande partie liée à cette condition<sup>5</sup>. La résistance à l'action de l'insuline n'est pas un facteur immuable et peut être positivement influencée par des facteurs tels que la réduction de poids et l'augmentation de l'activité physique<sup>6</sup>. D'autres **facteurs environnementaux** entrent également en jeu. L'environnement intra-utérin semble jouer un rôle crucial dans la programmation du développement fœtal, potentiellement influençant le risque ultérieur de DT2. Cette influence est principalement médiée par des modifications épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN et des histones, qui altèrent l'expression sans altérer la séquence d'ADN<sup>7</sup>. Il a été observé que les individus présentant un faible poids de naissance sont plus enclins à développer un DT2<sup>8</sup>. Cette relation pourrait découler d'une exposition précoce à la sous-nutrition, pouvant donner lieu à la survenue d'un phénotype métabolique de type "économe" caractérisé par des perturbations du métabolisme du glucose<sup>9</sup>. De plus, cette vulnérabilité peut être exacerbée en présence d'un environnement favorisant un gain de poids rapide, notamment dans le cas de suralimentation<sup>10,11</sup>.

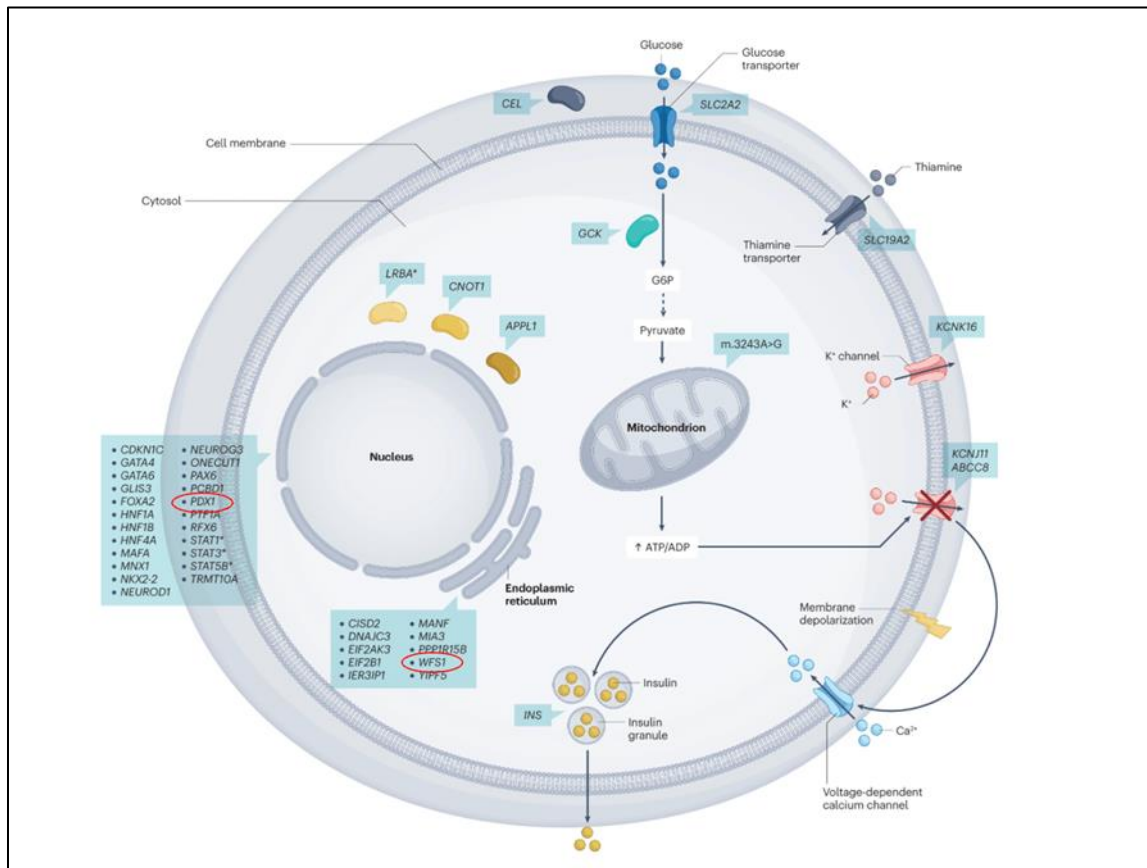
Le diabète de type 2 présente une forte **prédisposition génétique**, illustrée par la transmission familiale. En effet, selon le Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies

Métaboliques de 2021, la prévalence du diabète de type 2 chez les apparentés de sujets diabétiques de type 2 est estimée à 5 % dans la population générale française, à 90-100 % chez les jumeaux monozygotes, à 30-60 % chez les individus ayant deux parents diabétiques, et à 10-30 % en cas d'un apparenté au premier degré<sup>6</sup>. Il est essentiel de noter que cette prédisposition héréditaire intègre en grande partie des comportements liés aux habitudes alimentaires et au mode de vie, des facteurs qui se transmettent partiellement d'une génération à l'autre<sup>6</sup>.

**Le diabète gestationnel (DG)** se caractérise par une intolérance au glucose, quelle que soit son intensité, qui apparaît pour la première fois durant la grossesse<sup>12</sup>. En France, le dépistage de cette condition se déroule en deux phases pour les femmes à risque, impliquant une mesure de la glycémie à jeun au premier trimestre et/ou un test d'hyperglycémie provoquée avec 75 grammes de glucose entre la 24<sup>e</sup> et la 28<sup>e</sup> semaine de grossesse. Des études récentes ont mis en lumière la fréquence significative de l'apparition du diabète de type 2 après l'accouchement. Les femmes ayant des antécédents de diabète gestationnel présentent un risque dix fois supérieur de développer un diabète de type 2 dans la période post-partum<sup>13-15</sup>. Plus de la moitié des femmes ayant des antécédents de diabète gestationnel sont susceptibles de développer un diabète de type 2 au cours des 10 années suivant l'accouchement<sup>16,17</sup>.

En ce qui concerne les **causes génétiques**, leur diversité s'étend également à leur intégration dans des syndromes, englobant également les diabètes dits monogéniques (**Figure 3**). Notre thèse se focalisera précisément sur ces derniers. La **Figure 3** représente l'emplacement fonctionnel de ces derniers, qui sera également développé plus en détail dans

le **Tableau 3**, partie « **Chevauchement phénotypique des diabètes et description des diabètes monogéniques** ».



**Figure 3. Emplacement fonctionnel des gènes impliqués dans le diabète monogénique au sein des cellules  $\beta$  pancréatiques (Bonfond *et al.*)<sup>18</sup>.**

Les cercles rouges mettent en avant deux gènes que nous développerons ultérieurement.

Les astérisques désignent les gènes responsables du diabète auto-immun monogénique. Le

symbole d'éclair jaune signale la dépolarisation de la membrane, tandis que le symbole X

rouge indique la fermeture du canal K<sup>+</sup>. G6P fait référence au glucose-6-phosphate.

### 3. Chevauchement phénotypique des diabètes et description des diabètes monogéniques

Contrairement à la classification classique des diabètes, il existe un chevauchement phénotypique entre le diabète monogénique, le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

Le **DT1**, maladie auto-immune d'origine polygénique, se caractérise par la destruction des cellules  $\beta$  du pancréas, dès l'enfance, aboutissant à une carence totale en insuline<sup>19</sup>. Les gènes associés à cette maladie ont souvent une modalité de transmission récessive.

En revanche, le **DT2**, qui se manifeste généralement à l'âge adulte, résulte d'une destruction progressive des cellules  $\beta$  associée à une sécrétion altérée d'insuline, accompagnée d'une insulino-résistance<sup>19</sup>. Récemment, une autre classification des diabètes de type 2 a été proposée. La nature hétérogène du DT2, caractérisée par des présentations et des progressions variables entre les individus, a incité à adopter une approche de classification en clusters, dans le but de parvenir à une médecine prédictive pour ces patients<sup>20</sup>. Cette méthodologie vise à identifier des sous-groupes de patients exposés à un risque accru de développer un DT2 et ses complications. Des études récentes, dont une étude menée en Allemagne et reproduite dans une vaste cohorte britannique, ont utilisé une multitude de variables (tests de tolérance au glucose, mesure du tissu adipeux hépatique, tomographie du tissu adipeux, score polygénique du diabète de type 2 incluant 484 788 SNPs) pour établir six clusters distincts de patients à risque de diabète de type 2<sup>21</sup>. En conséquence, six clusters distincts ont été identifiés avec différents niveaux de risque de diabète : faible/ très faible/ défaillance des cellules  $\beta$ / faible et obésité/élevée, stéatose hépatique et insulino-résistance/ élevée, tissu adipeux viscéral et néphropathie. Les clusters 3, 5 et 6 sont associés à un risque accru de néphropathie, tandis que les clusters 5 et 6 sont liés à une mortalité accrue toutes

causes confondues. Le cluster 5 regroupe la sous-population présentant le plus grand risque de DT2 avec complications rénales, nécessitant notamment une intervention préventive précoce.

Ces efforts de classification du diabète de type 2 se sont également enrichis par l'identification de variants pathogènes dans le diabète monogénique, chez des patients initialement diagnostiqués comme ayant un type 2<sup>22-24</sup>.

Les **diabètes monogéniques**, sont habituellement observés chez des patients jeunes qui ne présentent pas de surpoids. Ainsi, les recommandations actuelles en matière de recherche de diabète monogénique sont basées sur une analyse de 60 études<sup>25</sup>. Il est ainsi justifié de le rechercher chez les patients diabétiques non obèses, âgés de moins de 30 ans, dont le diabète n'est pas d'origine auto-immune et/ou qui présentent un taux sérique de peptide C conservé<sup>25</sup>. Toutefois, comme mentionné antérieurement, il est important de noter que des patients qui ont reçu à tort un diagnostic de diabète de type 2 peuvent en réalité porter des variants pathogènes responsables de formes monogéniques de diabète. Par conséquent, l'applicabilité de ces recommandations demeure théorique. Il est donc essentiel de souligner les situations cliniques qui pourraient évoquer un **diabète atypique**<sup>26</sup>, que ce soit par son apparition ou son évolution, et qui pourrait être d'origine monogénique. Les contextes cliniques à identifier incluent :

- une hyperglycémie à jeun modérée et stable,
- un diabète "de type 1" sans autoanticorps ni cétose,
- une stabilité inhabituelle dans l'équilibre du diabète "de type 1",
- un diabète "de type 2" sans surpoids ni signes d'insulinorésistance,
- une sensibilité inhabituelle aux sulfamides hypoglycémiantes ou aux glinides,

- des atteintes extrapancréatiques telles que rénales, hépatiques ou urogénitales,
- une forte prédisposition familiale au diabète avec une apparition précoce et en l'absence de surpoids,
- une histoire familiale combinant divers phénotypes de diabète,
- des antécédents personnels ou familiaux de diabète néonatal ou d'hypoglycémies néonatales par hyperinsulinisme.

En tant que clinicien, il est impératif de maintenir une vigilance accrue face à toute situation clinique supplémentaire évoquant la présence d'une forme syndromique, pouvant notamment comprendre des manifestations telles que la déficience intellectuelle, la surdité, le retard de croissance, *etc.*

À ce jour, **plus de 40 sous-types de diabète monogénique** ont été identifiés, les plus fréquents étant *GCK* et *HNF1A*<sup>18</sup>. De plus, une étude menée sur 74629 individus au sein du laboratoire a révélé que les mutations pathogènes prédominaient principalement dans le gène *GCK*, et dans une moindre mesure dans *HNF4A*, *KCNJ11*, *HNF1B* et *ABCC8*<sup>22</sup>.

**Le panel « Diabète »** utilisé au sein de notre laboratoire englobe les diabètes monogéniques (néonatal, maturity-onset diabetes of the young ou MODY, syndromique) mais également les diabètes auto immuns (**Tableau 2**). Ce dernier a été utilisé dans mon travail pour identifier les cas suspects de diabète monogénique ou syndromique.

Gène	Transcrit
<i>ABCC8</i>	NM_000352.6
<i>ADIPOQ</i>	NM_004797.4
<i>AIRE</i>	NM_000383.4
<i>AKT2</i>	NM_001626.6
<i>APPL1</i>	NM_012096.3
<i>BLK</i>	NM_001715.3
<i>BLM</i>	NM_000057.4
<i>CD274</i>	NM_014143.4
<i>CDKN1C</i>	NM_000076.2
<i>CEL</i>	NM_001807.6
<i>CELA2A</i>	NM_033440.3
<i>CISD2</i>	NM_001008388.5
<i>CNOT1</i>	NM_001265612.2
<i>DNAJC3</i>	NM_006260.5
<i>DYRK1B</i>	NM_004714.3
<i>EIF2AK3</i>	NM_004836.7
<i>EIF2B1</i>	NM_001414.4
<i>EPHX1</i>	NM_000120.4
<i>FOXA2</i>	NM_021784.5
<i>FOXP3</i>	NM_014009.4
<i>GATA4</i>	NM_002052.5
<i>GATA6</i>	NM_005257.6
<i>GCK</i>	NM_000162.5
<i>GLIS3</i>	NM_152629.4
<i>HNF1A</i>	NM_000545.8
<i>HNF1B</i>	NM_000458.4
<i>HNF4A</i>	NM_175914.4
<i>IER3IP1</i>	NM_016097.5
<i>IL2RA</i>	NM_000417.3
<i>INS</i>	NM_000207.3
<i>INSR</i>	NM_000208.4
<i>IRS1</i>	NM_005544.3
<i>KCNJ11</i>	NM_000525.4

Gène	Transcrit
<i>KCNK16</i>	NM_001135105.2
<i>KLF11</i>	NM_003597.5
<i>LRBA</i>	NM_006726.4
<i>LRP6</i>	NM_002336.3
<i>MAFA</i>	NM_201589.4
<i>MIA3</i>	NM_198551.4
<i>MXN1</i>	NM_005515.4
<i>MRAP2</i>	NM_138409.4
<i>NEUROD1</i>	NM_002500.5
<i>NEUROG3</i>	NM_020999.4
<i>NKX2-2</i>	NM_002509.4
<i>ONECUT1</i>	NM_004498.4
<i>PAX4</i>	NM_001366110.1
<i>PAX6</i>	NM_000280.5
<i>PCBD1</i>	NM_000281.4
<i>PCYT1A</i>	NM_005017.4
<i>PDX1</i>	NM_000209.4
<i>PPARG</i>	NM_015869.5
<i>PPP1R15B</i>	NM_032833.5
<i>PTF1A</i>	NM_178161.3
<i>RFX6</i>	NM_173560.4
<i>SLC19A2</i>	NM_006996.3
<i>SLC2A2</i>	NM_000340.2
<i>STAT1</i>	NM_007315.4
<i>STAT3</i>	NM_139276.3
<i>STAT5B</i>	NM_012448.4
<i>TRMT10A</i>	NM_152292.5
<i>WFS1</i>	NM_006005.3
<i>YIPF5</i>	NM_001024947.4
<i>ZFP57</i>	NM_001109809.5
<i>ZMPSTE24</i>	NM_005857.5
<i>ZNF808</i>	NM_001039886.4
<i>MANF</i>	NM_006010.6

**Tableau 2. Liste des gènes inclus dans le panel diabète, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 66 gènes.**

Les **diabètes monogéniques** résultent fréquemment d'une altération de la fonction ou du développement des îlots de Langerhans (cellules  $\beta$ ) et peuvent entraîner parfois des perturbations dans la fonction exocrine du pancréas.

Les diabètes monogéniques englobent les formes suivantes, illustré dans la **Tableau 3** :

- Le diabète **néonatal**,
- Le diabète **MODY** (Maturity Onset Diabetes of the Young),
- Le diabète **syndromique**.

Ces types de diabète peuvent se manifester comme le premier signe clinique (cas du diabète néonatal) ou survenir ultérieurement. Les diabètes monogéniques partagent principalement la caractéristique d'une apparition précoce et d'une composante héréditaire.

Le diabète **néonatal** survient au cours des six premiers mois de la vie, tandis que le diabète **MODY** peut démarrer pendant l'enfance, l'adolescence ou au début de l'âge adulte (souvent avant 25 ans). La prévalence du diabète MODY est estimée entre ~0,5 à 5 % des cas de diabètes non auto-immuns<sup>18</sup>.

Nous avons pris soin de décrire, dans le **Tableau 3**, les divers phénotypes liés à l'ensemble des diabètes monogéniques ainsi que le rôle des protéines codées par les gènes impliqués. La **Figure 3** récapitule l'expression et la localisation protéiques de ces derniers, présentés précédemment.



Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<b>MODY</b>				
<i>GCK</i>	Glucose kinase.	AD/AR	7p13	Hyperglycémie modérée à jeun, présente dès la naissance et maintenue de manière stable au fil du temps, avec des complications rares.
<i>HNF1A</i>	Facteur de transcription.	AD	12q24.31	Diabète généralement survenant autour de la période de la puberté, avec un phénotype variable en fonction du variant génétique (dans 25 % des cas, révélation aiguë similaire au DT1 mais rarement accompagnée d'acido cétose, et dans 75 % des cas, similaire au DT2).
<i>HNF4A</i>	Facteur de transcription.	AD	20q13.12	Macrosomie observée dans 50 % des cas, associée à un hyperinsulinisme néonatal pouvant entraîner des épisodes d'hypoglycémie, ainsi que des taux réduits d'ApoA2 et de HDL-cholestérol.
<i>PDX1</i>	Facteur de transcription.	AD	13q12.2	Diabète à apparition néonatale ou à l'âge adulte, associé à une insuffisance pancréatique. La sévérité du phénotype est moins prononcée en cas de présence de variants hétérozygotes.
<i>HNF1B</i>	Facteur de transcription.	AD	17q12	Manifestations rénales (Renal Cysts And Diabetes (RCAD), hypomagnésémie, hypokaliémie, malformations génito-urinaires, hypoplasie pancréatique, et fluctuations anormales des paramètres hépatiques.
<i>NEUROD1</i>	Facteur de transcription.	AD	2q31.3	Diabète néonatal ou à début durant l'enfance ou à l'âge adulte avec altérations neurologiques.
<i>CEL</i>	Carboxyl ester lipase.	AD	9q34.13	Diabète précoce (<45 ans) associé à une dysfonction exocrine pancréatique caractérisée par une réduction de l'élastase fécale et une atrophie pancréatique accompagnée de lipomatose et de kystes.
<i>INS</i>	Hormone peptidique (insuline).	AD	11p15.5	Diabète débutant à la naissance ou dans la petite enfance, allant du pseudo-diabète de type 1 à des formes modérées. Les variants situés dans <i>INS</i> induisent une hyperinsulinémie, une hyperproinsulinémie, un diabète

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
				néonatal, le diabète MODY1 ainsi qu'une forme de diabète de type 1 sans anticorps.
<i>ABCC8</i>	Sous-unité de canal potassique.	AD	11p15.1	Diabète survenant à la naissance ou pendant l'enfance, associé à des fluctuations entre hyperglycémies et hypoglycémies, et présentant peu de complications.
<i>KCNJ11</i>	Sous-unité de canal potassique.	AD	11p15.1	Diabète survenant à la naissance ou pendant l'enfance, associé à des fluctuations entre hyperglycémies et hypoglycémies, et présentant peu de complications.
<i>GATA6</i>	Facteur de transcription.	AD	18q11.2	Diabète néonatal, infantile et de l'adulte, associé à une insuffisance pancréatique exocrine, une agénésie ou hypoplasie pancréatique, diverses malformations cardiaques, une agénésie de la vésicule biliaire/atrésie biliaire, une hypothyroïdie, un hypopituitarisme et une agénésie hypophysaire, une malrotation intestinale, des hernies, une perforation colique, des anomalies structurelles des reins, ainsi qu'un déficit neurocognitif et des crises convulsives.
<i>WFS1</i>	Homéostasie calcique.	AD/AR	4p16.1	Dans sa forme classique (mode de transmission autosomique récessif), il se caractérise par un diabète précoce nécessitant de l'insuline, une atrophie optique, une surdité neurosensorielle, un diabète insipide, des manifestations neurologiques et des anomalies des voies urinaires. Dans la forme dominante, le phénotype est moins sévère pouvant inclure qu'un diabète isolé.
<i>TRMT10A</i>	Méthylase d'ARNt.	AR	4q23	Diabète survenant avant 25 ans concomitant avec une petite taille, une microcéphalie et une déficience intellectuelle.
<i>PCBD1</i>	Enzyme impliquée dans l'hydroxylation de la phénylalanine.	AR	10q22.1	Diabète précoce non auto-immun présentant des similitudes avec le diabète lié à <i>HNF1A</i> , associé à une hypomagnésémie et une hyperphénylalaninémie.
<i>GATA4</i>	Facteur de transcription.	AD	8p23.1	Diabète néonatal ou durant l'enfance, transitoire ou permanent, associé à une altération de la fonction exocrine pancréatique (agénésie ou hypoplasie),

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
				ainsi qu'à des déficits neurocognitifs et des malformations cardiaques congénitales.
<i>APPL1</i>	Protéine adaptatrice multifonctionnelle.	AD	3p14.3	Diabète de survenue variable (enfance à adulte).
<i>RFX6</i>	Facteur de transcription.	AD	6q22.1	Diabète non auto immun, avec réduction de la sécrétion d'insuline et de polypeptide insulinothèque dépendant du glucose (GIP) en réponse à l'ingestion de glucose.
<i>MAFA</i>	Facteur de transcription.	AD	8q24.3	Insulinomatoses ou diabète.
<i>SLC19A2</i>	Transporteur de thiamine.	AD/AR	1q24.2	L'anémie mégalo-blastique thiamine-réactive (AMTR), est associée à un diabète, de la surdité et de l'anémie mégalo-blastique, dans la période néonatale ou petite enfance. Elle peut également s'accompagner de signes neurologiques.
<i>ONECUT1</i>	Facteur de transcription.	AD	15q21.3	Diabète précoce non auto-immun.
<i>MT-TL1: m.3243A&gt;G</i>	ARNt mitochondrial-leucine.	Maternelle	Mitochondrie	La présentation clinique varie du pseudo-diabète de type 1 au pseudo-diabète de type 2, avec une transmission maternelle et la présence de certains traits cliniques tels que la surdité, la dystrophie maculaire, les troubles neurologiques ou musculaires, les cardiopathies ou les néphropathies.
<i>KCNK16</i>	Sous-unité de canal potassique.	AD	6p21.2	Diabète non auto-immun, poids normal, sans cétose.
<b>Diabète Néonatal</b>				
<i>HNF1B</i>	Facteur de transcription.	AD	17q12	Manifestations rénales (Renal Cysts And Diabetes (RCAD)), hypomagnésémie, hypokaliémie, malformations génito-urinaires, hypoplasie pancréatique, et fluctuations anormales des paramètres hépatiques.
<i>GCK</i>	Glucose kinase.	AR	7p13	Hyperglycémie modérée à jeun, présente dès la naissance et maintenue de manière stable au fil du temps, avec des complications rares.

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<i>KCNJ11</i>	Sous-unité de canal potassique.	AD/AR	11p15.1	Diabète survenant à la naissance ou pendant l'enfance, associé à des fluctuations entre hyperglycémies et hypoglycémies, et présentant peu de complications.
<i>ABCC8</i>	Sous-unité de canal potassique.	AD/AR	11p15.1	Diabète survenant à la naissance ou pendant l'enfance, associé à des fluctuations entre hyperglycémies et hypoglycémies, et présentant peu de complications.
<i>INS</i>	Hormone peptidique (insuline).	AD/AR	11p15.5	Diabète débutant à la naissance ou dans la petite enfance, allant du pseudo-diabète de type 1 à des formes modérées. Les variants situés dans <i>INS</i> induisent une hyperinsulinémie, une hyperproinsulinémie, un diabète néonatal, le diabète MODY1 ainsi qu'une forme de diabète de type 1 sans anticorps.
<i>GATA6</i>	Facteur de transcription.	AD	18q11.2	Diabète néonatal, infantile et de l'adulte, associé à une insuffisance pancréatique exocrine, une agénésie ou hypoplasie pancréatique, diverses malformations cardiaques, une agénésie de la vésicule biliaire/atrésie biliaire, une hypothyroïdie, un hypopituitarisme et une agénésie hypophysaire, une malrotation intestinale, des hernies, une perforation colique, des anomalies structurelles des reins, ainsi qu'un déficit neurocognitif et des crises convulsives.
<i>GATA4</i>	Facteur de transcription.	AD	8p23.1	Diabète néonatal ou durant l'enfance, transitoire ou permanent, associé à une altération de la fonction exocrine pancréatique (agénésie ou hypoplasie), ainsi qu'à des déficits neurocognitifs et des malformations cardiaques congénitales.
<b>Syndromique</b>				
<i>MT-TL1:</i> m.3243A>G	ARNt mitochondrial-leucine.	Maternelle	Mitochondrie	La présentation clinique varie du pseudo-diabète de type 1 au pseudo-diabète de type 2, avec une transmission maternelle et la présence de certains traits cliniques tels que la surdité, la dystrophie maculaire, les troubles neurologiques ou musculaires, les cardiopathies ou les néphropathies.

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<i>HNF1B</i>	Facteur de transcription.	AD	17q12	Manifestations rénales (Renal Cysts And Diabetes (RCAD), hypomagnésémie, hypokaliémie, malformations génito-urinaires, hypoplasie pancréatique, et fluctuations anormales des paramètres hépatiques.
<i>AIRE</i> <sup>a</sup>	Facteur de transcription.	AD/AR	21q22.3	Polyendocrinopathie auto-immune de type 1 pouvant inclure un diabète de type 1.
<i>PDX1</i>	Facteur de transcription.	AR	13q12.2	Diabète à apparition néonatale ou à l'âge adulte, associé à une insuffisance pancréatique. La sévérité du phénotype est plus prononcée en cas de présence de variants bi-alléliques.
<i>SLC2A2</i>	Transporteur de glucose.	AR	3q26.2	Un diabète néonatal transitoire est possible et ce en l'absence du syndrome de Fanconi-Bickel
<i>WFS1</i>	Homéostasie calcique.	AD/AR	4p16.1	Dans sa forme classique (mode de transmission autosomique récessif), il se caractérise par un diabète précoce nécessitant de l'insuline, une atrophie optique, une surdité neurosensorielle, un diabète insipide, des manifestations neurologiques et des anomalies des voies urinaires. Dans la forme dominante, le phénotype est moins sévère pouvant inclure qu'un diabète isolé.
<i>SLC19A2</i>	Transporteur de thiamine.	AR	1q24.2	L'anémie mégaloblastique thiamine-réactive (AMTR), est associée à un diabète, de la surdité et de l'anémie mégaloblastique, dans la période néonatale ou petite enfance. Elle peut également s'accompagner de signes neurologiques.
<i>EIF2AK3</i>	Protéine kinase régulant la traduction.	AR	2p11.2	Le syndrome de Wolcott-Rallison se caractérise par un diabète insulino-dépendant se manifestant dès la période néonatale ou la petite enfance, ainsi qu'une prédisposition précoce aux fractures osseuses et une dysplasie spondyloépiphyseaire.
<i>FOXP3</i> <sup>a</sup>	Facteur de transcription.	XLR	Xp11.23	Le syndrome IPEX comprend une entéropathie, des maladies auto-immunes (notamment le diabète de type I) et atteinte cutanée.
<i>PTF1A</i>	Facteur de transcription.	AR	10p12.2	Diabète néonatal permanent associé à une agénésie pancréatique et à un dysfonctionnement exocrine pancréatique, ainsi qu'à un retard de

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
				développement, une hypoventilation centrale et une agénésie cérébelleuse. L'anémie, l'hyperferritinémie et la cholestase peuvent également être retrouvées.
<i>GLIS3</i>	Facteur de transcription.	AR	9p24.2	Diabète néonatal avec hypothyroïdie congénitale, accompagné de retard de croissance intra-utérin (RCIU), glaucome congénital, polykystose rénale, fibrose hépatique cholestatique, insuffisance exocrine pancréatique, retard de développement, traits faciaux dysmorphiques, surdité sensorielle, ostéopénie et anomalies squelettiques.
<i>CEL</i>	Carboxyl ester lipase.	AD	9q34.13	Diabète précoce (<45 ans) associé à une dysfonction exocrine pancréatique caractérisée par une réduction de l'élastase fécale et une atrophie pancréatique accompagnée de lipomatose et de kystes.
<i>PAX6</i>	Facteur de transcription.	AR	11p13	Aniridie et diabète précoce.
<i>STAT5B<sup>a</sup></i>	Facteur de transcription.	AR	17q21.2	DT1.
<i>CISD2</i>	Régulateur de l'autophagie.	AR	4q24	Wolfram syndrome de type 2 comprenant une atrophie optique précoce, un diabète, une surdité, et une absence de diabète insipide.
<i>RFX6</i>	Facteur de transcription.	AR	6q22.1	Le syndrome de Mitchell-Riley comprend un diabète néonatal avec hypoplasie pancréatique, atrésie duodénale et jéjunale, ainsi qu'une agénésie de la vésicule biliaire
<i>NEUROD1</i>	Facteur de transcription.	AR	2q31.3	Diabète néonatal ou à début durant l'enfance ou à l'âge adulte avec altérations neurologiques.
<i>NEUROG3</i>	Facteur de transcription.	AR	10q22.1	Diabète non auto-immun survenant avant 6 mois de vie, associé à une diarrhée malabsorptive congénitale. Atteinte des voies biliaires, de la glande thyro�ide et du système nerveux central reportée.
<i>IER3IP1</i>	Régule la sécrétion du réticulum endoplasmique.	AR	18q21.1	Syndrome de microcéphalie, épilepsie et diabète de type 1 (MEDS1)

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<i>ZFP57</i>	Facteur de transcription.	AR	6p22.1	Diabète néonatal transitoire associé à une hernie ombilicale, une macroglossie, une hémihypertrophie, un pectus carinatum et une déficience intellectuelle.
<i>MXN1</i>	Facteur de transcription.	AR	7q36.3	Diabète néonatal permanent, avec ou sans anomalies congénitales neurologiques, squelettiques, pulmonaires et urologiques multiples (incluant l'hypospadias), ainsi qu'une hernie ombilicale congénitale, et entraînant un retard de croissance.
<i>GATA6</i>	Facteur de transcription.	AD	18q11.2	Diabète néonatal, infantile et de l'adulte, associé à une insuffisance pancréatique exocrine, une agénésie ou hypoplasie pancréatique, diverses malformations cardiaques, une agénésie de la vésicule biliaire/atrésie biliaire, une hypothyroïdie, un hypopituitarisme et une agénésie hypophysaire, une malrotation intestinale, des hernies, une perforation colique, des anomalies structurelles des reins, ainsi qu'un déficit neurocognitif et des crises convulsives.
<i>DNAJC3</i>	Réponse aux protéines non repliées.	AR	13q32.1	Diabète juvénile non auto-immun, associé à une neurodégénérescence, une perte auditive, une petite taille et une hypothyroïdie
<i>STAT3<sup>a</sup></i>	Facteur de transcription.	AD	17q21.2	DT1.
<i>TRMT10A</i>	Méthylase d'ARNt.	AR	4q23	Diabète survenant avant 25 ans concomitant avec une petite taille, une microcéphalie et une déficience intellectuelle.
<i>GATA4</i>	Facteur de transcription.	AD	8p23.1	Diabète néonatal ou durant l'enfance, transitoire ou permanent, associé à une altération de la fonction exocrine pancréatique (agénésie ou hypoplasie), ainsi qu'à des déficits neurocognitifs et des malformations cardiaques congénitales.
<i>NKX2-2</i>	Facteur de transcription.	AR	20p11.22	Diabète néonatal sévère, associé à un faible poids de naissance, à l'obésité infantile et à un retard de développement.
<i>CDKN1C</i>	Inhibiteur des kinases cycline-dépendantes.	AD	11p15.4	Syndromes avec retard de croissance, comprenant les syndromes IMAGe, Silver Russell ainsi qu'un syndrome avec les caractéristiques du syndrome IMAGe, mais sans insuffisance surrénalienne ni dysplasie métaphysaire, caractérisé par un diabète débutant à l'âge adulte précoce.

Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<i>PPP1R15B</i>	Sous-unité de la phosphatase protéique.	AR	1q32.1	Diabète, déficience intellectuelle, petite taille et microcéphalie.
<i>LRBA</i> <sup>a</sup>	Régulateur du trafic vésiculaire.	AR	4q31.3	Début précoce du diabète, parfois avec des caractéristiques auto-immunes, associé à une diarrhée chronique, des maladies auto-immunes, une organomégalie, des infections récurrentes fréquentes, une hypogammaglobulinémie, des manifestations pulmonaires chroniques et un retard de croissance.
<i>IL2RA</i> <sup>a</sup>	Composant du récepteur de l'interleukine-2.	AR	10p15.1	DT1.
<i>FOXA2</i>	Facteur de transcription.	AD	20p11.21	Diabète infantile associé à un hypopituitarisme congénital, une malformation cardiaque et une atrésie anale. Des cas d'hyperinsulinisme congénital ont également été rapportés.
<i>CNOT1</i>	Composant structurel de l'ARNm déadénylase ubiquitaire.	AD	16q21	Diabète néonatal avec agénésie pancréatique et holoprosencéphalie.
<i>YIPF5</i>	Transport vésiculaire du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi.	AR	5q31.3	Diabète néonatal avec microcéphalie et épilepsie.
<i>EIF2B1</i>	Facteur d'échange de la Guanosine Triphosphate impliqué dans l'initiation de la traduction.	AD	12q24.31	Diabète néonatal ou infantile associé à une hépatite transitoire.
<i>MIA3</i>	Régule la sécrétion du réticulum endoplasmique.	AR	1q41	Odontochondrodysplasie avec surdité et diabète.
<i>STAT1</i> <sup>a</sup>	Facteur de transcription.	AD	2q32.2	Diabète de début juvénile, avec déficience intellectuelle avec surdité sensorielle, petite taille, dentinogenèse imparfaite.



Gene	Fonction protéique	Mode de transmission	Localisation	Clinique
<i>MANF</i>	Facteur neurotrophique.	AR	3p21.2	Diabète dès l'enfance, petite taille, surdité, retard de développement et microcéphalie.
<i>ONECUT1</i>	Facteur de transcription.	AR	15q21.3	Diabète syndromique précoce associé à un retard de croissance intra-utérin, une hypoplasie pancréatique et une agénésie/hypoplasie de la vésicule biliaire.

**Tableau 3. Diabètes Monogéniques et leurs présentations cliniques<sup>18,27-65</sup>.**

**MODY, maturity-onset diabetes of the young ; AD: autosomique dominant ; AR: autosomique récessif ; XLR: transmission récessive liée à l'X ; <sup>a</sup>Gènes responsable de forme monogénique auto immune.**

#### 4. Diabète Commun et Monogénique : vers un continuum

Il est essentiel de noter que les aspects monogéniques et polygéniques peuvent parfois se chevaucher, afin de mieux appréhender la globalité du phénotype de nos patients.

La recherche axée sur le diabète monogénique a contribué à faire évoluer notre compréhension de la physiopathologie du diabète ainsi que de la génétique d'autres affections courantes telles que l'obésité<sup>18,65</sup>.

En effet depuis 2003, les avancées en séquençage du **génome** humain et le projet HapMap ont créé des cartes génétiques détaillées du génome humain, divisé en milliers de groupes de variations nucléotidiques fréquentes appelées single nucleotide polymorphisme (SNPs). Le projet HapMap avait pour objectif de comparer les séquences génétiques de divers individus issus de différentes populations afin de repérer les régions chromosomiques partageant des variants génétiques. De façon parallèle, la technologie de génotypage des SNPs a connu une évolution majeure, passant du test d'un seul SNP au génotypage simultané de centaines de milliers de SNPs grâce à des puces à ADN. Les études d'association pangénomique (genome-wide association studies, **GWAS**) ont ensuite utilisé ces puces pour identifier les différences de fréquence allélique entre les patients atteints de DT2 et les témoins normoglycémiques. En 2014, ces recherches ont identifié plus de 175 loci génomiques liés à des phénotypes métaboliques courants, notamment le diabète de type 2 et l'obésité. Parmi ces loci, 90 étaient spécifiquement initialement associés au risque de DT2<sup>66</sup>. Cependant, ces découvertes expliquaient seulement une fraction de **l'héritabilité** du DT2 (10%)<sup>67</sup>. La complexité résultant de la multiplicité des loci contribuant au risque de DT2 justifie la qualification de ce dernier en tant que maladie polygénique.

De plus les études d'association à l'échelle du génome ont considérablement élargi le répertoire des loci de susceptibilité associés aux diabètes de type 1 ou de type 2. Bien que le

DT1 et le DT2 présentent des chevauchements dans certains caractères cliniques et pathologiques, les loci de susceptibilité identifiés par les GWAS indiquent que la base génétique des deux types fréquents de diabète est en grande partie distincte. Conformément à cette hypothèse, les études d'association de gènes candidats ainsi que les GWAS ont identifié en 2016 plus de 50 loci de susceptibilité pour le diabète de type 1 et environ 100 loci de susceptibilité pour le diabète de type 2<sup>65</sup>. En 2018, les études d'association à l'échelle du génome ont finalement identifié 240 loci fréquents associés au risque de DT2, mais ils n'expliquent que 20 % de l'héritabilité du DT2<sup>68</sup>. Il convient de discuter de l'utilisation optimale des scores polygéniques (**PRS**) pour une évaluation approfondie du patient, permettant ainsi de prédire les risques potentiels de développer un diabète commun. Le PRS est un indicateur utilisé pour évaluer la prédisposition génétique d'un individu à une maladie. Cette évaluation repose sur l'agrégation du nombre d'allèles favorisant la maladie, en tenant compte de l'importance de l'effet de chaque variant identifié au sein d'une étude d'association à l'échelle du génome. Le PRS représente une mesure intéressante pour évaluer la prédisposition génétique d'un individu à une maladie particulière. En 2022<sup>69</sup>, une étude a mis au point un PRS en fusionnant des données génétiques de différentes populations, révélant sa capacité à prédire le risque de DT2 dans des groupes ethniques variés. Les 2 % les plus élevés de la distribution du PRS peuvent identifier les individus présentant un risque accru de DT2 allant de 2,5 à 4,5 fois, comparable au risque observé chez les parents au premier degré<sup>69</sup>. Ces résultats constituent une avancée prometteuse vers l'utilisation clinique des PRS dans la prévention et la gestion du DT2. De même, il est légitime de se questionner sur la faisabilité de prédire les complications liées au diabète de type 2. Une vaste étude génétique sur des patients atteints de diabète de type 2 et potentiellement à risque de complications cardiovasculaires<sup>70</sup> a identifié des variants génétiques liés aux maladies cardiovasculaires.

Trois nouveaux loci génétiques ont été découverts<sup>70</sup>, étroitement associés aux maladies cardiovasculaires chez les patients atteints de diabète de type 2. De plus, un score polygénique constitué de variants génétiques liés aux maladies cardiovasculaires, préalablement identifiés dans la population générale, a montré une association avec le risque de maladies cardiovasculaires chez ces patients<sup>70</sup>. Les individus souffrant de DT2 manifestent une intensification des signaux d'association associés aux maladies coronariennes établies, ce processus pouvant aussi concourir à expliquer l'augmentation du risque de maladies cardiovasculaires au sein de ce groupe<sup>70</sup>.

La complexité de l'ensemble de ces loci pose des défis pour l'estimation du risque et pour le développement de stratégies préventives et thérapeutiques basées sur le profil génétique. Outre les GWAS, le séquençage nouvelle génération se profile comme une solution pour résoudre le mystère de l'héritabilité non expliquée du DT2. De plus, il est impératif de prendre en considération les paramètres **environnementaux**, spécifiquement ceux liés à l'alimentation et au contexte psychosocial, fréquemment omis dans les études d'association pangénomique, afin de développer des approches préventives et thérapeutiques exhaustives.

Contrairement aux GWAS qui focalisent leur attention sur les SNPs fréquents, le séquençage nouvelle génération offre la possibilité d'explorer les variants rares, les régions non couvertes par les SNPs fréquents et les mécanismes épigénétiques, ouvrant ainsi la voie à une compréhension plus complète. Grâce aux techniques de séquençage, l'identification de variants rares dans les gènes MODY chez les patients diabétiques est en plein essor<sup>71,22</sup>. Des variants rares de gènes associés au diabète MODY ont été identifiés comme liés au diabète de type 2 classique, ce qui entraîne une certaine confusion dans la distinction entre ces deux formes diabétiques<sup>22,65</sup>. Environ un tiers des gènes associés au diabète monogénique sont également liés au DT2, mais pas au DT1<sup>65</sup>. Différencier une mutation dans un gène MODY à

pénétrance incomplète et un variant rare lié au diabète de type 2 reste souvent délicat<sup>65,71</sup>. Les variants au sein des mêmes gènes liés au diabète monogénique peuvent engendrer diverses manifestations de la maladie en raison de leur nature<sup>18</sup>. Par conséquent, cela peut entraîner l'apparition de la maladie tant à un stade précoce qu'à un stade plus avancé<sup>18</sup>. Ce phénomène est également observé pour une mutation partagée par différents individus<sup>18</sup>. Ainsi, la distinction entre le diabète monogénique et le DT2 est désormais moins claire qu'auparavant. Cela a un effet notable sur l'approche thérapeutique adoptée pour les patients autrefois catégorisés comme présentant un diabète de type 2 classique. Cependant, il devient maintenant évident qu'ils peuvent en réalité porter des variants pathogènes dans des gènes associés au diabète MODY (environ 2% des cas de diabète de type 2)<sup>22</sup>. Pour rappel, le terme "gène actionnable" est utilisé pour mettre en évidence qu'il y a des répercussions directes sur leur prise en charge médicale, tant en ce qui concerne leur traitement que leur suivi.

La combinaison de la recherche sur le diabète monogénique avec les études d'association à l'échelle du génome pour le diabète de type 2 a modifié notre compréhension de la physiopathologie du diabète non auto-immun. Avant la découverte du diabète MODY 2, on considérait que la résistance à l'insuline était la cause principale des dysfonctionnements glycémiques, attribués à la détérioration ultérieure des cellules  $\beta$  productrices d'insuline. Cependant, les investigations menées dans le domaine du diabète monogénique ont révélé que des anomalies génétiques affectant la sécrétion insulinaire peuvent également induire le diabète, même à un jeune âge, sans nécessiter une forte résistance à l'insuline ou une obésité associée. Les analyses d'association à l'échelle du génome ont montré que les variants liés au diabète de type 2 sont principalement localisées dans les régions régulatrices des gènes actifs dans les îlots pancréatiques, les lieux de production de l'insuline, plutôt que dans les tissus liés à la résistance à l'insuline<sup>72,73</sup>. Ces découvertes suggèrent que ces gènes sont plus impliqués

dans la sécrétion insulinaire que dans la résistance à l'insuline<sup>74</sup>, et qu'ils partagent un rôle commun dans le développement et la fonction des cellules  $\beta$  du pancréas, responsables de la production d'insuline<sup>18</sup>.

En dépit des avancées significatives de la recherche sur le diabète monogénique au cours des dernières décennies, certains cas de diabète atypique demeurent énigmatiques. Plusieurs scénarios sont envisageables, dont l'un serait que ces patients présentent une forme polygénique du diabète de type 2, avec une apparition précoce liée à leur héritage génétique biparental<sup>18</sup>. Dans ce contexte, il est possible que ces patients se situent dans la zone supérieure des scores de risque polygénique, qui chevauche les scores de risque pour le diabète monogénique. Une autre hypothèse serait qu'ils portent des variants pathogènes dans des régions non codantes<sup>18</sup>, qui n'auraient pas été détectés sans le séquençage complet du génome. Enfin, il est également plausible que des gènes de diabète monogénique extrêmement rares et jusqu'ici non identifiés puissent être à l'origine de leurs diabètes.

À la lumière de toutes ces données, en tenant compte de l'ampleur des variants associés aux diabètes monogéniques ainsi que de l'influence des effets des SNPs, il est impératif de prendre en compte l'intégralité de ces informations pour garantir la gestion optimale de notre patient, aussi bien sur le plan thérapeutique que dans le contexte de son suivi médical.

## 5. Médecine de précision dans le cadre des diabètes rares

La détection de variants pathogènes dans des gènes considérés comme "actionnables", c'est-à-dire pour lesquels des interventions sont possibles, ouvre la voie à des ajustements thérapeutiques personnalisés pour ces patients en fonction de leurs profils génétiques<sup>75,76</sup>.

Malgré des attentes initiales élevées concernant les activateurs de *GCK*<sup>77</sup>, aucun médicament issu de la recherche sur le diabète monogénique n'a été développé jusqu'à présent. Les activateurs de *GCK* ont démontré des effets modérés sur la sécrétion d'insuline, dont l'efficacité a décru avec le temps. De plus, ils ont été associés à des effets indésirables au niveau hépatique, tels que le développement de stéatose et d'hypertriglycéridémie, attribués directement à l'augmentation de l'activité de la glucokinase hépatique<sup>78</sup>. Jusqu'à présent, aucune autre cible médicamenteuse prometteuse n'a été directement identifiée à partir de la recherche sur le diabète monogénique.

Cependant, des constatations ont pu être établies mettant en évidence l'efficacité particulièrement marquée de certains antidiabétiques oraux classiquement utilisés pour les DT2 dans le traitement de certains diabètes monogéniques. En effet, les patients porteurs de variants dans des gènes tels que *KCNJ11*, *ABCC8*, *HNF1A* ou *HNF4A* peuvent être particulièrement sensibles aux sulfonyles, ce qui suggère la possibilité d'une transition de leur traitement à l'insuline vers des antidiabétiques oraux<sup>76,79</sup>.

Une étude randomisée<sup>80</sup> comparant les effets de la metformine et du gliclazide (une sulfonyle) a été menée chez des patients présentant soit un diabète de type 2, soit un diabète causé par *HNF1A*. Les résultats ont révélé que les individus porteurs de variants dans *HNF1A* présentaient une sensibilité accrue aux effets de réduction de la glycémie induits par les sulfonyles, avec une réponse cinq fois supérieure à celle des patients atteints de diabète

de type 2<sup>80</sup>. Ces découvertes ont conduit à envisager une transition de l'insulinothérapie vers une faible dose de sulfonylurée pour ceux qui étaient initialement considérés à tort comme diabétiques de type 1<sup>81</sup>.

Nous avons présenté quelques exemples de diabète monogéniques, de manière non exhaustive, démontrant ainsi l'efficacité de la médecine de précision dans leur traitement et suivi médical<sup>75,76</sup> (**Tableau 4**). Paradoxalement, les sulfonylurées, l'une des premières familles de médicaments antidiabétiques, présentent une efficacité à long terme nettement supérieure chez les patients atteints de diabète monogénique que chez ceux atteints de DT2 commun<sup>75</sup>.



Gènes	Type MODY	Clinique	Traitement	Surveillance
<i>HNF4A</i>	MODY1	Macrosomie dans 50% des cas (associée à un éventuel hyperinsulinisme néonatal et des hypoglycémies), ainsi que des niveaux réduits d'ApoA2 et de HDL-cholestérol.	Faibles doses de SU (1ère option). En cas de progression, combinaison avec des glinides, des inhibiteurs de DPP4 ou des analogues du GLP1 (2ème option). Possibilité d'introduction d'insuline.	Risque de syndrome de fanconi pour le variant p.Arg76Trp dans <i>HNF4A</i>
<i>GCK</i>	MODY2	Hyperglycémie modérée à jeun, présente dès la naissance et constante au fil du temps, avec des complications rares.	Aucun traitement sauf, règles hygiéno-diététiques.	NA
<i>HNF1A</i>	MODY3	Le diabète apparaît généralement pendant la période pubertaire, avec un phénotype qui dépend du variant. Il peut se manifester de manière aiguë dans 25% des cas, ressemblant au diabète de type 1 mais rarement associé à la cétose. Dans les 75% restants, il peut présenter des traits similaires au diabète de type 2.	Initialement, utilisation de faibles doses de SU. En cas d'évolution, ajout possible de glinides et combinaison avec un inhibiteur DPP4 ou un analogue GLP1. Une éventuelle introduction d'insuline peut être envisagée.	Complication hépatique : adénomatose hépatique avec risque potentiel de transformation en carcinome.
<i>PDX1</i>	MODY4	Diabète néonatal/adulte, insuffisance pancréatique.	Insuline, SU, metformine, inhibiteurs DPP4	NA
<i>HNF1B</i>	MODY5	Manifestations comprenant : atteintes rénales (RCAD), hypomagnésémie, hypokaliémie, malformations génito-urinaires, hypoplasie du pancréas et anomalies variables du bilan hépatique.	Initier avec metformine et/ou SU en fonction de la fonction rénale, envisager le répaglinide indépendamment de la clairance rénale, puis recourir à l'insuline en cas de résistance aux antidiabétiques oraux. En parallèle, envisager une supplémentation en magnésium et en potassium.	Complications rénales, urinaires et pancréatiques.
<i>INS</i>	MODY10	Diabète débutant à la naissance ou dans la petite enfance, allant du pseudo-diabète de type 1 à des formes modérées.	Insuline	NA
<i>ABCC8</i>	MODY12	Diabète néonatal ou durant l'enfance, alternance d'hyperglycémies et d'hypoglycémies, avec rares complications.	SU	Neurodéveloppement
<i>KCNJ11</i>	MODY13	Diabète néonatal ou durant l'enfance ; alternance hyper/hypoglycémies, avec rares complications	SU	Neurodéveloppement

**Tableau 4. Diabètes MODY : présentation clinique et approche thérapeutique basée sur le Génotype (conformément aux recommandations des PNDS pour diabètes Mody et *HNF1B*, et selon Bonnefond *et al*)<sup>27,28,18</sup>.**

SU, sulfamides hypoglycémiant ; ADO, antidiabétiques oraux ; NA, non applicable.

## B. Obésité et syndrome métabolique

### 1. Contexte

L'obésité et le surpoids constituent des enjeux majeurs de santé publique à l'échelle mondiale, triplant depuis 1975<sup>82</sup>. En 2016, la prévalence du surpoids a touché plus de 1,9 milliard d'adultes âgés de plus de 18 ans, tandis que 650 millions d'entre eux étaient considérés comme obèses (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>). D'après les données de la NCD Risk Factor Collaboration, en 2016, près de 2 milliards d'adultes, soit 39 % de la population adulte mondiale, étaient en surpoids (indice de masse corporelle (IMC)  $\geq 25$  kg m<sup>2</sup>), dont 671 millions (12 % de la population adulte mondiale) souffraient d'obésité (IMC  $\geq 30$  kg m<sup>2</sup>)<sup>82</sup>. Cette problématique touche également la population jeune, avec plus de 340 millions d'enfants et d'adolescents âgés de 5 à 19 ans en surpoids ou obèses en 2016, et 39 millions d'enfants de moins de 5 ans touchés par cette condition en 2020.

L'obésité chez les adultes engendre un large éventail de **complications**, principalement d'ordre cardiovasculaire, métabolique, respiratoire, mécanique et également néoplasique<sup>83</sup>. Parmi celles-ci, on recense l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et coronarienne, le syndrome d'apnées du sommeil, l'arthrose, la stéatose hépatique, ainsi que des perturbations métaboliques tels que le syndrome métabolique, l'insulinorésistance et le diabète de type 2<sup>83</sup>. L'obésité infantile peut provoquer des complications à la fois sur le plan physique et psychologique<sup>83,84</sup>. Sur le plan physique, la plupart des complications observées chez les adultes peuvent également se manifester chez les enfants, et certaines peuvent avoir un impact spécifique sur leur croissance, notamment au niveau orthopédique. Les complications somatiques incluent l'hypertension artérielle, des perturbations du

métabolisme du glucose, des troubles lipidiques, des atteintes hépatiques (notamment la stéatose non alcoolique) et des problèmes orthopédiques tels que l'épiphysiolyse de la tête fémorale<sup>83</sup>. L'hypertension est fréquente chez les enfants obèses, tout comme l'insulinorésistance, qui joue un rôle essentiel dans le syndrome métabolique<sup>83</sup>. La survenue du diabète de type 2 en tant que résultante de l'obésité est rare parmi la population d'enfants et d'adolescents<sup>83</sup>. Les taux élevés de triglycérides, liés à l'insulinorésistance, ainsi que la réduction du HDL-cholestérol sont des constatations courantes<sup>83</sup>. La stéatose non alcoolique est désormais la forme la plus répandue de maladie hépatique chronique chez les enfants obèses<sup>83</sup>. Du point de vue orthopédique, des dorsalgies, des gonalgies et des problématiques posturales, souvent associées à un désalignement des membres inférieurs, sont fréquents<sup>83</sup>. L'épiphysiolyse de la tête fémorale mérite une attention particulière, affectant principalement les adolescents en surpoids, en particulier les garçons<sup>83</sup>. Sur le plan psychologique, l'obésité infantile peut avoir des conséquences graves, notamment la désocialisation, l'échec scolaire, l'isolement social, une diminution de la qualité de vie, ainsi que des comportements à risque tels que le tabagisme, la consommation d'alcool et de drogues, la dépression et des idées suicidaires<sup>83</sup>. Les adolescents obèses éprouvent des répercussions immédiates et à long terme sur leur bien-être psychologique et social<sup>83</sup>. Il est donc crucial de reconnaître la **nature bidirectionnelle** de la relation entre l'obésité infantile et les problématiques psychologiques. Cette dynamique résulte de l'interaction complexe de divers éléments, englobant des facteurs hormonaux, la stigmatisation sociale, des comportements alimentaires émotionnels, ainsi que des pressions sociales.

**En France** en 2015, l'étude ESTEBAN a révélé que 17% des adultes âgés de 18 à 74 ans étaient en situation d'obésité, sans distinction entre les sexes. L'étude ObEpi-Roche 2020 a

permis d'évaluer la prévalence du surpoids et de l'obésité en France, en prenant en compte l'âge ainsi que la région de résidence. Concernant les enfants, les données montrent qu'environ 21% des enfants âgés de 8 à 17 ans présentent un surpoids et/ou de l'obésité. Chez les adultes, l'indice de masse corporelle (IMC) moyen s'élève à 25,5 kg/m<sup>2</sup> (en 2012 : 25,4 kg/m<sup>2</sup>). Environ 17% des adultes affichent un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> (15% en 2012), tandis que 2% présentent un IMC  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> (1,2% en 2012). En combinant les deux, près de 47,3% des adultes sont en situation de surpoids ou d'obésité. On observe également une légère augmentation de l'obésité chez les femmes par rapport aux hommes, bien que cette différence soit minime (16,7% chez les hommes contre 17,4% chez les femmes). Cependant, si l'on considère le statut combiné de surpoids et d'obésité, le sexe ratio s'inverse (53,5% chez les hommes contre 41,3% chez les femmes). Cette étude met en évidence une disparité marquée entre les régions françaises, avec une prévalence plus élevée de l'obésité dans le nord de la France (**Figure 4**).

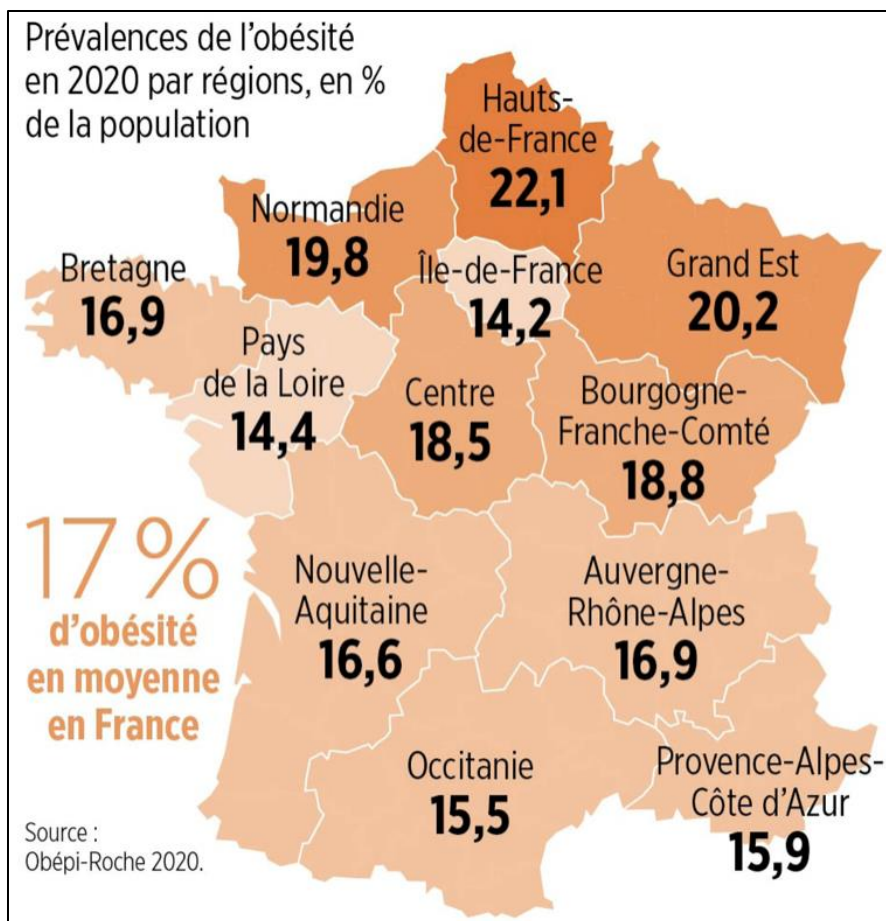


Figure 4. Prévalence de l'obésité régionale selon Obépi-Roche 2020.

## 2. Définitions de l'obésité et du syndrome métabolique

L'**obésité** est caractérisée par une accumulation excessive de tissu adipeux, évaluée cliniquement à l'aide de l'indice de masse corporelle.

Chez les adultes, l'OMS définit l'obésité comme un IMC égal ou supérieur à 30 kg/m<sup>2</sup><sup>85</sup>.

Chez les enfants, l'évaluation de la corpulence repose sur deux méthodes principales<sup>86</sup> :

- L'utilisation de la courbe IOTF 30, établie par l'International Obesity Task Force (**Figure 5**). Cette courbe est largement employée en pratique clinique et est intégrée au carnet de santé depuis 2018<sup>86</sup>.
- Le calcul du Z-score de l'IMC, qui est obtenu en prenant la différence entre la valeur individuelle et la médiane d'une population de référence, divisée par l'écart type de cette même population. Cette méthode offre une meilleure précision. L'obésité est définie soit par un IMC excédant la courbe IOTF 30, soit par un Z-score de l'IMC  $\geq +3$  DS<sup>86</sup>.

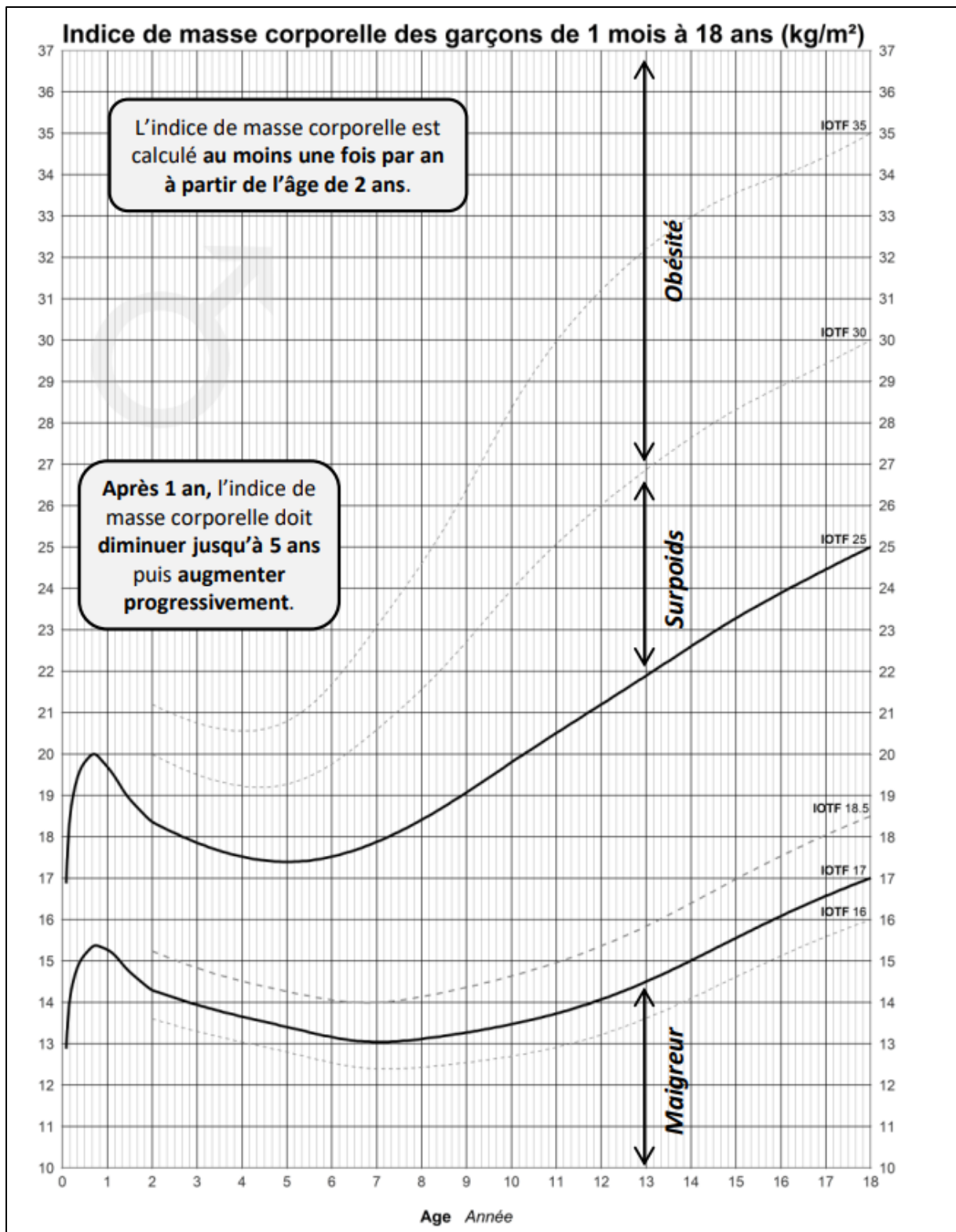


Figure 5. Exemple de courbe de corpulence (IMC) chez les garçons.

L'obésité se définit par un IMC  $\geq$  IOTF 30, Le surpoids se définit par un IMC  $\geq$  IOTF 25 ou  $>$  97<sup>ième</sup> percentile. Avant l'âge de 2 ans : pour les enfants nés avec un poids supérieur à 2500

g et suivis par des médecins en France métropolitaine, les courbes de référence sont celles de l'AFPA – CRESS/INSERM – CompuGroup Medical, 2018. Après l'âge de 2 ans : références selon les courbes de l'International Obesity Task Force (IOTF) – Cole TJ, Lobstein T. *Pediatric Obesity* 2012.

Il est essentiel également d'aborder la notion de **syndrome métabolique** qui peut être associée à l'obésité. Ce syndrome englobe l'obésité abdominale, l'hypertriglycéridémie ( $\geq 1,70$  mmol/L), l'hyperglycémie (glycémie à jeun  $\geq 5,6$  mmol/l (100 mg/dl) ou diabète de type 2 diagnostiqué), un faible taux de HDL ( $\leq 1,03$  mmol/l pour les hommes ou  $\leq 1,29$  mmol/l pour les femmes) et une hypertension artérielle (systolique  $\geq 130$  mmHg ou diastolique  $\geq 85$  mmHg)<sup>87</sup>. Selon cette définition, deux critères supplémentaires associés à l'obésité abdominale sont nécessaires pour établir ce diagnostic.

En ce qui concerne l'obésité abdominale, il est important de noter que les seuils varient en fonction de l'origine **ethnique** et du **sexe**<sup>87</sup>. Par exemple, chez les hommes, on considère qu'il y a une obésité abdominale si le tour de taille est  $\geq 94$  cm, sauf pour ceux d'origine asiatique du Sud-Est, japonaise, ou encore originaire du Sud ou d'Amérique centrale, où le seuil est  $\geq 90$  cm<sup>87</sup>. Pour les femmes, le seuil est  $\geq 80$  cm, indépendamment de l'origine ethnique<sup>87</sup>.

L'obésité **infantile commune** est le résultat de l'interaction de deux catégories de facteurs de risque : d'une part, les facteurs de prédisposition inhérents à l'enfant, et d'autre part, les facteurs **environnementaux**. L'obésité commune présente une composante génétique bien établie, caractérisée par une hérédité **polygénique**. En d'autres termes, elle crée une prédisposition fondamentale qui influence la capacité globale d'adaptation à l'environnement et joue un rôle crucial dans l'expression phénotypique de cette



prédisposition. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, l'obésité infantile est principalement attribuée à des facteurs sociaux, tels qu'une alimentation inadéquate et une insuffisance d'activité physique. Ces facteurs sont en grande partie influencés par des transformations sociétales liées à l'évolution des contextes sociaux, économiques et aux politiques gouvernementales dans divers secteurs. Les enfants issus de milieux socio-économiques défavorisés présentent un risque accru de développer l'obésité<sup>88</sup>. De plus, le manque d'activité physique, la sédentarité et l'accroissement du temps passé devant les écrans sont également des déterminants majeurs de l'obésité infantile<sup>89-91</sup>. Les modes de vie contemporains, incluant l'usage fréquent de véhicules et d'ascenseurs, ont conduit à une réduction des dépenses énergétiques. De plus, plusieurs investigations ont mis en évidence une association entre la diminution de la durée du sommeil chez les enfants et l'augmentation de la prévalence de l'obésité<sup>92</sup>. La réduction du sommeil est ainsi liée à des perturbations de la régulation de l'appétit et de la satiété. En ce qui concerne les facteurs **psychologiques** et psychopathologiques, certains contextes, comme l'utilisation de l'alimentation comme moyen de faire face aux conflits, au stress, à l'anxiété ou au déficit affectif, peuvent favoriser des comportements alimentaires émotionnels. Certaines pathologies psychiatriques, notamment la dépression, sont plus fréquentes chez les enfants obèses<sup>93,94</sup>.

L'obésité est désormais largement reconnue comme une condition fortement influencée par les facteurs génétiques. **L'héritabilité**, qui mesure la part de la variation phénotypique due aux variations génétiques au sein d'une population, est un indicateur clé de cette influence. Une approche indirecte pour démontrer l'héritabilité d'un trait consiste à évaluer le risque de développer une maladie et à comparer ce risque entre les individus dont les parents sont affectés et la population générale. Cependant, ce risque est influencé par des facteurs génétiques et environnementaux, ce qui rend difficile la séparation de ces deux

composantes. Les études sur les jumeaux monozygotes et dizygotes offrent une estimation plus précise de l'héritabilité d'un trait. Cette approche repose sur l'hypothèse centrale selon laquelle les jumeaux partagent un environnement prénatal et postnatal similaire, avec une composante génétique identique à 100% pour les jumeaux monozygotes et à 50% pour les jumeaux dizygotes. Des études ont révélé des corrélations significatives avec l'Indice de Masse Corporelle chez les jumeaux monozygotes, atteignant une estimation de 84% lors du suivi à l'âge de 25 ans<sup>95</sup>. Une étude portant sur plus de 5000 paires de jumeaux âgés de 8 à 11 ans a révélé que, même dans un environnement favorable à l'obésité, l'héritabilité de l'IMC et de l'adiposité abdominale atteignait 77%<sup>96</sup>. Par ailleurs, il est important de noter que le comportement alimentaire présente une forte composante génétique, caractérisée par des corrélations de 62% pour la satiété et de 80% pour l'appétence alimentaire chez les jumeaux monozygotes, comparées à des corrélations respectives de 8% et 35% chez les jumeaux dizygotes<sup>97</sup>. De plus, l'influence génétique semble plus marquée dans un **environnement obésogène**. Par exemple, l'héritabilité de la masse grasse était de 90% chez des jumeaux d'origine finlandaise sédentaires, mais chutait à 20% chez les plus actifs d'entre eux. Il semblerait ainsi que l'activité physique puisse atténuer les effets délétères de cet héritage génétique<sup>98</sup>.

En résumé, tout comme le diabète, l'obésité peut être schématiquement divisée en deux catégories : les formes monogéniques, rares, sévères et survenant à un âge précoce, et l'obésité dite commune (ou polygénique).

### 3. Critères d'obésité rare

Ces critères spécifiques devraient être examinés chez tout patient obèse en vue de détecter d'éventuelles causes rares, potentiellement génétiques<sup>86</sup> :

- Obésité **précoce**, dès l'enfance (dépassement de l'IMC du seuil IOTF-30),
- Obésité **sévère** (z-score **IMC**  $\geq$  +3DS chez l'enfant),
- Troubles du **comportement alimentaire**,
- Troubles **neurodéveloppementaux**,
- Déficits **endocriniens** (hypothyroïdie, hypogonadisme, hypocortisolisme, etc.),
- **Malformations**.

En cas de suspicion clinique d'obésité d'origine génétique, l'exploration génétique sera adaptée en fonction de l'âge du patient et des critères diagnostiques. Afin de faciliter le processus de diagnostic génétique pour les médecins cliniciens, le Centre de référence PRADORT a créé un outil en ligne appelé **Obsgen**, disponible à l'adresse suivante : <http://obsngen.nutriomics.org>.

#### 4. Les quatre catégories des obésités rares

Le récent protocole national de diagnostic et de soins (PNDS) concernant les obésités rares a permis de classer ces diverses conditions en quatre catégories distinctes<sup>86</sup>.

- **Obésités Syndromiques** (ORPHANET 240371) : associées à d'autres manifestations cliniques incluant des troubles neurodéveloppementaux et/ou un syndrome malformatif congénital.
- **Obésités Monogéniques Non Syndromiques** (ORPHANET 98267) : leur origine réside dans une variation pathogène au sein d'un gène codant une protéine impliquée dans la voie hypothalamique leptine-mélanocortine (**Figure 6**). Cette voie sera particulièrement détaillée dans notre travail. Ces types d'obésité sont notamment suspectés en cas de prise de poids précoce durant l'enfance<sup>99</sup>.

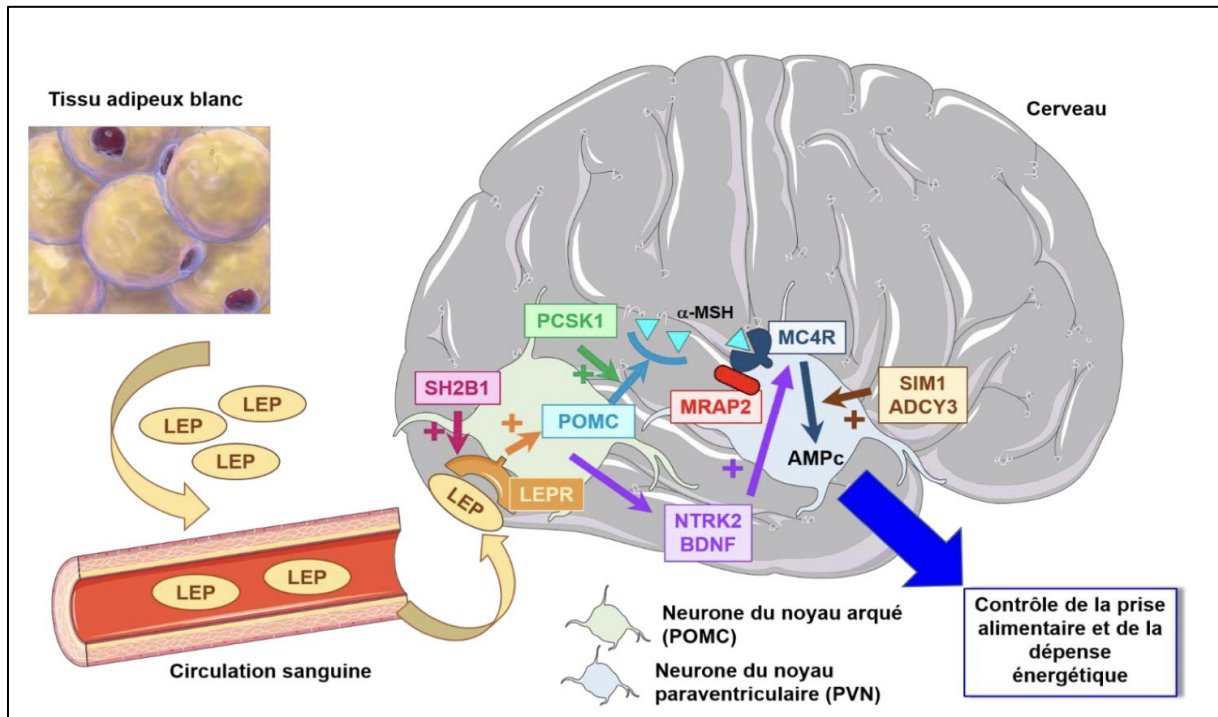


Figure 6. Gènes codant des protéines régulant l'homéostasie énergétique (basé sur le PNDS obésités rares)<sup>86</sup>.

- **Obésités Hypothalamiques liées à une altération anatomique de l'hypothalamus.** Cela peut résulter d'une lésion hypothalamique (comme le craniopharyngiome, etc.) et/ou de son traitement (chirurgie, radiothérapie), ou être causé par une pathologie envahissant la région supra-sellaire (telle que la neurosarcoïdose, etc.).
- **Obésité hypothalamique du syndrome ROHHAD** (Rapid Onset of obesity Hypoventilation Hypothalamic Autonomic Disorder) (ORPHANET 293987). Aucune cause génétique n'a été identifiée, mais une étiologie auto-immune est suspectée. Lorsque ce syndrome est associé à des tumeurs neuroendocrines, il est désigné sous le terme de syndrome **ROHHADNET**, correspondant à un syndrome paranéoplasique.

Notre attention sera particulièrement portée sur les obésités monogéniques et syndromiques dans cette thèse.

### a) Obésités monogéniques

Par souci de clarté, nous détaillerons ici essentiellement les obésités monogéniques liées à un déficit dans la voie **leptine-mélanocortine**. Ces dernières sont causées en partie par des variants pathogènes touchant des gènes tels que *LEP* (leptine), *LEPR* (récepteur de la leptine), *POMC* (pro-opiomélanocortine) et *PCSK1* (proconvertase).

Dans cette section, nous allons revoir le rôle de ces gènes associés aux obésités monogéniques, présentés dans la **Figure 6** et la **Figure 7**<sup>86</sup>.

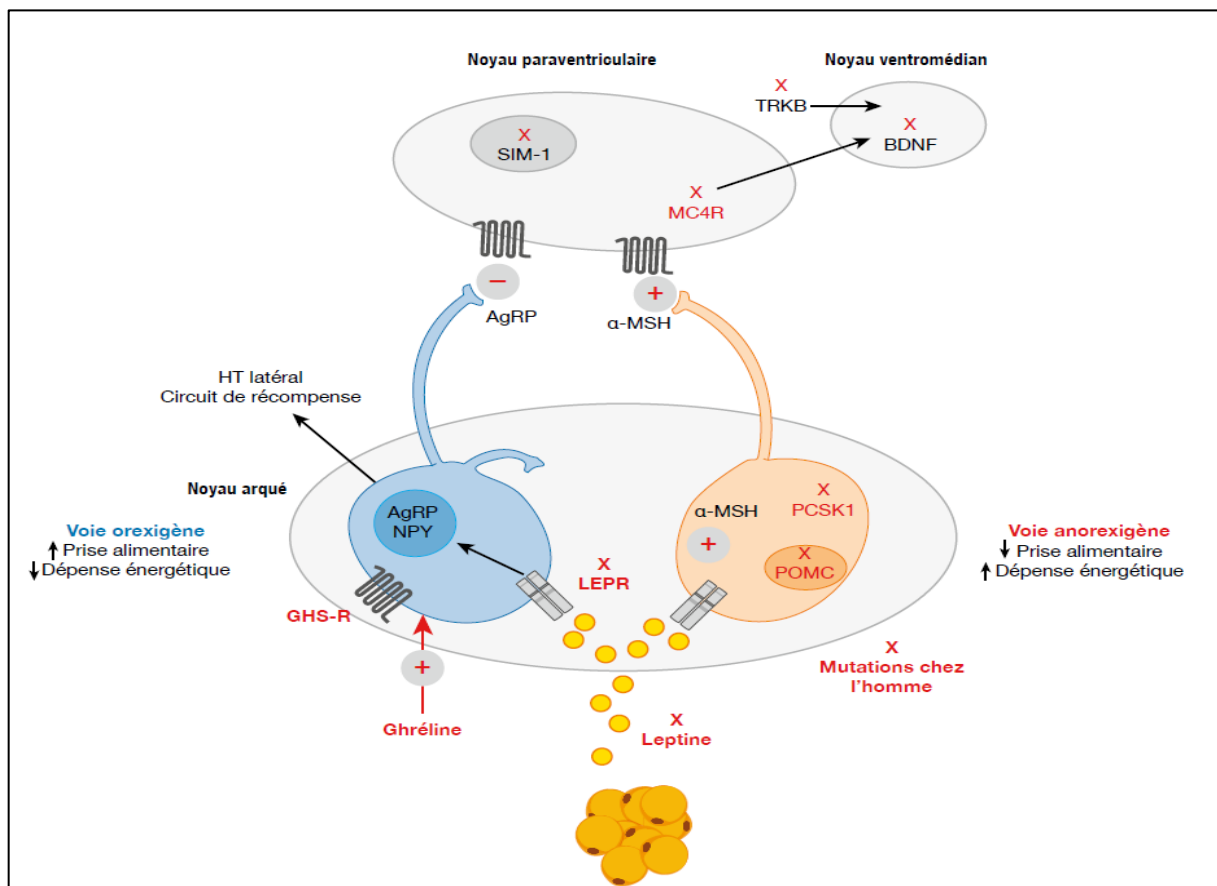
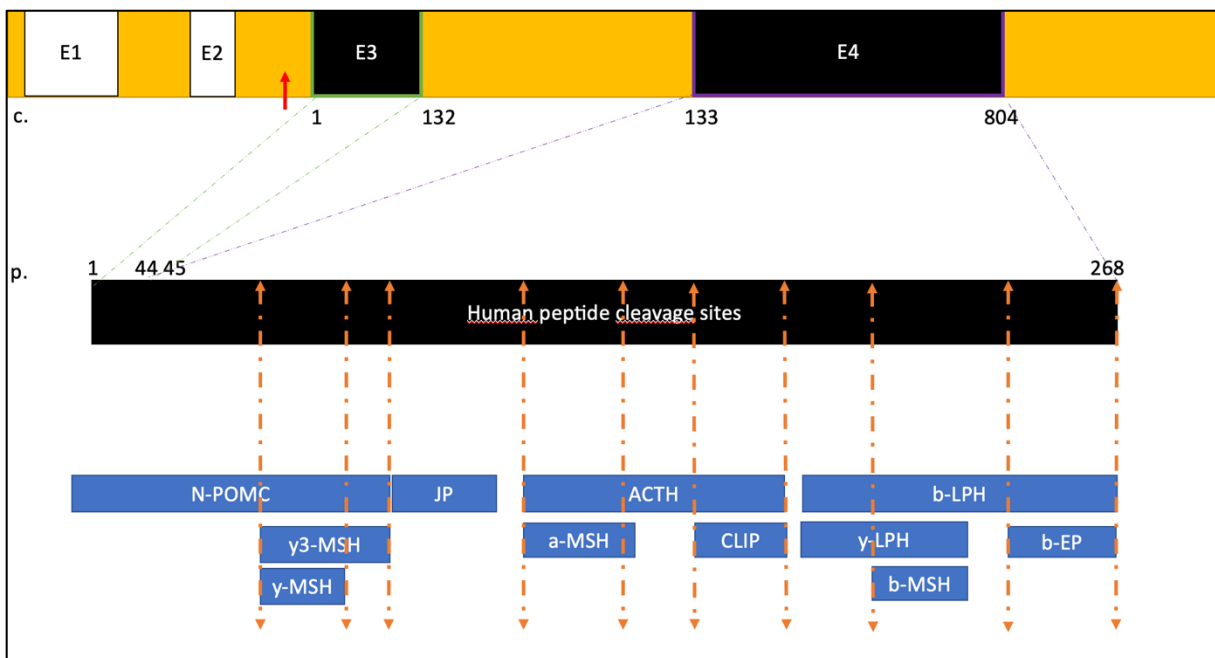


Figure 7. Physiopathologie de la voie leptine-mélanocortine<sup>100</sup>.

La **leptine** (codée par *LEP*) agit via son récepteur (LEPR) au niveau du noyau arqué hypothalamique, activant les neurones anorexigènes exprimant le gène *POMC*, et exerce une inhibition sur les neurones produisant des peptides orexigènes, tels que le neuropeptide Y (NPY) et l'Agouti related-protein (AGRP) (**Figures 6 et 7**).

Le gène ***POMC***, localisé sur la région 2p23.3, code pour la préproopiomélanocortine qui est ensuite clivée par les proconvertases (codées par *PCSK1* et *PCSK2*) en divers biopeptides : adrénocorticotrophine (ACTH), hormones stimulant les mélanocytes (MSH), et le ligand des récepteurs opioïdes, la  $\beta$ -endorphine. Ces biopeptides ont des récepteurs spécifiques : l' $\alpha$ -MSH se lie majoritairement aux récepteurs MC4R et MC1R, l'ACTH à MC2R, l' $\gamma$ -MSH au récepteur MC3R, l'endorphine  $\beta$  au récepteur opioïde  $\mu$ . Les effets des biopeptides dérivés de la POMC sur l'appétit sont contrastés : l' $\alpha$ -MSH agit comme un inhibiteur, tandis que la  $\beta$ -endorphine a un effet stimulant (**Figures 7 et 8**).



**Figure 8. Clivage de POMC en divers biopeptides incluant l'ACTH et l'  $\alpha$ -MSH.**

D'autres gènes jouent également un rôle dans cet axe. *MRAP2* et *SH2B1* codent des régulateurs des protéines LEPR et MC4R respectivement. *SIM1*, *ADCY3*, *NTRK2* et *BDNF* sont impliqués dans le développement des populations neuronales de la région hypothalamique.

Récemment, **une classification en classes A, B et C** a été mise en place pour prioriser les obésités génétiques en fonction du niveau de preuve. Cette classification tient compte de la pénétrance du phénotype obésité et/ou trouble du comportement alimentaire (TCA), ainsi que de la solidité des arguments physiopathologiques. Les gènes mentionnés précédemment (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *MRAP2*, *POMC*, etc.) et leurs conséquences sont détaillés dans la **Tableau 5** ci-dessous<sup>86</sup>.

Vous pouvez accéder à l'ensemble des données cliniques concernant les gènes liés à l'obésité via le lien :

[https://docs.google.com/spreadsheets/d/1vQUcZna\\_vjpgVLLtylDKc1zIVRNvoSPOVITs\\_ixUdTWg/edit#gid=0](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1vQUcZna_vjpgVLLtylDKc1zIVRNvoSPOVITs_ixUdTWg/edit#gid=0)

Par souci de clarté, nous avons choisi de ne présenter que les gènes classés dans la catégorie **A**<sup>86</sup>.

<b>Gènes de la voie des mélanocortines classés A</b>	<b>Caractéristiques de l'obésité</b>	<b>Signes associés à l'obésité</b>	<b>Mode de transmission, gène région génomique</b>
<i>ADCY3</i>	Obésité sévère et précoce (Zscore BMI > +3 DS, débutant dans l'enfance), hyperphagie avant l'âge de 3 ans	Troubles de l'olfaction +/- , DI légère	Autosomique récessif, 2p23
<i>BDNF</i>	Hyperphagie, obésité sévère à partir de l'âge de 1 an	DI, hyperactivité	Autosomique dominant, del 11p14
<i>LEP</i>	Obésité précoce avant l'âge de 4 ans (Zscore > + 4DS), IMC > 30 à l'âge de 5 ans, hyperphagie intense	Insuffisances gonadotrope et thyroïdienne, déficit immunitaire (variable), TND inconstant	Autosomique récessif, 7q32
<i>LEPR</i>	Obésité précoce avant l'âge de 4 ans (Zscore > + 4DS), IMC > 30 à l'âge de 5 ans, hyperphagie intense	Insuffisances gonadotrope, thyroïdienne et somatotrope	Autosomique récessif, 1p31
<i>MC4R</i>	Obésité précoce, hyperphagie	Hyperinsulinisme, TND inconstant pas d'anomalie endocrinienne	Autosomique récessif, 18q21
<i>MRAP2</i>	Obésité précoce dans l'enfance, hyperphagie	HTA, hyperglycémie	Autosomique dominant, 6q14
<i>NTRK2</i>	Obésité précoce et sévère, hyperphagie	Retard de développement, troubles du comportement, TND	Autosomique dominant, 9p21
<i>PCSK1</i>	Obésité après l'âge de 2 ans avec hyperphagie plus tardive par rapport aux autres gènes de la voie	Insuffisance corticotrope, gonadotrope, thyroïdienne, malaises hypoglycémiques postprandiaux, diabète insipide central, diarrhée néonatale	Autosomique récessif, 5q15
<i>POMC</i>	Obésité très précoce avant 6 ans voire 3 ans + hyperphagie majeure	Cheveux roux et hypopigmentation (inconstant), cholestase, hypoglycémies néonatales, déficits endocriniens (ACTH , GH décrit), TND décrits dans certains cas	Autosomique récessif, 2p23
<i>SIM1</i>	Obésité précoce et sévère, hyperphagie.	Troubles du comportement, TSA, hyperphagie	Autosomique dominant, 6q16

**Tableau 5. Synthèse clinique des gènes de la voie leptine-mélanocortine associés à une obésité précoce et sévère, classés en catégorie A<sup>86</sup>.**



## b) *Obésités syndromiques*

Pour rappel, dans ce contexte, l'obésité est liée à d'autres manifestations telles que les troubles neurodéveloppementaux (TND) et/ou un syndrome malformatif congénital.

Le Prader-Willi et le Bardet-Biedl peuvent être cités comme des exemples de causes potentielles d'obésités syndromiques, se manifestant par une obésité sévère, des perturbations de la sensation de satiété et des TND<sup>101,102</sup>. Un lien vers l'ensemble des données du PNDIS est accessible pour les obésités rares<sup>86</sup> :

[https://docs.google.com/spreadsheets/d/1vQUcZna\\_vjpgVLLtylDKc1zIVRNvoSPOVITsixUdTWg/edit#gid=0](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1vQUcZna_vjpgVLLtylDKc1zIVRNvoSPOVITsixUdTWg/edit#gid=0)

La **Tableau 6** présente diverses causes d'obésités syndromiques ainsi que leurs phénotypes, classés dans la catégorie A.

Au sein des obésités syndromiques, il est pertinent de mentionner celles en corrélation avec les variations de nombre de copies de gènes ou de fragments chromosomiques, communément désignées sous l'appellation **CNV** (Copy Number Variation). Ces CNV induisent des altérations structurelles du génome, telles que des délétions, des duplications ou des réarrangements chromosomiques, et sont responsables d'environ 18% des variations de l'expression génique<sup>103</sup>. Il convient de distinguer les variants rares, qui se retrouvent chez moins de 1% de la population, des variants communs, qui sont présents chez plus de 5% de la population générale. Certains de ces variants rares sont responsables des formes d'obésité **monofactorielles**.

Un exemple illustratif de ces variants rares est la détection de délétions récurrentes d'environ 200 kb sur le bras court du chromosome 16, plus précisément en 16p11.2, qui englobent le

gène *SH2B1*. Ces délétions sont observées chez des individus obèses présentant des troubles du développement<sup>104</sup>. En 2010, deux études ont simultanément identifié une délétion plus étendue de 593 kb en 16p11.2, laquelle a été associée à une augmentation de 43 fois du risque d'obésité sévère et était retrouvée chez 0,7% des adultes obèses de la cohorte<sup>105,106</sup>. Il convient de noter que cette délétion avait déjà été repérée chez des patients atteints d'autisme, tandis que les duplications de ce locus étaient associées à l'autisme et à la schizophrénie. Ces délétions 16p11.2 impliquent plusieurs gènes participant aux voies de signalisation de l'insuline et de la leptine. En 2011, la même équipe a démontré que la duplication réciproque de cette séquence de 593 kb en 16p11.2 multipliait par 8,3 le risque d'insuffisance pondérale (BMI < 18,5 kg/m<sup>2</sup>), introduisant pour la première fois la notion d'un "effet miroir" des CNV, donnant lieu à des phénotypes opposés en fonction de la duplication ou de la délétion du locus<sup>107</sup>.

<b>Syndromes Classés A</b>	<b>Caractéristiques de l'obésité</b>	<b>Signes associés à l'obésité</b>	<b>Mode de transmission, gène, région génomique</b>
Alström*	Poids de naissance normal. 75% des patients présentent une obésité. Obésité tronculaire avec insulino-résistance/syndrome métabolique. Début : avant 5 ans (moy : 2.5 ans). Hyperphagie supérieure à des sujets contrôlés.	Dystrophie rétinienne, surdité de perception, cardiomyopathie dilatée, atteintes rénale, pulmonaire et hépatique	Autosomique récessif, <i>ALMS1</i> , 2p13
Bardet-Biedl*	Précoce (2-3 ans), hyperphagie avant l'âge de 5 ans, obésité présente dans 70-90% des cas	DI, dystrophie rétinienne ou rétinite pigmentaire, polydactylie, hypogonadisme, anomalies rénales	Autosomique récessif ou transmission multi-allélique, >20 gènes
CHOPS	Obésité précoce avant 3 ans, 100% des cas avec TCA	DI, traits épais, anomalies cardiaques et pulmonaires, petite taille, dysplasie du squelette	Autosomique dominant, <i>AFF4</i> , 5q31
Délétion 16p11.2	Prise de poids vers l'âge de 9 ans et s'accélère chez le jeune adulte, réponse altérée à la satiété avant l'apparition de l'obésité	Retard de développement, DI inconstante, troubles du spectre de l'autisme, macrocéphalie, épilepsie	Autosomique dominant, Délétion 16p11.2
Microdélétion incluant <i>SH2B1</i>			16p11.2 (28.7-28.9 Mb)
<i>MYT1L</i>	Prise de poids précoce avant l'âge de 6 ans (âge moyen de prise de poids à 3,5 ans). Environ 60% des patients avec surpoids ou obésité, TCA dans 42% des cas	DI, troubles du comportement	Autosomique dominant, 2p25
MO1 (Morbid obesity 1)	Surpoids à obésité sévères dans environ la moitié des cas; TCA non décrits	DI, syndrome métabolique insulino-résistance, défaut de spermatogénèse	Autosomique récessif, <i>CEP19</i> , 3q29
Pseudo-hypoparathyroïdie de type Ia*	Obésité sévère, précoce (<2 ans), hyperphagie modérée et inconstante (plus marquée chez l'enfant). PHP1a> PHP1b. Sur l'ensemble des patients PHP1a-b-c, au moment de la première évaluation, 40% d'excès de poids (30% chez les enfants). Prévalence de la surcharge pondérale augmente avec l'âge : PHP1b (de 10 à 35% à 17.5 ans) et PHP1a/c (de 50 à 75% à 18 ans).	Dysmorphie faciale, brachymétabarpie et brachymétabarsie, retard de développement variable, tableau de résistance hormonale (hypocalcémie, hypothyroïdie, retard pubertaire)	Autosomique dominant, <i>GNAS1</i> , 20q13
Prader-Willi*	Hyperphagie, obésité sévère et précoce (switch vers l'âge de 2-3 ans), TCA	Hypotonie néonatale, DI, dysmorphie faciale, retard statural, hypogonadisme, troubles psycho-comportementaux, TSA	Anomalie de la région 15q11-q13 d'origine paternelle soumise à empreinte
Schaaf-Yang	Environ 40% ont un problème pondéral, mais précocité non décrite. Difficultés alimentaires	Hypotonie, DI, TSA	Variants dans le gène d'origine paternelle (région soumise à empreinte), <i>MAGEL2</i> , 15q11
WAGR*	Accélération de la prise de poids au début de la seconde année de vie, IMC moyen à 8 ans à +4.3 DS. Obésité dans la totalité des cas. TCA	Tumeur de Wilms, aniridie, malformations génito-urinaires (hypospadias, cryptorchidie), DI	Autosomique dominant, <i>WT1</i> , <i>PAX6</i> , <i>BDNF</i> , délétion de 11p13-p14
X fragile**	30% d'enfants Xfra obèses. Sous-groupe avec phénotype type Prader-Willi (PWP) (env. 10%) : TCA, obésité entre 5-10 ans dans ce sous-groupe.	DI, hyperactivité, TSA, dysmorphie faciale, macro-orchidie post-pubertaire	Dominant lié à l'X, <i>FMR1</i> , Xq27

Tableau 6. Synthèse clinique des Obésités Syndromiques de Catégorie A<sup>86</sup>.

DI, déficience intellectuelle ; TCA, troubles du comportement alimentaire ; TSA, troubles du spectre autistique ; IMC, indice de masse corporelle. \*PNDS (Protocole National de Diagnostic et de Soins) disponible. \*\*PNDS en cours de publication.

Au cours de mes travaux de thèse, nous avons utilisé un panel de gènes « Obésité », regroupant 124 gènes (**Tableau 7**) pour étudier les cas suspects d'obésités monogéniques ou syndromiques.

Gènes	Transcript
<i>ACACB</i>	NM_001093.4
<i>ADCY3</i>	NM_004036.5
<i>AFF2</i>	NM_002025.4
<i>AFF4</i>	NM_014423.4
<i>ALMS1</i>	NM_001378454.1
<i>ANOS1</i>	NM_000216.4
<i>ARL6</i>	NM_177976.3
<i>ATRX</i>	NM_000489.6
<i>BBIP1</i>	NM_001195306.2
<i>BBS1</i>	NM_024649.5
<i>BBS10</i>	NM_024685.4
<i>BBS12</i>	NM_152618.3
<i>BBS2</i>	NM_031885.5
<i>BBS4</i>	NM_033028.5
<i>BBS5</i>	NM_152384.3
<i>BBS7</i>	NM_176824.3
<i>BBS9</i>	NM_198428.3
<i>BDNF</i>	NM_170735.6
<i>BRWD3</i>	NM_153252.5
<i>CDKL5</i>	NM_003159.3
<i>CELA2A</i>	NM_033440.3
<i>CEP19</i>	NM_032898.5
<i>CEP290</i>	NM_025114.4
<i>CHD2</i>	NM_001271.4
<i>CHD7</i>	NM_017780.4
<i>CPE</i>	NM_001873.4
<i>CREBBP</i>	NM_004380.3
<i>CUL4B</i>	NM_003588.4

<i>DEAF1</i>	NM_021008.4
<i>DNMT3A</i>	NM_175629.2
<i>DYRK1B</i>	NM_004714.3
<i>EHMT1</i>	NM_024757.5
<i>EIF2S3</i>	NM_001415.4
<i>EP300</i>	NM_001429.4
<i>FBN3</i>	NM_032447.5
<i>FGFR1</i>	NM_023110.3
<i>FMR1</i>	NM_002024.6
<i>GHR</i>	NM_000163.5
<i>GNAS</i>	NM_000516.7
<i>GPD1</i>	NM_005276.4
<i>HDAC4</i>	NM_006037.4
Gènes	Transcript
<i>HDAC8</i>	NM_018486.3
<i>IFT172</i>	NM_015662.3
<i>IFT27</i>	NM_006860.5
<i>INPP5E</i>	NM_019892.6
<i>IQSEC2</i>	NM_001111125.3
<i>IRS2</i>	NM_003749.3
<i>ISL1</i>	NM_002202.3
<i>KCTD13</i>	NM_178863.5
<i>KDM6A</i>	NM_021140.4
<i>KIDINS220</i>	NM_020738.4
<i>KMT2A</i>	NM_001197104.2
<i>KMT2D</i>	NM_003482.4
<i>KSR2</i>	NM_173598.6
<i>LAS1L</i>	NM_031206.7
<i>LEP</i>	NM_000230.3
<i>LEPR</i>	NM_002303.6

<i>LZTFL1</i>	NM_020347.4
<i>MAGEL2</i>	NM_019066.5
<i>MC3R</i>	NM_019888.3
<i>MC4R</i>	NM_005912.3
<i>MECP2</i>	NM_004992.4
<i>MEGF8</i>	NM_001410.3
<i>MKKS</i>	NM_018848.3
<i>MKS1</i>	NM_017777.4
<i>MRAP2</i>	NM_138409.4
<i>MYT1L</i>	NM_015025.4
<i>NCOA1</i>	NM_003743.5
<i>NIPBL</i>	NM_133433.4
<i>NPHP1</i>	NM_000272.5
<i>NRG4</i>	NM_138573.4
<i>NRP1</i>	NM_003873.7
<i>NRP2</i>	NM_201266.2
<i>NTRK2</i>	NM_006180.6
<i>P4HTM</i>	NM_177938.2
<i>PCSK1</i>	NM_000439.5
<i>PGM2L1</i>	NM_173582.6
<i>PHF6</i>	NM_032458.3
<i>PHIP</i>	NM_017934.7
<i>PLXNA1</i>	NM_032242.3
<i>PLXNA2</i>	NM_025179.4
<i>PLXNA3</i>	NM_017514.5
<i>PLXNA4</i>	NM_020911.2
<i>POMC</i>	NM_001035256.3
<i>PPARG</i>	NM_015869.5
<i>PRMT7</i>	NM_019023.5
<i>PROK2</i>	NM_001126128.2
<i>PROKR2</i>	NM_144773.4
<i>RAB23</i>	NM_183227.3
<i>RAD21</i>	NM_006265.3
<i>RAI1</i>	NM_030665.4

<i>RPGRIP1L</i>	NM_015272.5
<i>RPS6KA3</i>	NM_004586.3
<i>SDCCAG8</i>	NM_006642.5
<i>SEMA3A</i>	NM_006080.3
<i>SEMA3B</i>	NM_004636.4
<i>SEMA3C</i>	NM_006379.5
<i>SEMA3D</i>	NM_152754.3
<i>SEMA3E</i>	NM_012431.3
<i>SEMA3F</i>	NM_004186.5
<i>SEMA3G</i>	NM_020163.3
<i>SETD5</i>	NM_001080517.3
<i>SH2B1</i>	NM_001145795.2
<i>SIM1</i>	NM_005068.3
<i>SMC1A</i>	NM_006306.4
<i>SMC3</i>	NM_005445.4
<i>SOX10</i>	NM_006941.4
<i>SPEN</i>	NM_015001.3
<i>STX16</i>	NM_001001433.3
<i>TBC1D4</i>	NM_014832.5
<i>TBX1</i>	NM_080647.1
<i>TBX3</i>	NM_005996.4
<i>THRA</i>	NM_199334.5
<i>TRAPPC9</i>	NM_031466.8
<i>TRIM32</i>	NM_012210.4
<i>TRIP12</i>	NM_004238.3
<i>TRPC5</i>	NM_012471.3
<i>TTC8</i>	NM_198309.3
<i>TUB</i>	NM_003320.5
<i>UBE2A</i>	NM_003336.4
<i>UBE3A</i>	NM_130838.4
<i>UCP3</i>	NM_003356.4
<i>VPS13B</i>	NM_017890.5
<i>WDPCP</i>	NM_015910.7

**Tableau 7. Liste des gènes inclus dans le panel obésité, plateforme Ligan (octobre 2022)**

**comprenant 124 gènes.**

## 5. Obésité Commune et Monogénique : vers un continuum

Traditionnellement, comme le diabète, l'obésité est classée en deux catégories : l'obésité monogénique, et l'obésité polygénique.

Les premières études étaient axées sur les formes **monogéniques** via le séquençage Sanger, tandis que les formes communes ont été analysées dans d'importantes études de population, profitant des avancées en génomique. Au fil du temps, les technologies avancées et une meilleure compréhension de la génétique humaine ont permis d'explorer l'ensemble du génome pour identifier les variants associés à la régulation du poids corporel<sup>82</sup>. L'identification des gènes codant pour la leptine et son récepteur<sup>108</sup> a ouvert la voie à leur considération comme gènes candidats majeurs pour l'obésité humaine. En 1997, des individus présentant un déficit congénital en leptine ont été découverts<sup>109</sup>, caractérisés par une obésité sévère précoce. Peu après cette découverte, des individus présentant des mutations dans le gène codant pour le récepteur de la leptine<sup>110</sup> ont été signalés, ainsi que des porteurs de variants dans *PCSK1*<sup>111</sup>, *MC4R*<sup>112,113</sup> et *POMC*<sup>114</sup>.

L'évolution des techniques de séquençage à haut débit a remplacé le criblage des gènes candidats par le séquençage d'exome, offrant ainsi une analyse exhaustive des séquences codantes pour détecter les variants<sup>82</sup>. Malgré l'abondance de variants identifiés par le séquençage d'exome par rapport aux études de gènes candidats, l'identification des mutations causales a été améliorée grâce à l'utilisation d'algorithmes de prédiction de pathogénicité et à l'expansion des essais fonctionnels<sup>82</sup>. Le séquençage d'exome a démontré son efficacité dans l'identification de nouvelles voies et de gènes liés à l'obésité, notamment les sémacorines de classe 3 (SEMA3A–G), jouant un rôle crucial dans le développement de neurones hypothalamiques, particulièrement ceux exprimant la pro-opiomélanocortine (POMC)<sup>115</sup>.

La majorité des variants liés à l'obésité monogénique ont été identifiées au sein de groupes de patients présentant une obésité sévère survenant dès l'enfance<sup>82</sup>. De plus, étant donné que l'obésité monogénique suit souvent un schéma de transmission récessive<sup>99</sup>, la présence de consanguinité au sein de certaines populations a accru les probabilités de découvrir des mutations, en raison de l'augmentation de l'homozigotie pour des variants pathogènes<sup>116</sup>. À titre d'exemple, des études ont rapporté que des mutations dans les gènes codant pour la leptine, le récepteur de la leptine et MC4R expliquent 30 % des cas d'obésité sévère chez les enfants d'une population pakistanaise consanguine<sup>117</sup>. Environ 50 % de la population pakistanaise porte des variants pathogènes ponctuels ou des variations du nombre de copies (CNV) dans 13 gènes ou loci responsables de l'obésité monogénique, qu'elle soit non syndromique ou syndromique<sup>118</sup>.

La recherche des gènes ayant un impact sur l'obésité **commune**, d'origine polygénique, a débuté lentement avec des études ciblant des gènes candidats et la liaison génomique. Bien que des centaines de gènes aient été examinés en tant que candidats sur plus de 15 ans, seulement six (*ADRB3*<sup>119</sup>, *BDNF*<sup>120</sup>, *CNR1*<sup>121</sup>, *MC4R*<sup>122</sup>, *PCSK1*<sup>123</sup> et *PPARG*<sup>124</sup>) ont montré une association reproductible avec l'obésité. L'approche de liaison génomique, apparue vers la fin des années 1990, implique l'exploration des régions chromosomiques liées à la maladie. Cette phase initiale d'exploration génétique a pour objectif d'identifier de vastes régions génomiques potentielles renfermant des gènes d'intérêt pour la maladie. Cette démarche conduit ensuite à l'identification de régions candidates plus spécifiques, augmentant ainsi la probabilité qu'un variant au sein de ces régions soit à l'origine de la maladie. Bien que plus de 80 études aient suggéré l'association de plus de 300 régions chromosomiques avec l'obésité, peu de gènes causaux ont été avec succès répliqués<sup>125</sup>. Néanmoins, en raison de la taille

réduite des échantillons et de la couverture génétique limitée, ces études ont eu un impact mineur sur la découverte des gènes liés à l'obésité commune.

La découverte des gènes liés à des maladies communes a été accélérée par les études d'association à l'échelle du génome (**GWAS**). Les premières GWAS pour les traits d'obésité ont identifié des variants communs dans le locus *FTO* associés à l'IMC en 2007<sup>126,127</sup>. Jusqu'à présent, environ 60 GWAS ont trouvé plus de 1100 loci indépendants associés à diverses caractéristiques d'obésité<sup>128</sup>. Les échantillons de plus en plus grands ont renforcé la capacité à identifier des loci, particulièrement pour les traits moins courants ou avec des effets plus faibles. Ces loci significatifs à l'échelle du génome expliquaient 6 % de la variation de l'IMC<sup>129</sup>. Bien que l'IMC soit couramment utilisé, il ne tient pas compte de la répartition entre masse maigre et grasse<sup>130</sup>. Par conséquent, des GWAS ont été menées pour des traits d'obésité plus spécifiques, tels que le pourcentage de graisse corporelle<sup>131,132</sup>, la masse maigre<sup>133</sup>, les taux circulants de leptine<sup>134</sup> et les niveaux de LEPR<sup>135</sup>. Malgré que la plupart des loci GWAS aient été identifiés chez les adultes, ils sont aussi liés à l'obésité chez les enfants et les adolescents<sup>136-138</sup>. Cependant, initialement, les GWAS ont été biaisées envers les populations d'ascendance européenne. Finalement, les loci identifiés dans une origine ethnique ont montré une transférabilité solide avec des associations cohérentes entre différentes origines, bien que les effets et les fréquences alléliques puissent différer<sup>139</sup>. Les corrélations génétiques observées entre les origines ethniques pour l'IMC renforcent cette possible transférabilité, tout en suggérant l'existence de loci spécifiques à chaque origine ethnique à découvrir.

Les GWAS ont principalement ciblé la variation génétique commune (Minor allele frequency-MAF > 5 %), mais ont aussi examiné les variations du nombre de copies (CNVs) dans l'obésité. Bien que quelques études à grande échelle aient trouvé des associations solides pour les variants rares, l'idée que les variants à faible fréquence (MAF de 1 à 5 %) et rares (MAF < 1



%) pourraient avoir des effets plus importants que les variants communs a été avancée<sup>82,140-143</sup>. Cependant, une récente étude avec plus de 600 000 individus n'a identifié que 16 gènes associés à l'IMC avec des variants rares, notamment dans cinq récepteurs couplés aux protéines G dans le système nerveux central (*CALCR*, *MC4R*, *GIPR*, *GPR151* et *GPR75*)<sup>143</sup>.

L'obésité étant une condition complexe, certaines GWAS ont inclus des facteurs démographiques (comme le sexe et l'âge)<sup>144</sup> et des facteurs **environnementaux** (comme l'activité physique, le régime alimentaire, et le tabagisme)<sup>145-147</sup> dans leurs analyses. Malgré des échantillons de plus de 200 000 individus, ces études d'interaction gène-environnement à l'échelle du génome restent complexes. Jusqu'à présent, seulement 12 loci ont été identifiés où les effets sur l'obésité sont influencés par des facteurs non génétiques. Cependant, l'interaction entre le locus *FTO* et un mode de vie sain a été solidement confirmée. En particulier, une augmentation de l'activité physique ou l'adoption d'un régime alimentaire sain peuvent réduire l'effet du locus *FTO* jusque 40%<sup>148,149</sup>. L'obésité provient donc de l'interaction entre des facteurs environnementaux et biologiques. Une forte composante génétique influence la variation pondérale, déterminant la réaction des individus à cet environnement « obésogène », avec des études suggérant que l'héritabilité de l'obésité se situe entre 40 % et 70 %<sup>150,151</sup>.

L'application des scores polygéniques (**PRS**) dans le but de prédire les risques potentiels de prédisposition à l'obésité, dans le contexte de la prise en charge intégrée des patients reste encore actuellement du domaine de la recherche. En effet, la prédisposition génétique à l'obésité peut être évaluée au moyen d'un score polygénique dérivé des études d'association à l'échelle du génome (GWAS) portant sur l'indice de masse corporelle. Pour rappel, il est calculé en agrégeant le nombre d'allèles associés à la maladie, tout en prenant en compte le poids de l'effet de chaque variante identifiée au sein d'études d'association

génomique à grande échelle. Les individus présentant un  $PRS_{BMI}$  élevé (dans le décile supérieur) affichent en moyenne un IMC supérieur de 2,9 kg/m<sup>2</sup> (ce qui équivaut à une augmentation de poids de 8 kg) et présentent un risque accru de 4,2 fois de développer une obésité sévère (IMC  $\geq$  40 kg/m<sup>2</sup>) par rapport à ceux ayant un  $PGS_{BMI}$  moins élevé (dans les neuf déciles inférieurs)<sup>152</sup>.

Ainsi, bien que distinctes en apparence, les recherches génétiques concernant l'obésité monogénique et polygénique ont mis en évidence des similitudes biologiques fondamentales entre ces deux formes d'obésité. On les distingue souvent en fonction de la fréquence allélique et de la prévalence de la maladie : les variants rares sont recherchés pour les formes monogéniques d'obésité, tandis que les variants communs sont étudiés pour l'obésité polygénique. Toutefois, il est maintenant reconnu que ces deux types d'obésité ne sont pas clairement séparés, mais plutôt qu'ils existent sur un **continuum** et partagent en partie la même biologie. En effet, la plupart de ces gènes régulent notamment la voie de signalisation de la leptine-mélanocortine. Une perturbation au sein de ces voies de signalisation conduit à une obésité grave, tandis que des variants spécifiques dans ces gènes ou à leurs environs auront des conséquences plus nuancées sur leur expression, modifiant ainsi la position d'un individu dans la distribution normale de l'IMC. Bien que la majorité des gènes aient été d'abord identifiés dans le contexte de l'obésité sévère monogénique, un locus contenant *ADCY3* a été découvert par une étude d'association à l'échelle du génome en lien avec l'obésité commune<sup>141</sup>. La participation d'*ADCY3* dans l'obésité monogénique a été ensuite confirmée<sup>153</sup>. Une co-localisation d'*ADCY3* et *MC4R* a été observée dans les cils primaires des neurones situés dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus<sup>154</sup>. Ces cils jouent un rôle crucial dans le contrôle de l'homéostasie énergétique<sup>155</sup>. Le système nerveux central et les voies neuronales associées aux plaisirs alimentaires jouent un rôle central dans

la régulation du poids corporel pour les deux formes d'obésité. De plus, des indices préliminaires suggèrent que les facteurs polygéniques peuvent influencer l'expression des variants pathogènes responsables de l'obésité monogénique<sup>156</sup>. Les effets des mutations pathogènes de *MC4R* peuvent partiellement être neutralisés par un faible risque polygénique, impliquant potentiellement d'autres mécanismes innés dans la régulation du poids corporel<sup>156</sup>.

Au départ, deux approches apparemment distinctes émergeaient : l'une explorait les causes rares et mendéliennes de l'obésité extrême, tandis que l'autre étudiait les influences polygéniques complexes sur la répartition du poids corporel dans la population. Cependant, ces deux approches ont finalement convergé vers une compréhension centrale : le rôle essentiel du système nerveux central dans la régulation du poids corporel. En particulier, elles ont mis en évidence les rôles cruciaux des voies de signalisation. Grâce à l'émergence de vastes cohortes et de biobanques de grande envergure, comme la UK Biobank, les tailles d'échantillon vont continuer à croître, accélérant ainsi la mise au jour de nombreux autres emplacements génétiques liés à l'obésité.

## 6. Médecine de précision dans le cadre des obésités rares

Dans le contexte des obésités rares, des traitements spécifiquement ciblés en fonction du génotype des patients ont été développés, notamment l'utilisation de la leptine ou d'agonistes du récepteur MC4R. Ces traitements sont répertoriés dans la **Tableau 8**.

Jusqu'à présent, deux traitements personnalisés en fonction du génotype du patient ont été développés pour traiter l'obésité. Le premier implique l'utilisation de **leptine** humaine recombinante chez les patients présentant une carence en leptine due à des variants dans le gène *LEP*<sup>157,158</sup>. Cette thérapie ciblée s'est avérée remarquablement bénéfique en réduisant significativement l'apport alimentaire, le poids corporel et la masse grasse tout en rétablissant la fonction endocrinienne<sup>157,158</sup>.

Le deuxième traitement consiste en l'administration de setmelanotide, un **agoniste sélectif du récepteur MC4R**, qui a été approuvé pour les conditions rares d'obésité monogénique, notamment les déficiences en *LEPR*, *PCSK1* et *POMC*<sup>159</sup>. Ce médicament agit en tant que substitut de la mélanocyte-stimuline hormone (MSH). L'administration quotidienne de setmelanotide par injection sous-cutanée entraîne une perte de poids significative et une réduction de l'appétit<sup>160-162</sup>. Dans les cas de déficit en *POMC*, le setmelanotide restaure la signalisation MC4R de manière complète, tandis que dans les cas de déficience en *LEPR*, la restauration de cette signalisation semble partielle. Cela est dû au fait que le déficit en *POMC* affecte directement la production des ligands du récepteur MC4R ( $\alpha$ -MSH et  $\beta$ -MSH), tandis que le déficit en *LEPR* affecte la signalisation en amont de la production de *POMC*. Cependant, il est important de noter que ces résultats montrent une tendance inverse dans le contexte de la sensation de satiété, et ce phénomène demeure inexpliqué.

Ces deux traitements illustrent comment la compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents peut guider le développement de thérapies ciblées visant à restaurer les voies altérées.

Agents thérapeutiques	Mécanisme d'action	Patients ciblés
<b>Leptine recombinante humaine (métréleptine)</b>	Agit comme un substitut à la leptine déficiente.	Déficit du gène de la leptine ( <i>LEP</i> ).
<b>Analogues du GLP-1</b>	Amélioration de la sensibilité à l'insuline grâce à une action centrale au niveau de l'hypothalamus qui favorise la satiété et ralentit la vidange gastrique.	Obésités rares.
<b>Agoniste MC4R (Setmélanotide)</b>	Compense l'absence d'activité du ligand endogène de MC4R en remplaçant l' $\alpha$ -MSH.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Obésité <b>monogénique</b> causée par des déficits bi-alléliques de <i>LEPR</i>, <i>POMC</i> et <i>PCSK1</i>.</li> <li>- Obésité <b>syndromique</b> englobant Bardet-Biedl, Alström, déficit de <i>SH2B1</i> (délétion 16p11.2), Smith Magenis, ainsi que des variants hétérozygotes de <i>MC4R</i> (essais cliniques en cours).</li> </ul>

**Tableau 8. Traitements actuellement disponibles pour les obésités rares** <sup>100</sup>.

Malgré l'existence de thérapies de précision dans ce domaine, leur inaccessibilité dans certains pays est également à déplorer<sup>163</sup>. Une étude rétrospective transversale menée au Pakistan sur une importante cohorte de 145 enfants présentant des déficits en leptine, en récepteur de la leptine ou en récepteur de la mélanocortine 4 a révélé l'évolution de leur état en l'absence de ces traitements<sup>163</sup>. Les résultats ont montré une mortalité significativement élevée chez les enfants atteints de déficit en *LEP* (26 %) ou de *LEPR* (9 %), principalement due à des infections graves pulmonaires et du système gastro-intestinal<sup>163</sup>. De plus, 40 % des enfants survivants porteurs de variants dans *LEP* ou dans *LEPR* ont vécu des épisodes mettant leur vie en danger liés à ces infections<sup>163</sup>. Cette étude met en évidence l'impact sérieux de ces déficiences sur la morbidité, la mortalité précoce, l'éducation et la stigmatisation des enfants, soulignant ainsi la nécessité urgente de rendre ces médicaments vitaux accessibles<sup>163</sup>.

## C. Lipodystrophie partielle familiale

### 1. Contexte

La lipodystrophie partielle familiale (#151660) représente la forme la plus répandue de lipodystrophie, affichant une incidence estimée à environ 1 cas pour 100 000 en Europe, bien que son diagnostic demeure souvent méconnu<sup>164</sup>.

### 2. Définition et phénotype

La lipodystrophie partielle familiale s'inscrit dans la catégorie des lipodystrophies congénitales, qui se caractérisent par des altérations dans la répartition du tissu adipeux blanc, pouvant être partielle ou généralisée. Dans notre travail, nous nous concentrerons uniquement sur les formes partielles.

**Physiologiquement**, les adipocytes du tissu adipeux blanc, exercent une fonction cruciale dans la régulation de l'équilibre énergétique et de l'homéostasie métabolique<sup>165</sup>. En réponse aux stimuli nutritionnels et hormonaux, ces cellules stockent l'excès d'énergie sous forme de triglycérides après les repas, libérant ultérieurement des acides gras pour approvisionner d'autres organes en substrats énergétiques<sup>165</sup>. Cette capacité de stockage préserve les organes de la lipotoxicité associée à une accumulation lipidique excessive<sup>165</sup>. Les adipocytes ne se limitent pas à leur rôle de stockage, étant également des cellules **endocrines** produisant des adipokines<sup>165</sup>. Parmi celles-ci, la leptine régule la satiété et le métabolisme des glucides et des lipides en agissant sur différents organes, tels que les muscles, le foie, le tissu adipeux et les cellules bêta pancréatiques<sup>165</sup>. De même, l'adiponectine favorise l'oxydation des acides gras, le transport du glucose dans les muscles, et réduit la gluconéogenèse hépatique<sup>165</sup>.

Dans les syndromes **lipodystrophiques**, caractérisés par une expansion limitée du tissu adipeux due à une capacité réduite de stockage des lipides, les organes non adipeux sont exposés à la lipotoxicité, engendrant diverses perturbations métaboliques telles que la résistance à l'insuline, la stéatose hépatique, ainsi que des dysfonctions cardiaques, endothéliales et des cellules bêta pancréatiques<sup>165</sup>. La réduction de l'expansion du tissu adipeux et la potentielle carence en leptine induisent une accumulation anormale de graisse en réaction à un apport énergétique accru<sup>165</sup>. Cette situation se traduit par une **défaillance dans le stockage de l'excédent énergétique** sous forme de lipides au niveau des adipocytes. Cette diminution fonctionnelle du tissu adipeux conduit à des altérations métaboliques multiples résultant de dysfonctions métaboliques et sécrétoires des adipocytes. Ainsi, la baisse des taux sériques **d'adiponectine**, bien que variable selon les différentes formes de lipodystrophie, participe à l'instauration d'une résistance à l'insuline et à la stéatose hépatique associée à cette condition<sup>166,167</sup>. Les flux lipidiques accrus activent la production hépatique de lipoprotéines de très basse densité, de triglycérides et de glucose, entravant simultanément l'absorption musculaire du glucose<sup>165</sup>. La carence en **leptine**, quand présente, augmente également l'appétit, exacerbant ainsi le profil métabolique. Dans certaines formes de lipodystrophies partielles, la redistribution des graisses corporelles, caractérisée par une augmentation de la graisse viscérale et une diminution de la graisse sous-cutanée contribue également à la dysfonction métabolique<sup>165</sup>. En effet, le tissu adipeux sous-cutané notamment dans les membres inférieurs, physiologiquement plus sensible à l'insuline, offre une protection contre le diabète et les maladies cardiovasculaires<sup>168,169</sup>, contrairement au tissu adipeux viscéral, plus sensible à la lipolyse des adipocytes qui libère directement des acides gras dans la veine porte, qui sont capturés par le foie<sup>165</sup>. Ainsi, l'excès de graisse viscérale, par opposition à la graisse sous-cutanée, contribue à la lipotoxicité hépatique, à la stéatose



hépatique, l'hypertension liée à l'adiposité et à la résistance à l'insuline<sup>165</sup>. De plus, la dysfonction mitochondriale et le stress oxydatif, fréquemment observés dans la lipodystrophie, diminuent également la réactivité cellulaire à l'insuline<sup>165</sup>.

Ainsi, dans le cadre de la forme **partielle**, la répartition anormale du tissu adipeux entraîne un phénotype métabolique associé à un syndrome d'insulino-résistance, hyperandrogénie, diabète de type 2, hypertriglycéridémie et stéatose hépatique (**Figure 9**). Cependant, il est important de souligner une particularité dans les critères d'identification du syndrome métabolique : le rapport taille/hanche. En effet, ce rapport est pris en défaut dans ces situations, du fait que de nombreux syndromes lipodystrophiques se traduisent par l'absence d'accumulation de graisse au niveau abdominal. De plus, chez les femmes, on observe également la présence d'un syndrome des ovaires polykystiques (**Figure 9**)<sup>164</sup>. La lipodystrophie partielle peut également engendrer des problèmes cardiaques, ainsi que des atteintes musculaires ou neuropathique<sup>164</sup>.

Le syndrome de Dunnigan (ou LFP2) représente une forme rare de maladie génétique, étant la plus fréquente parmi les lipodystrophies partielles familiales. Il se caractérise par une accumulation de tissu adipeux au niveau cervico-facial et une forte résistance à l'insuline<sup>164,170,171</sup>. La LFP2 (#151660) se manifeste par des symptômes semblables à ceux du syndrome de Cushing, avec toutefois une différence majeure : une pseudo-hypertrophie musculaire des membres due à la lipoatrophie. Cette pathologie se traduit par une disparition du tissu adipeux des membres dès la puberté, une répartition atypique des graisses au niveau du visage et du tronc, et une augmentation du tissu adipeux viscéral accompagnée d'une atrophie du tissu sous-cutané<sup>164,170,171</sup>.

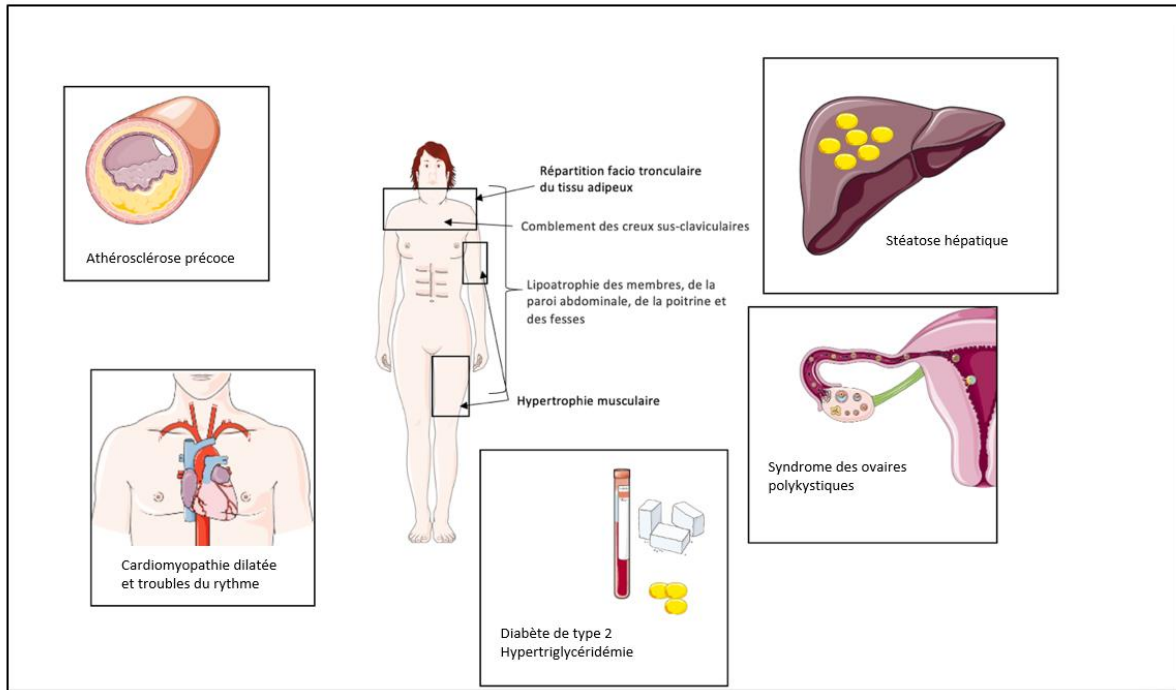


Figure 9. Schéma du phénotype clinico-biologique de la LFP2 et de ses complications associées (cardiaques, métaboliques et gynécologiques).

### 3. Types de lipodystrophie partielle familiale

Les lipodystrophies partielles familiales peuvent être divisées en deux catégories principales : les laminopathies, comprenant notamment la lipodystrophie de Dunnigan, et les autres formes moins fréquentes de lipodystrophie partielle familiale. Ces dernières sont étroitement liées à la différenciation adipocytaire et à la formation des gouttelettes lipidiques. Toutes ces informations ont été synthétisées et répertoriées dans la **Tableau 9** pour une vue d'ensemble plus claire.

- Syndrome de **Dunnigan** : cette forme est une laminopathie, causée par des variants pathogènes du gène *LMNA*, qui code les lamines A/C, des protéines impliquées dans l'architecture de l'enveloppe nucléaire et l'organisation structurale de la chromatine. Les variants du gène *LMNA* se transmettent selon un mode autosomique dominant<sup>164</sup>.

- **Syndrome Progéroïde lié à ZMPSTE24** : les variants du gène *ZMPSTE24*<sup>172</sup> peuvent entraîner également une laminopathie, qui sera abordée plus en détail ultérieurement, dans la partie Présentations des articles (*Heterozygous deleterious variants in ZMPSTE24 : potential impact on Metabolic Syndrome, including hypertriglyceridemia*).
- **FPLD3 et PPARgamma** (peroxisome-proliférateur- activated receptor gamma) : Les variants perte de fonction du gène *PPARgamma*, impliqué dans la différenciation adipocytaire, causent une lipodystrophie partielle familiale autosomique dominante, caractérisée par une lipoatrophie moins sévère. Un syndrome métabolique précoce et une présentation pseudo-acromégale peuvent également être observés<sup>172</sup>.
- **AKT2** : Les mutations du gène *AKT2*, transmises selon un mode autosomique dominant, sont également associées à la différenciation adipocytaire<sup>172</sup>.
- **CIDEA (cell death-inducing Dffa-like effector) et Perilipine (PLIN1)**: Les gènes *CIDEA* et *PLIN1* sont impliqués dans la formation des gouttelettes lipidiques. Les variants de *CIDEA* sont transmis selon un mode récessif, tandis que ceux de la *Perilipine* se transmettent de manière autosomique dominante<sup>172</sup>.

Cette classification nous permet de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux différentes formes de lipodystrophie partielle familiale et de laminopathies, ouvrant ainsi la voie à une approche plus ciblée pour la prise en charge de ces affections.

Syndrome	Gène / protéine	Rôle	Mode de transmission	Caractéristiques cliniques spécifiques
FPLD2 (syndrome de Dunnigan)	<i>LMNA</i> / lamine A/C	Structure et fonctions du noyau cellulaire.	AD	Développement précoce de l'athérosclérose, présence de cardiomyopathie avec anomalies du rythme cardiaque et/ou de la conduction dans certaines présentations.
FPLD3	<i>PPARG</i> / PPAR $\gamma$	Différenciation adipocytaire.	AD	HTA sévère.
FPLD4	<i>PLIN1</i> / périlipine-1	Régulation de la lipolyse adipocytaire.	AD	Morphotype acromégaloïde et asthénie sévère.
FPLD5	<i>CIDEA</i> / CIDEA	Architecture de la paroi des gouttelettes lipidiques dans les adipocytes.	AR	Phénotype lipoatrophique précoce et acidocétose.
AKT2-related FPLD	<i>AKT2</i> / Akt2	Signalisation de l'insuline.	AD	NA
Dysplasie acromandibulaire type B	<i>ZMPSTE24</i> / ZMPSTE24	Maturation de la prélamine A en lamine A.	AR/AD	Les variants homozygotes conduisent à une lipodystrophie généralisée tandis que les hétérozygotes pourraient conduire à une forme partielle.

**Tableau 9. Lipodystrophie partielle familiale selon Mosbah *et al.*<sup>172</sup>, Fernández-Pombo *et al.*<sup>173</sup> et Capeau *et al.*<sup>174</sup>  
AD , autosomique dominant ; AR, autosomique récessif ; HTA, hypertension artérielle ; NA, non applicable.**

Nous avons utilisé un panel de gènes liés à l'insulino-résistance, comprenant 27 gènes (**Tableau 10**), dans le cadre de patients suspectés de lipodystrophie partielle familiale. En cas d'atteinte lipidique précoce, nous avons complété notre analyse en utilisant un panel de gènes associés à la dyslipidémie, comprenant 72 gènes (**Tableau 11**).

Gène	Transcrit
<i>ADIPOQ</i>	NM_004797.4
<i>AGPAT2</i>	NM_006412.4
<i>AKT2</i>	NM_001626.6
<i>BANF1</i>	NM_001143985.1
<i>BLM</i>	NM_000057.4
<i>BSCL2</i>	NM_032667.6
<i>CAV1</i>	NM_001753.5
<i>CAVIN1</i>	NM_012232.6
<i>CIDEC</i>	NM_022094.3
<i>DYRK1B</i>	NM_004714.3
<i>GPD1</i>	NM_005276.4
<i>INSR</i>	NM_000208.4
<i>IRS1</i>	NM_005544.3
<i>IRS2</i>	NM_003749.3
<i>KCNJ6</i>	NM_002240.5
<i>LIPE</i>	NM_005357.4
<i>LMNA</i>	NM_170707.4
<i>PCYT1A</i>	NM_005017.4
<i>PIK3R1</i>	NM_181523.3
<i>PLIN1</i>	NM_002666.5
<i>POC1A</i>	NM_015426.5
<i>POLD1</i>	NM_002691.4
<i>PPARG</i>	NM_015869.5
<i>PSMB8</i>	NM_148919.4
<i>TBC1D4</i>	NM_014832.5
<i>WRN</i>	NM_000553.6
<i>ZMPSTE24</i>	NM_005857.5

**Tableau 10.** Liste des gènes inclus dans le panel lipodystrophie/insulinorésistance, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 27 gènes.

Gène	Transcrit
<i>ABCA1</i>	NM_005502.4
<i>ABCG1</i>	NM_207174.1
<i>ABCG5</i>	NM_022436.3
<i>ABCG8</i>	NM_022437.3
<i>ABHD5</i>	NM_016006.6
<i>ACAD9</i>	NM_014049.5
<i>ACADL</i>	NM_001608.4
<i>ACADM</i>	NM_000016.6
<i>ACADS</i>	NM_000017.4
<i>ACADVL</i>	NM_000018.4
<i>ACLY</i>	NM_001096.3
<i>ANGPTL3</i>	NM_014495.4
<i>ANGPTL4</i>	NM_139314.3
<i>ANGPTL8</i>	NM_018687.7
<i>APOA1</i>	NM_000039.3
<i>APOA4</i>	NM_000482.4
<i>APOA5</i>	NM_052968.5
<i>APOB</i>	NM_000384.3
<i>APOC2</i>	NM_000483.5
<i>APOC3</i>	NM_000040.3
<i>APOE</i>	NM_000041.4
<i>CAVIN1</i>	NM_012232.6
<i>CELA2A</i>	NM_033440.3
<i>CETP</i>	NM_000078.3
<i>CPT2</i>	NM_000098.3
<i>CREB3L3</i>	NM_032607.3
<i>CYP27A1</i>	NM_000784.4
<i>CYP2D6</i>	NM_000106.6
<i>CYP7A1</i>	NM_000780.4
<i>DHCR24</i>	NM_014762.4
<i>DYRK1B</i>	NM_004714.3
<i>GCKR</i>	NM_001486.4
<i>GK</i>	NM_000167.6
<i>GPD1</i>	NM_005276.4
<i>GPIHBP1</i>	NM_178172.6
<i>HMGCR</i>	NM_000859.3
<i>LCAT</i>	NM_000229.2
<i>LDLR</i>	NM_000527.5
<i>LDLRAP1</i>	NM_015627.3
<i>LIPA</i>	NM_000235.4
<i>LIPC</i>	NM_000236.3
<i>LIPE</i>	NM_005357.4
<i>LIPG</i>	NM_006033.4
<i>LIPI</i>	NM_198996.4
<i>LMF1</i>	NM_022773.4

<i>LMNA</i>	NM_170707.4
<i>LMNB2</i>	NM_032737.4
<i>LPL</i>	NM_000237.3
<i>LRP6</i>	NM_002336.3
<i>NPC1</i>	NM_000271.5
<i>NPC1L1</i>	NM_013389.3
<i>PCSK9</i>	NM_174936.4
<i>PCYT1A</i>	NM_005017.4
<i>PIK3R1</i>	NM_181523.3
<i>PLIN1</i>	NM_002666.5
<i>PNPLA5</i>	NM_138814.4
<i>POC1A</i>	NM_015426.5
<i>POLD1</i>	NM_002691.4
<i>PPARG</i>	NM_015869.5
<i>SAR1B</i>	NM_001033503.3
<i>SCARB1</i>	NM_005505.5
<i>SLC10A2</i>	NM_000452.3
<i>SMPD1</i>	NM_000543.5
<i>SORT1</i>	NM_002959.7
<i>SREBF1</i>	NM_004176.5
<i>SREBF2</i>	NM_004599.4
<i>STAP1</i>	NM_012108.4
<i>TMEM199</i>	NM_152464.3
<i>TRIB1</i>	NM_025195.4
<i>WRN</i>	NM_000553.6
<i>ZHX3</i>	NM_015035.4
<i>ZMPSTE24</i>	NM_005857.5

**Tableau 11. Liste des gènes inclus dans le panel dyslipidémie, plateforme Ligan (octobre 2022) comprenant 72 gènes.**

#### **4. Médecine de précision**

La prise en charge repose fondamentalement sur la mise en œuvre précoce de mesures hygiéno-diététiques dès le diagnostic, avant l'apparition de complications, de préférence en collaboration avec un diététicien. La réduction de la capacité du tissu adipeux à stocker l'excédent énergétique joue un rôle crucial dans le développement des maladies métaboliques. Il est essentiel d'éviter toute situation où l'apport énergétique alimentaire excède les dépenses<sup>164</sup>.

De plus, actuellement, la **métréleptine** demeure la seule thérapie ciblée disponible pour les lipodystrophies partielles familiales. En effet cette dernière, un médicament analogue de la leptine, peut être utilisée pour traiter certaines formes de lipodystrophie. Ce traitement vise à améliorer les complications métaboliques associées à ces maladies, en agissant sur les déficits hormonaux au niveau des adipocytes. Cependant, il n'a pas la capacité de restaurer le tissu adipeux atrophié<sup>164</sup>. Dans les cas de lipodystrophies partielles, la métréleptine est administrée uniquement en présence d'une faible concentration de leptine et elle montre son efficacité sur des paramètres tels que l'HbA1c, les triglycérides et l'atteinte hépatique<sup>164</sup>. Des données récentes<sup>175</sup> suggèrent également son utilité dans la réduction de l'indice de masse corporelle. La métréleptine joue un rôle dans la réduction de l'hyperphagie et favorise une perte de poids chez les patients présentant un déficit en leptine, ce qui peut avoir des effets positifs sur la répartition des adipocytes au niveau du visage et du tronc.

En France, l'utilisation de la métreleptine est indiquée chez les patients atteints de lipodystrophie partielle familiale en cas de complications métaboliques insuffisamment contrôlées par les traitements standard<sup>164</sup>.

Contrairement à la métreleptine, la **rosiglitazone** serait susceptible d'induire une augmentation du tissu adipeux. Ce composé agit en tant qu'agoniste sélectif des récepteurs nucléaires PPARgamma (peroxisomal proliferator activated gamma) et appartient à la classe des **thiazolidinediones**, bien qu'il ne soit pas autorisé en France. Son mécanisme d'action repose sur la réduction de l'insulinorésistance au niveau du tissu adipeux, du muscle squelettique et du foie, ce qui permet de réduire la glycémie. Cependant, malgré son efficacité dans d'autres contextes, son utilisation dans le traitement de la lipodystrophie partielle n'a pas présenté d'effet suffisamment convaincant pour être inclus dans les recommandations actuelles et suscite encore des débats. Des résultats positifs ont néanmoins été observés dans certaines études<sup>176</sup>, tandis que d'autres ont présenté des conclusions plus nuancées<sup>175,177</sup>. En effet, une étude récente<sup>175</sup> a confirmé le potentiel bénéfique des thiazolidinediones chez un échantillon de 12 patients atteints de lipodystrophie partielle. Des améliorations significatives de l'HbA1c ont été constatées, en particulier parmi les individus porteurs de variants pathogènes dans *PPARG*. Toutefois, il convient de noter que cette amélioration n'a pas été observée au sein de la cohorte de patients souffrant du syndrome de Dunnigan. De plus, les thiazolidinediones ont amélioré les taux sériques de triglycérides. Cette observation a été corroborée, notamment chez les individus présentant un déficit dans *LMNA*. Il est à noter que cet effet bénéfique n'a pas été relevé parmi les patients porteurs d'une variant génétique dans le gène *PPARG*.

Ainsi, en dépit de son association avec une augmentation du tissu adipeux sous-cutané, le rosiglitazone ne garantit pas systématiquement une amélioration du contrôle glycémique,



bien que l'insulinosensibilité puisse s'améliorer et que les niveaux de leptine puissent augmenter<sup>177</sup>.

## VI. Analyses génétiques des formes monogéniques

Dans cette section, nous allons présenter les méthodes génétiques appliquées dans le cadre de cette thèse scientifique. En effet, dans le cadre de cette approche finale, nous avons d'abord adopté l'utilisation de l'exome en conjonction avec les panels ciblés précédemment évoqués. En cas de détection de variants pathogènes, une étape ultérieure de confirmation a été entreprise par le biais d'une analyse de type Sanger. Cette méthodologie a également été employée pour explorer la ségrégation familiale des variants préalablement identifiés. Nous présenterons dans l'ordre chronologique de leur découverte trois techniques, les deux dernières ayant été utilisées dans le cadre de cette thèse : la méthode de Sanger et le séquençage de nouvelle génération.

### A. Analyse de liaison

La notion de liaison génétique ainsi que le déséquilibre de liaison sont étroitement intriqués. Deux emplacements génétiques (loci) sont considérés comme liés lorsque leur transmission conjointe des parents à l'enfant survient plus fréquemment que si les deux se séparaient indépendamment lors de la ségrégation, manifestant ainsi une probabilité de recombinaison inférieure à 50 %. Les emplacements génétiques sont en situation de déséquilibre de liaison lorsqu'ils sont observés, au sein d'une population générale, sur un même haplotype plus souvent qu'il ne serait attendu. En général, deux emplacements en déséquilibre de liaison présentent également une liaison, cependant, l'inverse n'est pas forcément vrai<sup>178</sup>. L'analyse de liaison représente souvent la première étape lors de l'étude génétique d'un trait, car elle permet l'identification de vastes régions du génome susceptibles d'abriter un gène d'intérêt lié à une maladie. Cette approche se déploie sur l'ensemble du génome. Elle s'appuie sur l'utilisation de marqueurs biologiques tels que les short tandem repeats (STR) ou microsatellites. Les STR consistent en des motifs répétés, généralement

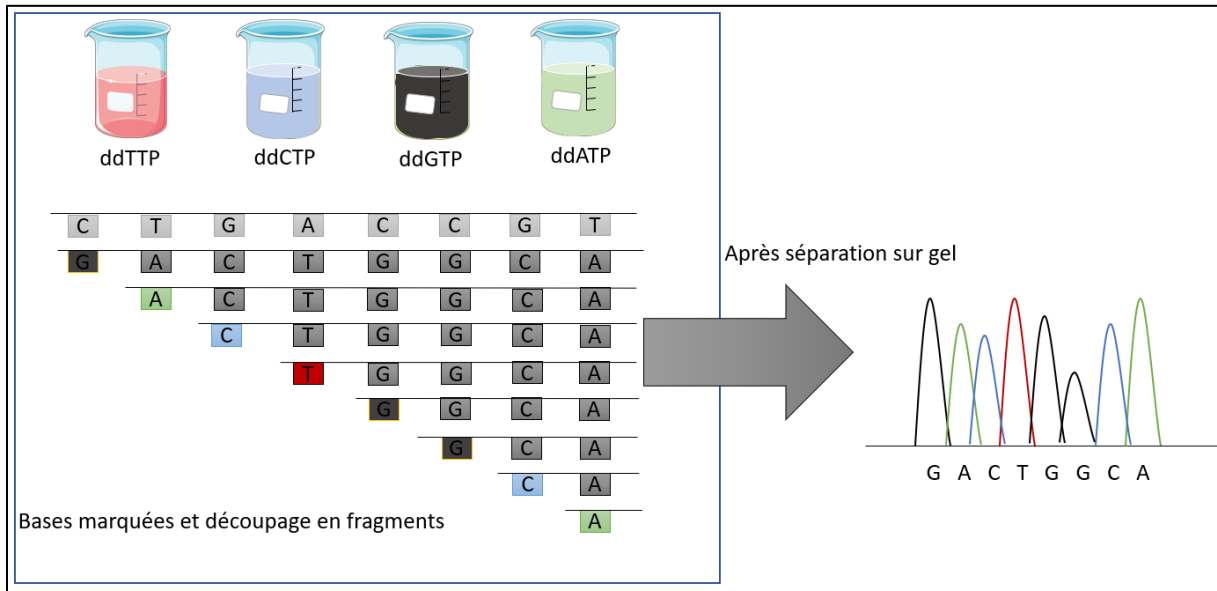
constitués de 2 à 4 paires de bases, formant une séquence Acide Désoxyribonucléique (ADN) généralement inférieure à 100 paires de bases. Ces motifs peuvent être aisément amplifiés par polymérase chain reaction (PCR) pour évaluer leur taille, à partir d'une petite quantité d'ADN génomique. Ainsi, ces derniers se distinguent comme des marqueurs de choix, mais ont progressivement cédé la place aux single nucleotide polymorphisms (SNP), qui bien que moins polymorphes, sont plus aisés à génotyper. Les études de liaison se fondent sur une évaluation statistique de la co-transmission du marqueur biologique avec un trait au sein d'une enquête familiale.

Les expériences antérieures ont solidement démontré la fiabilité de cette approche. L'analyse de liaison possède un avantage majeur : elle permet d'identifier une petite région candidate, augmentant ainsi la probabilité a priori qu'un variant découvert dans cette zone soit à l'origine de la maladie. Cependant, son principal inconvénient réside dans la nécessité d'examiner de vastes familles. Pour obtenir une signification statistique, une famille multigénérationnelle comprenant entre 6 et 12 individus affectés s'avère indispensable pour un modèle autosomique dominant. Plus le nombre de participants est conséquent, plus la région ciblée sera réduite, facilitant ainsi les analyses. Un excellent exemple de cette technique est l'identification du gène *GCK* en 1992<sup>179</sup>. En effet, cette méthode a été appliquée au sein de familles sur plusieurs générations dans le but de localiser et finalement identifier le ou les gènes prédisposant au diabète non insulino-dépendant<sup>179</sup>. Ainsi, une liaison entre le locus de la glucokinase sur le chromosome 7p et le diabète a été mise en évidence dans 16 familles françaises atteintes de diabète de type MODY<sup>179</sup>.

## B. Sanger

Le processus de séquençage Sanger suit un protocole précis, représenté par la **Figure**

10.



**Figure 10. Séquençage par terminaison de chaîne (ou Séquençage Didéoxy) : méthode fondée sur la détection de nucléotides marqués en tant que terminateurs de chaînes, incorporés par l'ADN polymérase durant la réplication matricielle.**

Tout commence avec un brin simple d'ADN **dénaturé**, qui sert de matrice pour étendre une amorce comportant un groupement 3'OH libre. Cette extension se fait en présence d'ADN polymérase et de désoxynucléotides (dNTP). Ensuite, l'ADN est dénaturé, suivi de **l'hybridation** et de **l'élongation** des amorces. L'amorce est alors prolongée par l'ADN polymérase. Cette étape d'élongation utilise à la fois des dNTP classiques non marqués et des didésoxynucléotides (ddNTP) fluorescents en quantité limitée. Ces derniers sont incorporés de manière aléatoire, ce qui interrompt aléatoirement la polymérisation. Lorsqu'un ddNTP fluorescent est incorporé, la polymérase cesse son activité. Ainsi, un mélange de fragments

fluorescents de différentes tailles est généré, en fonction des ddNTP présents à l'extrémité des fragments.

Ensuite, une **électrophorèse** en gel de polyacrylamide dénaturant est effectuée, suivie de la **détection** des fragments fluorescents grâce à un système à quatre couleurs. Chaque type de didésoxynucléotide est associé à un fluorophore spécifique : le rouge pour le didésoxyT, le noir pour le didésoxyG, le bleu pour le didésoxyC et le vert pour le didésoxyA. Après avoir filtré la réaction de séquençage par électrophorèse sur gel et soumis les fragments obtenus à une électrophorèse capillaire, les fragments fluorescents migrent à travers une cellule de détection. Cela permet au système optique laser du séquenceur de mesurer la fluorescence émise par chaque fragment. Cette détection permet de calculer un score de qualité pour chaque base.

Enfin, le signal est **analysé** électroniquement par l'appareil de séquençage. Les courbes de fluorescence sont mises en correspondance avec les nucléotides incorporés, ce qui génère un fluorogramme et un fichier texte. Ces données sont ensuite traitées par un logiciel pour traduire les courbes en une séquence d'ADN, tout en fournissant des probabilités d'erreur pour chaque appel de base.

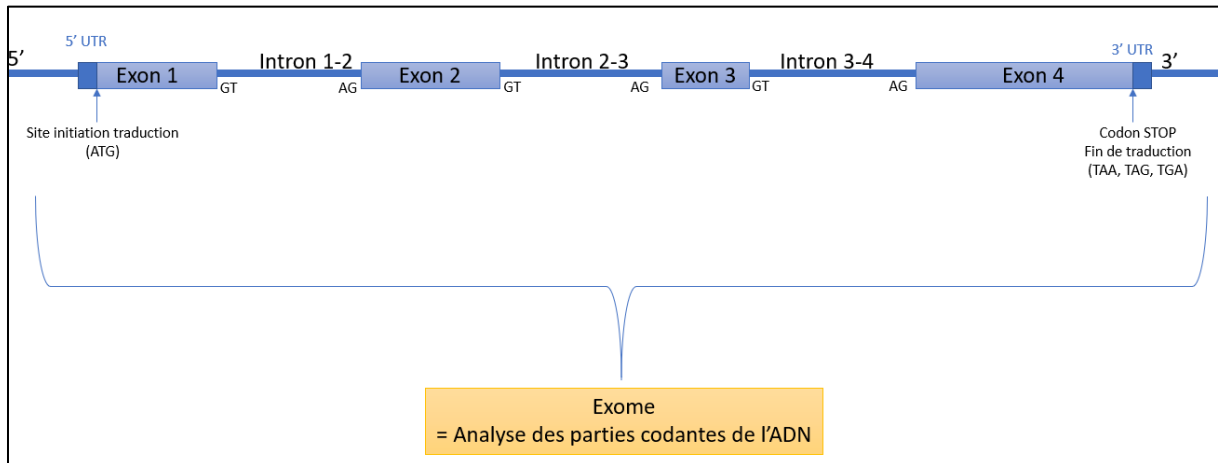
Cette technique est actuellement utilisée pour confirmer la présence d'un variant pathogène (2ème détermination) ou pour l'étude de ségrégation familiale.

## C. Séquençage nouvelle génération ou séquençage à haut débit (NGS)

### 1. Exome

La NGS est employée pour le séquençage d'exome.

L'exome englobe la section du génome humain constituée par l'ensemble des exons, qui sont les régions fonctionnelles de l'ADN portant les séquences codantes pour la synthèse des protéines (**Figure 11**).



**Figure 11. Schématisation des régions codantes (exons) de l'ADN, des introns et des sites de début et de fin de traduction.**

Ces exons, bien que ne constituant qu'une petite fraction du génome total (environ 60 Mb soit 2 %), renferment les variations génétiques ayant un potentiel d'impact significatif sur la physiologie et la santé. L'analyse de l'exome permet ainsi une exploration ciblée des zones génomiques pertinentes, en particulier pour l'identification des variants génétiques sous-tendant des pathologies. Cette technique se manifeste comme extrêmement performante pour élucider les fondements génétiques des conditions médicales, et elle constituera le fondement de cette thèse pour résoudre les pathologies de patients spécifiques.

## 2. Méthodes

Le séquençage par NGS implique quatre étapes successives que nous allons détailler : l'enrichissement par hybridation ou par PCR, le séquençage (Illumina), et l'analyse bioinformatique.

Cette technique est particulièrement employée pour l'étude de l'exome, que nous avons utilisée dans nos travaux. L'exome du sujet proband a été séquençé en utilisant le kit Core Exome humain de Twist Bioscience, et le séquençage a été effectué sur le système NovaSeq6000 d'Illumina. Les lectures obtenues ont été alignées sur la séquence de référence du génome humain (GRCh38).

Pour des raisons de clarté, nous aborderons brièvement la technique et développerons ensuite les méthodes d'interprétation basées sur les critères de l' American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)<sup>180</sup>.

La NGS repose sur un séquençage par synthèse, utilisant des nucléotides terminaux réversibles, chacun étant doté d'un marqueur fluorescent distinct, intégré par une ADN polymérase.

Le processus débute avec la création d'une **librairie** renfermant de l'ADN fragmenté, lié à des adaptateurs. Cette étape exige un protocole **d'indexation** où chaque échantillon subit une fragmentation de son ADN, suivie de l'incorporation de séquences spécifiques nommées "index".

Une fois achevée la fabrication de la librairie d'ADN, les fragments sont dénaturés puis fixés à un support solide par une extrémité. Ceci engendre la formation de structures en pont grâce à des adaptateurs complémentaires, établis à la surface du support. Préalablement à cela, une phase **d'hybridation** par capture est effectuée, rassemblant et capturant les

différents échantillons grâce à des sondes marquées. Cette étape comporte des rinçages ainsi qu'une **amplification** afin d'assurer une hybridation avec des oligonucléotides marqués, suivis d'un dernier rinçage. Une réaction par **PCR** est ensuite menée avec les adaptateurs comme amorces, amplifiant les signaux lumineux nécessaires pour la détection précise des bases ajoutées. Ce processus génère des clusters d'ADN à brins simples sur la surface.

La troisième phase consiste en un **séquençage**, exécuté après hybridation et amplification, dans le séquenceur. Pendant cette étape, lors de la synthèse d'ADN et du séquençage, un mélange réactionnel contenant des amorces, des nucléotides terminaux réversibles marqués et une ADN polymérase est réparti sur la surface. La détection de l'incorporation de chaque nucléotide est réalisée grâce à leurs fluorophores respectifs, capturée par une caméra. Après incorporation, le groupe terminateur et le fluorophore sont retirés, et le cycle de synthèse est répété.

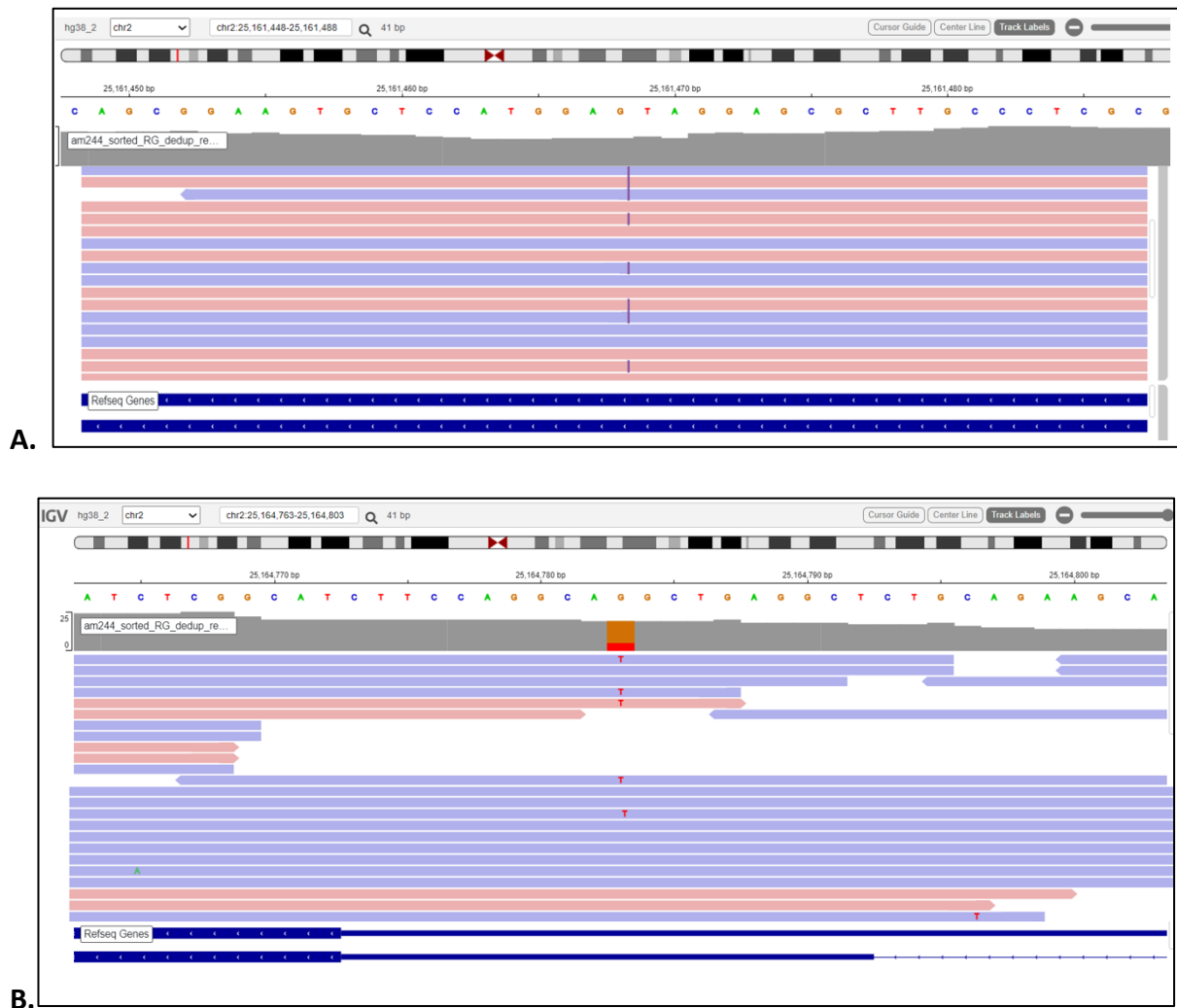
Enfin, la dernière étape consiste en **l'analyse**, englobant la création d'un fichier au format Fastq et le chargement des données pour générer un fichier final sous format VCF interprétable par un biologiste moléculaire. *Dans certains centres, cette dernière phase est parfois complétée par le transfert des données vers SeqOne, facilitant ainsi l'interprétation pour les biologistes. À Lille, la plateforme SeqOne n'est pas utilisée.*

### 3. Interprétation

Après l'analyse bioinformatique, nous procédons à l'examen du fichier variant call format (VCF) résultant. Dans notre laboratoire, nous appliquons les critères ACMG<sup>180</sup> pour classer les multiples variants découlant des panels employés, basée sur les données exomiques. Nous entreprenons ensuite une analyse et un filtrage de ces variants, en excluant certains lors de la première étape.



Les variants que nous conservons présentent une qualité supérieure à 50. Lorsque la qualité oscille entre 50 et 150 et que le variant est observable dans le fichier CRAM/ CRAI au sein de l'outil IGV (**Figure 12**), une confirmation par la méthode de Sanger s'avère nécessaire pour valider le variant.



**Figure 12. Visualisation de deux fichiers extraits d'IGV pour le diagnostic d'un patient (abordé dans l'Article « Heterozygous pathogenic variants in *POMC* are not responsible for monogenic obesity »: Implication for MC4R agonist use) : détection de deux variants hétérozygotes composites dans *POMC* (A. c416dup/p.Tyr139Ter ; B. c-11C>A).**

Par ailleurs, nous retenons pour les maladies métaboliques monogéniques les variants homozygotes dans le contexte d'une transmission récessive, sous condition que leur fréquence soit inférieure à 5/1000 sur GnomAD, et à 1/1000 pour les variants hétérozygotes impliqués dans une transmission dominante. Nos analyses s'appuient également sur les fréquences tirées de notre base de données interne, en imposant une limite inférieure de 50 individus pour les hétérozygotes et de 200 pour les homozygotes.

La phase suivante consiste en l'interprétation des variants conservés, reposant sur les critères de validation ACMG<sup>180</sup>. Nous avons choisi de détailler les critères de pathogénicité employés lors de l'interprétation d'exome. Pour classier les variants, nous nous appuyons sur les données extraites de Human Gene Mutation Database (HGMD), une base de données exhaustive recensant les variants répertoriés dans la littérature scientifique, avec leurs classifications, phénotypes associés, et les références bibliographiques correspondantes. L'interprétation implique une analyse approfondie du locus du variant et des articles le citant, ou mentionnant un variant proche pathogène, en vue d'établir sa pathogénicité ou non, en se basant sur les critères de l'ACMG.

Nous avons choisi ici de détailler les critères de pathogénicité employés lors de l'interprétation d'exome (critères de l'ACMG).

Le critère **PVS1** est validé en présence d'une mutation non-sens (codon STOP introduit), d'un décalage du cadre de lecture (frameshift) au niveau protéique, d'une variation touchant un site d'épissage consensus (à  $\pm 1$  ou 2 pb en amont ou en aval d'un exon), ou encore d'une mutation affectant un codon d'initiation. Lorsqu'une mutation a déjà été répertoriée comme pathogène dans la base de données HGMD et décrite par plusieurs auteurs, le critère **PS1** est validé. Si la mutation est de novo, le critère **PS2** est confirmé. Pour le critère **PS3**, la validation repose sur la preuve de sa pathogénicité fonctionnelle.

Si nous nous trouvons dans une zone hotspot avec un variant pathogène situé à environ un acide aminé (jusqu'à 5 acides aminés si le locus est fonctionnel), le critère **PM1** est confirmé. Le critère **PM2** est validé si la mutation est absente de la base de données GnomAD ou présente à une fréquence faible (comptage d'allèles pour les hétérozygotes  $\leq 10$  et pour les homozygotes  $\leq 1$ ). Lorsqu'un changement de longueur de protéine résultant de délétions ou d'insertions conserve le cadre de lecture dans une région de séquence non répétée (selon Alamut), ou entraîne la perte d'un codon STOP, le critère **PM4** est validé. Pour le critère **PM5**, la validation survient en cas de changement connu d'acide aminé au même locus, déjà décrit comme pathogène. Le critère **PP1** est validé si une coségrégation familiale est observée. Si le gène est peu muté dans la population selon GnomAD (z-score  $\geq 1.85$ ), le critère **PP2** est confirmé. La confirmation du critère **PP3** dépend d'une validation in silico de la pathogénicité notamment par un score Revel  $\geq 0.5$ . Lorsque la maladie présentée par le patient concorde avec le gène impliqué, le critère **PP4** est validé. Enfin, le critère **PP5** est confirmé si la pathogénicité du variant est rapportée par certains auteurs et répertoriée dans HGMD, avec des preuves insuffisantes pour le classer en tant que PS1.

Pour l'ensemble de ces critères, nous faisons appel à l'outil Alamut (**Figure 13**), qui nous permet de situer le variant (qu'il soit dans une région fonctionnelle ou non) et de prédire, si nécessaire, son impact sur l'épissage.



**Figure 13.** Illustration d'Alamut présentant le variant c-11C>A dans *POMC*, localisé dans la région promotrice du gène, déjà identifié comme pathogène dans ClinVar.

Après avoir évalué ces critères en suivant les directives ACMG, nous sommes en mesure de classer ce variant en tant que pathogène, potentiellement pathogène, de signification inconnue ou bénin (**Tableau 12**).

Pathogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 1 Very strong (PVS1) <i>AND</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) <math>\geq 1</math> Strong (PS1–PS4) <i>OR</i></li> <li>(b) <math>\geq 2</math> Moderate (PM1–PM6) <i>OR</i></li> <li>(c) 1 Moderate (PM1–PM6) and 1 supporting (PP1–PP5) <i>OR</i></li> <li>(d) <math>\geq 2</math> Supporting (PP1–PP5)</li> </ul> </li> <li>(ii) <math>\geq 2</math> Strong (PS1–PS4) <i>OR</i></li> <li>(iii) 1 Strong (PS1–PS4) <i>AND</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) <math>\geq 3</math> Moderate (PM1–PM6) <i>OR</i></li> <li>(b) 2 Moderate (PM1–PM6) <i>AND</i> <math>\geq 2</math> Supporting (PP1–PP5) <i>OR</i></li> <li>(c) 1 Moderate (PM1–PM6) <i>AND</i> <math>\geq 4</math> supporting (PP1–PP5)</li> </ul> </li> </ul>
Likely pathogenic	<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 1 Very strong (PVS1) <i>AND</i> 1 moderate (PM1–PM6) <i>OR</i></li> <li>(ii) 1 Strong (PS1–PS4) <i>AND</i> 1–2 moderate (PM1–PM6) <i>OR</i></li> <li>(iii) 1 Strong (PS1–PS4) <i>AND</i> <math>\geq 2</math> supporting (PP1–PP5) <i>OR</i></li> <li>(iv) <math>\geq 3</math> Moderate (PM1–PM6) <i>OR</i></li> <li>(v) 2 Moderate (PM1–PM6) <i>AND</i> <math>\geq 2</math> supporting (PP1–PP5) <i>OR</i></li> <li>(vi) 1 Moderate (PM1–PM6) <i>AND</i> <math>\geq 4</math> supporting (PP1–PP5)</li> </ul>
Benign	<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 1 Stand-alone (BA1) <i>OR</i></li> <li>(ii) <math>\geq 2</math> Strong (BS1–BS4)</li> </ul>
Likely benign	<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 1 Strong (BS1–BS4) and 1 supporting (BP1–BP7) <i>OR</i></li> <li>(ii) <math>\geq 2</math> Supporting (BP1–BP7)</li> </ul>
Uncertain significance	<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) Other criteria shown above are not met <i>OR</i></li> <li>(ii) the criteria for benign and pathogenic are contradictory</li> </ul>

**Tableau 12. Critères de classification des variants issus du séquençage : pathogène, possiblement pathogène, bénin, possiblement bénin, de signification inconnue<sup>180</sup>.**

Pendant mon travail, j'ai également utilisé d'autres **bases de données**, notamment la **UK Biobank**, qui représente un échantillon significatif de la population **générale**, comprenant 190 000 exomes. Une base de données similaire est celle de la cohorte Rare variants involved in Diabetes and Obesity (**RaDiO**). Ces vastes ensembles de données offrent la possibilité d'explorer la contribution d'un gène à un phénotype spécifique au sein d'une population générale, éliminant ainsi les biais présents dans HGMD qui se concentre exclusivement sur les

cas malades. Toutefois, une limitation inhérente à ce type de base de données, telle que la UK Biobank, réside dans la collecte de données, parfois sujette à des imperfections lorsque certains critères dépendent partiellement des déclarations des patients ou en cas d'absence de description détaillée du phénotype. Il est crucial de souligner ce point, étant donné que l'observation clinique joue un rôle essentiel dans le diagnostic des pathologies génétiques, notamment syndromiques.

## VII. Objectifs

Afin de comprendre les mécanismes étiopathologiques de formes "atypiques" de diabète et d'obésité, pour lesquelles nous soupçonnons une origine génétique, nous avons entrepris une exploration approfondie en utilisant le séquençage complet de l'exome (Whole Exome Sequencing, WES) sur plusieurs patients, et sur leur famille, en nous concentrant sur les pathologies suivantes : diabète atypique, syndrome d'insulino-résistance, lipodystrophie partielle familiale et obésité précoce et sévère.

Mon projet de thèse implique l'analyse minutieuse de cas individuels après le séquençage d'exome, dans le but de fournir des diagnostics précis.

Mon objectif principal est d'appliquer la médecine de précision aux maladies métaboliques. En résumé, nous souhaitons utiliser ces informations génétiques de manière concrète et directe pour améliorer la prise en charge du patient et de sa famille.

## VIII. Présentations des articles

### A. Diabète

#### 1. Compound genetic etiology in a patient with a syndrome including diabetes, intellectual deficiency and distichiasis

**Lauriane Le Collen**<sup>1,2,3,4\*</sup>, Brigitte Delemer<sup>1,5\*</sup>, Marta Spodenkiewicz<sup>4</sup>, Pascale Cornillet Lefebvre<sup>6</sup>, Emmanuelle Durand<sup>2,3</sup>, Emmanuel Vaillant<sup>2,3</sup>, Alaa Badreddine<sup>2,3</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>2,3</sup>, Tarik Ait Mouhoub<sup>4</sup>, Guillaume Jouret<sup>4,7</sup>, Pauline Juttet<sup>8</sup>, Pierre François Souchon<sup>9</sup>, Martine Vaxillaire<sup>2,3</sup>, Philippe Froguel<sup>2,3\*</sup>, Amélie Bonnefond<sup>2,3\*\*†</sup> and Martine Doco Fenzy<sup>4,10\*\*†</sup>

†Contribution équivalente de ces deux auteurs.

#### ***Article en annexe***

Cet article a permis de décrire un cas complexe associant un diabète atypique à un syndrome polymalformatif. Grâce à cette étude, nous avons pu élucider les mécanismes physiopathologiques sous-jacents et ainsi adapter la thérapie du patient de manière ciblée.

Le syndrome de Wolfram est plus facilement identifié lorsqu'il est associé à des mutations homozygotes provoquant des diabètes syndromiques précoces. Cependant, sa forme hétérozygote transmise selon un mode dominant est moins familière aux cliniciens.

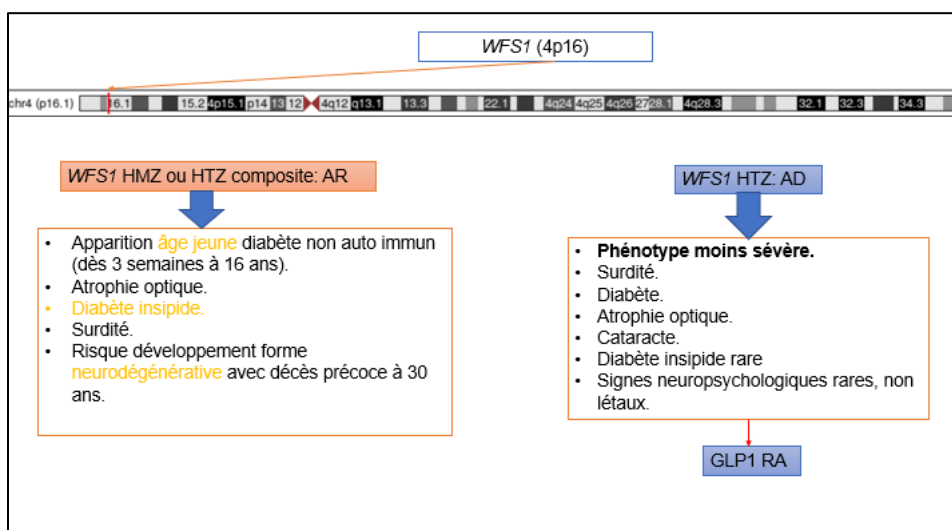
Pendant de nombreuses années, le diabète de cette patiente a été catégorisé comme de type 1, malgré l'absence d'anticorps lors du dépistage, en raison de l'âge de début, sans tenir compte du phénotype global. En effet, elle présentait également d'autres caractéristiques particulières, telles qu'un distichiasis (double rangée de cils), une obésité précoce ainsi qu'un syndrome polymalformatif et une déficience intellectuelle. Les premières investigations génétiques n'ont pas permis de parvenir à une conclusion, si ce n'est la découverte d'une délétion de novo au niveau du locus 16q24.2. Bien que cette délétion semblait expliquer sa déficience intellectuelle, elle ne pouvait rendre compte des autres



caractéristiques cliniques observées. Ce n'est qu'à l'âge adulte que, en rassemblant l'ensemble de ces caractéristiques, nous avons réalisé un séquençage d'exome qui a permis de faire des avancées significatives concernant ces étiologies.

Concernant son diabète, également observé chez son père, nous avons identifié un variant hétérozygote dans le gène *WFS1* transmis par son père. *WFS1* est impliqué dans la survenue d'un diabète causé par des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites (syndrome de Wolfram), ainsi qu'en cas d'hétérozygotie (Wolfram-like disorder).

Le syndrome de **Wolfram** (OMIM # 222300) est lié à un déficit bi-allélique du gène *WFS1*, situé sur le chromosome 4p16<sup>18</sup>. Ce gène code pour la wolframine, une glycoprotéine transmembranaire de 100 kDa localisée dans les granules sécrétoires et le réticulum endoplasmique (RE)<sup>18</sup>. *WFS1* joue un rôle crucial dans la voie de signalisation favorisant l'homéostasie du RE et le fonctionnement normal des cellules  $\beta$  du pancréas<sup>181</sup> Son ARNm est particulièrement abondamment exprimé dans les cellules  $\beta$ <sup>181</sup>.



**Figure 14. Phénotype des porteurs hétérozygotes/homozygotes de variants pathogènes dans *WFS1*<sup>182–186</sup>.**

La flèche rouge indique la localisation du gène (University of California, Santa Cruz, UCSC).

**HMZ, Homozygotes ; HTZ, Hétérozygotes, AR, Autosomique Récessif ; AD, Autosomique Dominant ; GLP1 RA, analogue du récepteur au GLP1.**

Le syndrome de Wolfram de type 1 se distingue par un diabète d'apparition juvénile (diabète non auto-immun), une atrophie optique, un diabète insipide et une surdité (DIDMOAD) selon un mode de transmission autosomique récessif (#222300) (**Figure 14**). Le déficit en WFS1 entraîne une sensibilité accrue au stress du réticulum endoplasmique (RE) des cellules  $\beta$  pancréatiques, conduisant à la perte de leur masse<sup>187,188</sup>.

Le syndrome de type **Wolfram-like disorder** (lié aux variants hétérozygotes) est associé à des phénotypes moins graves, pouvant éventuellement entraîner un diabète isolé chez l'adulte (OMIM #614296)<sup>183</sup>.

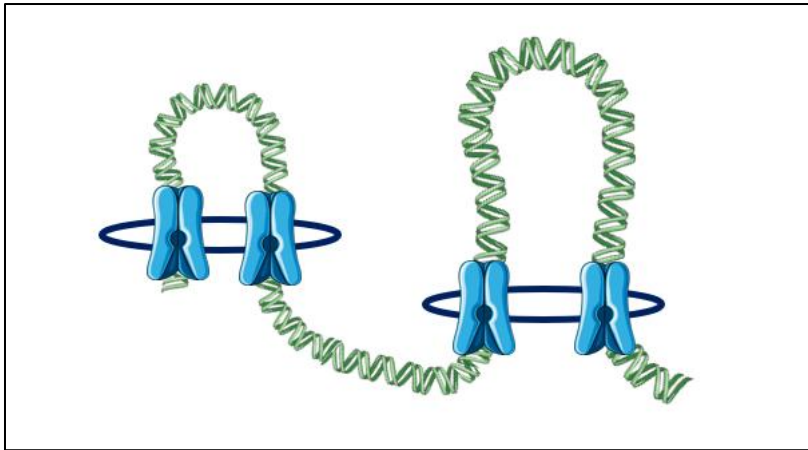
Une revue récente<sup>189</sup> a entrepris une réévaluation du phénotype des individus porteurs hétérozygotes. Dans cette revue récente, les porteurs hétérozygotes avec des manifestations cliniques isolées ont été exclus. Le phénotype le plus fréquent était l'association d'une atrophie optique (87 %) et d'une surdité (94 %)<sup>189</sup>. Le diabète sucré a été détecté chez 44 % des patients, tandis que 19 % ont développé une cataracte<sup>189</sup>. Majoritairement, l'initiation du syndrome se caractérise par une surdité, survenue au cours de la première décennie de vie, suivie d'un diabète quelques années plus tard<sup>189</sup>. L'atrophie optique apparaît généralement durant la deuxième décennie de vie. Le diabète insipide, a été identifié chez seulement 6 des 86 patients (7 %) (âge médian de 11 ans)<sup>189</sup>. Les patients porteurs de mutations faux-sens présentaient des manifestations cliniques moins prononcées, une probabilité réduite de développer un diabète insipide, mais une survenue précoce de la perte auditive comparativement aux patients présentant des mutations non-sens ou des délétions entraînant un décalage de phase<sup>189</sup>.

En ce qui concerne le traitement de ce diabète syndromique, l'utilisation de certaines thérapies comme les **agonistes du récepteur au GLP1** pourrait offrir une perspective prometteuse pour la régulation de la glycémie chez les patients hétérozygotes<sup>182</sup> (**Figure 14**). Avec une vue d'ensemble de ces informations, nous avons adapté son traitement en utilisant un agoniste GLP1, ce qui a conduit à une pause temporaire de son insulinothérapie. Nous avons choisi cette stratégie thérapeutique en raison de la prise pondérale et du déséquilibre glycémique, une décision soutenue par les résultats de l'analyse génétique. Toutefois, en l'absence de ces résultats, l'initiation de l'analogue du GLP1 n'aurait pas pu être envisagée auparavant puisque considéré comme un DT1. L'analyse génétique a renforcé notre choix thérapeutique en offrant une compréhension approfondie de son efficacité. De plus, grâce à l'analyse génétique, une surveillance attentive liée à l'apparition potentielle d'autres complications a été rendue possible, soulignant davantage les avantages de la médecine de précision au bénéfice du patient.

Ce cas a également fourni une opportunité pour une analyse minutieuse de l'impact potentiel de sa délétion sur la conformation chromatinienne et sa régulation

Dans le noyau cellulaire des mammifères, la structure 3D des chromosomes se manifeste à différentes échelles<sup>190</sup>. Les territoires chromosomiques distincts sont observés à grande échelle par microscopie, tandis qu'à une échelle plus fine, le test Hi-C, combinant la Capture de Conformation Chromosomique et le séquençage génomique, révèle des niveaux organisationnels additionnels. Ces niveaux incluent la séparation en compartiments chromosomiques, caractérisés par des interactions préférentielles et des contacts intradomaine accentués au sein des domaines d'association topologique (TAD). Au niveau le plus détaillé de l'organisation tridimensionnelle du génome, l'ADN se structure en boucles distinctes, comme celles observées lors des interactions entre les régions enhancer-

promoteur et promoteur-promoteur<sup>191</sup>. Ces interactions physiques entre les régions peuvent être distantes de plusieurs mégabases les unes des autres et ont tendance à se produire au sein de régions génomiques appelées **domaines d'association topologique** (TAD)<sup>191</sup>. Un TAD désigne une région génomique auto-interagissante où les séquences d'ADN interagissent entre elles plus fréquemment qu'avec les séquences extérieures<sup>191-194</sup>. La conservation des TAD entre divers types cellulaires et espèces suggère leur rôle structurant dans l'organisation chromosomique. Après la découverte des TAD, il a été observé que les enhanceurs et promoteurs tendent à se localiser préférentiellement dans des domaines isolés, suggérant que les TAD pourraient créer des "zones régulatrices voisines" restreignant les boucles enhanceur-promoteur entre TAD adjacents. Cette idée est étayée par la présence de la protéine CCCTC-binding factor (CTCF) aux limites des TAD, connue pour bloquer les enhanceurs. Des études ont révélé que l'activation de gènes ectopiques et la fusion de TAD voisins nécessitent la suppression de sites de liaison CTCF dispersés sur de vastes intervalles génomiques, soulignant l'importance des sites de liaison CTCF spécifiques aux types cellulaires pour les limites des TAD. Des simulations polymères ont réussi à reproduire la structure des TADs dans les matrices Hi-C et ont mis en évidence que le complexe Cohésine joue un rôle essentiel dans la formation des TADs en procédant à une extrusion active de boucles d'ADN. L'extrusion engendre la formation d'une boucle croissante qui condense le chromosome jusqu'à ce que deux scénarios se présentent. Soit une entrave est rencontrée, interrompant l'extrusion d'un côté tout en autorisant sa poursuite de l'autre côté, soit la Cohésine se dissocie du chromosome, entraînant la dissolution de la boucle (**Figure 15**).



**Figure 15. Représentation simplifiée de deux TADs.**

**L'ADN est symbolisé par le brin vert, les protéines CTCF sont représentées par les protéines bleu clair, les cohésines sont figurées par les cercles bleu foncé.**

Au total, les TADs, auparavant considérés comme des domaines isolés, sont désormais reconnus comme des ensembles dynamiques de boucles en cours d'extrusion active. Les limites des TAD, délimitées par la protéine CTCF, créent des "quartiers de régulation" favorisant les interactions intra-domaines. L'importance de la liaison CTCF aux frontières des TAD pour prévenir l'activation inappropriée d'un gène par un amplificateur dans un TAD voisin a été confirmée à plusieurs locus<sup>195,196</sup>. Des découvertes récentes ont démontré que la configuration des TAD chez les mammifères peut découler de ce mécanisme dynamique, et que les limites des TAD pourraient également remplir des rôles de régulation<sup>190</sup>. Ainsi, le rôle des TADs a également été mis en lumière dans l'hyperinsulinisme congénital<sup>197</sup>. Dans certains cas, une région minimale de 2,4 Mb adjacente à *FOXA2* (un gène impliqué dans l'hyperinsulinisme) a été observée, englobant plusieurs éléments régulateurs non codants en contact conformationnel avec *FOXA2*<sup>197</sup>. Ces données suggèrent que les délétions chez ces patients pourraient déclencher cette pathologie en perturbant l'expression de *FOXA2*<sup>197</sup>.

Grâce à des outils de prédiction, nous avons pu élucider que le gène **FOXC2** (\*602402), distant de la délétion, associé au syndrome lymphœdème-distichiasis, pourrait influencer son phénotype. En particulier, la présence d'une seconde rangée de cils (distichiasis) ainsi que son histoire pondérale, suggérant la présence d'un lymphœdème, ont conduit à envisager la possibilité d'un syndrome lymphœdème-distichiasis résultant d'une altération de la régulation de **FOXC2**.

Par conséquent, il est plausible que cette délétion affecte la zone régulatrice impliquée dans les domaines d'association topologique associé à **FOXC2**<sup>190</sup>. À ce jour, la confirmation de cette hypothèse demeure en suspens, mais plusieurs approches fonctionnelles pourraient être envisagées pour explorer et répondre à cette question. Afin de simuler la délétion et évaluer son impact, une approche **fonctionnelle** pourrait consister à utiliser la méthode CRISPR/Cas9, qui repose sur l'utilisation d'une protéine Cas9 guidée par ARN pour cibler spécifiquement une séquence génétique et provoquer une délétion précise<sup>198,199</sup> chez la souris, et évaluer ses répercussions. L'exploration moléculaire de l'expression génique dans le domaine topologique d'association pourrait être effectuée par le biais du séquençage d'ARN (RNAseq). Cette technique, en quantifiant et séquençant les ARN, offrirait des données précises sur les niveaux d'expression des gènes, permettant ainsi d'évaluer l'impact de la délétion sur le TAD.

*Cette situation a fourni une opportunité exceptionnelle pour mettre en évidence les avantages inhérents à l'exploration de diverses méthodes génétiques et à l'ajustement thérapeutique en fonction des découvertes, en tirant parti de la base littéraire. À travers cette étude de cas, nous mettons en lumière les défis associés à la classification précise d'un diabète survenant durant l'enfance, qui se démarque clairement du diabète de type 1. Cela souligne l'importance cruciale de la remise en question, de la réflexion approfondie et de l'examen*

*minutieux de la littérature contemporaine en vue d'intégrer les données et élucider les mystères d'un cas longtemps demeuré énigmatique en matière de diagnostic.*

## 2. Dominant *PDX1* deficiency causes highly penetrant diabetes at different ages, associated with obesity and exocrine pancreatic deficiency: lessons for precision medicine

Youssef Kouidrat<sup>1\*</sup>, **Lauriane Le Collen**<sup>\*2,3,4</sup>, Martine Vaxillaire<sup>2,5</sup>, Aurélie Dechaume<sup>2,5</sup>, Bénédicte Toussaint<sup>2,5</sup>, Emmanuel Vaillant<sup>2,5</sup>, Souhila Amanzougarene<sup>2,5</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>2,5</sup>, Brigitte Delemer<sup>3</sup>, Mustapha Azahaf<sup>7</sup>, Philippe Froguel<sup>2,5,6</sup> and Amélie Bonnefond<sup>2,5,6</sup>

\*Co-first authors

### ***Article en annexe***

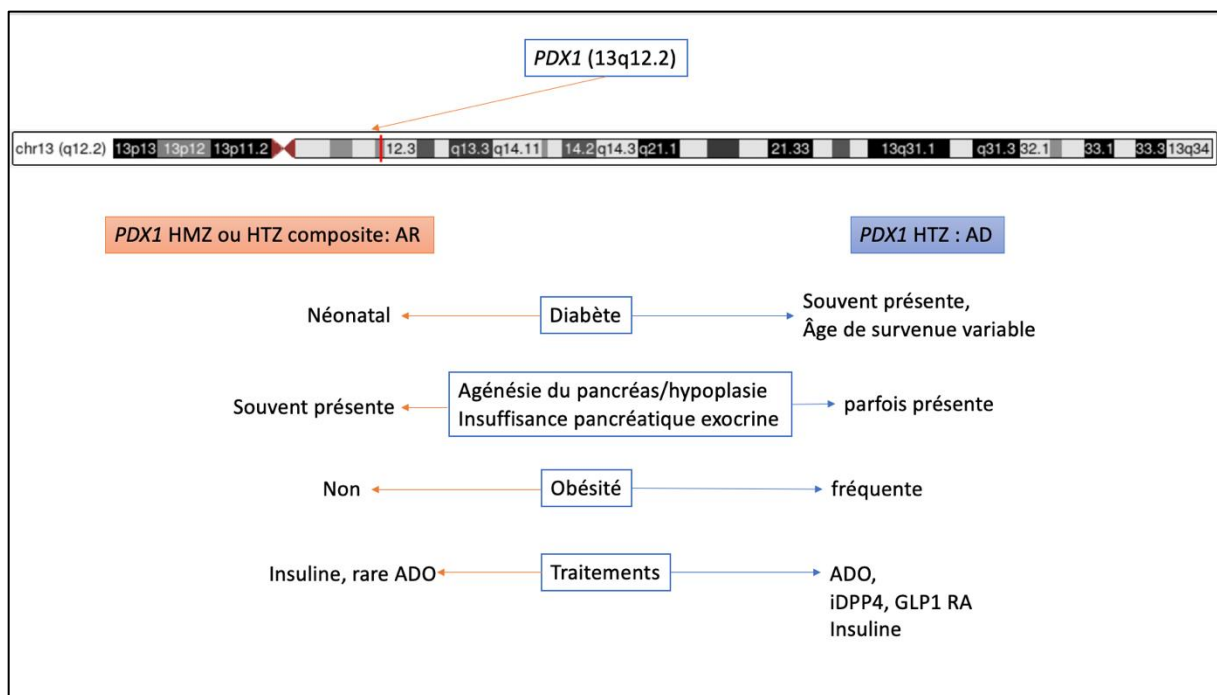
*PDX1* (Pancreatic and duodenal homeobox 1), responsable du diabète monogénique de type MODY 4, a constitué la pierre angulaire de cette étude. Il exerce un rôle crucial dans le développement et la fonction du pancréas, tant au niveau exocrine qu'endocrine<sup>200–202</sup>.

Notre approche avait pour objectif d'approfondir l'exploration du phénotype chez les porteurs hétérozygotes de variants pathogènes, initiée par une analyse familiale. Pour renforcer notre approche, nous avons complété nos données par des investigations détaillées provenant de sources telles que Human Gene Mutation Database (HGMD), et l'étude de cohorte RaDiO. Cette grande cohorte a été choisie pour examiner l'impact de variants pathogènes dans *PDX1*. Dans l'optique d'une évaluation plus précise des effets des variants pathogènes dans *PDX1* sur le risque de diabète, nous avons également fait appel à Type 2 Diabetes Knowledge Portal (T2D Portal, <https://t2d.hugeamp.org/>). Ce dernier est un outil accessible à tous, permettant d'analyser statistiquement les associations entre des caractéristiques spécifiques (telles que l'IMC, le diabète, le glucose à jeun) en relation avec un gène donné.

Dans un premier temps, nous avons comparé les phénotypes des porteurs homozygotes et hétérozygotes au sein de HGMD. Nos résultats ont mis en évidence, de



manière similaire à ce que nous avons observé avec *WFS1*, une expression moins sévère du phénotype chez les porteurs hétérozygotes (résultats non publiés). Les variants bi-alléliques de *PDX1* entraînent une diminution de la masse des cellules  $\beta$ , provoquant un diabète néonatal ainsi qu'une agénésie ou une hypoplasie du pancréas, accompagnées d'une insuffisance pancréatique exocrine<sup>201-210</sup>(Figure 16).



**Figure 16. Phénotype des individus porteurs de variants pathogènes hétérozygotes/homozygotes dans *PDX1*.**

La localisation du gène est signalée par une flèche rouge (UCSC).

**HMZ, Homozygotes ; HTZ, Hétérozygotes, AR, Autosomique Récessif ; AD, Autosomique Dominant ; ADO, Antidiabétiques oraux ; iDPP4, inhibiteurs de dipeptidyl peptidase-4 ; GLP1 RA, analogue du récepteur au GLP1.**

Ensuite, nous avons concentré notre attention exclusivement sur les porteurs hétérozygotes de *PDX1*. Les variants hétérozygotes semblent être associés à un diabète

d'apparition variable, à une obésité et à une insuffisance pancréatique<sup>23,202,204,205,209,211–217</sup> (**Figure 16**). Au sein de cette famille, quatre individus étaient porteurs d'un variant pathogène hétérozygote (NM\_000209.4:c.694G>A p.Gly232Ser) dans *PDX1*. Chacun d'entre eux présentait soit du **diabète**, soit une intolérance au glucose, survenue à des moments différents de leur vie (entre 10 et 40 ans). Ceci pourrait conduire à penser à une pénétrance complète du diabète contrairement à ce qui avait pu être auparavant décrit dans la littérature<sup>71,202,204(p4),205,208,209,213–217</sup>. Cette hyperglycémie était parfois gérée efficacement par des approches hygiéno-diététiques exclusives ou en combinaison avec des agents antidiabétiques oraux (Metformine, Sitagliptine, Glinides) ou encore par analogue du GLP1. De plus, il était également remarquable que l'obésité débute dès l'enfance (parfois dès l'âge de 7 ans) chez ces patients. En cohérence avec cette **obésité** précoce chez les porteurs hétérozygotes de la mutation faux-sens au sein de la famille, il a été récemment mis en évidence que les mutations faux-sens étaient plus fréquemment associées à l'obésité que les variants non -sens<sup>218</sup>. Les auteurs postulent que le surpoids ou l'obésité pourrait être un facteur déclencheur du développement du diabète chez les individus porteurs de variants faux-sens, en opposition à ceux porteurs de variants non-sens<sup>218</sup>. Pour répondre à cette question, une approche possible serait de mener une étude **fonctionnelle** sur un modèle murin knockout, suivi de l'exploration de la physiopathologie des incrétines.

Un autre élément digne d'attention était la modalité de découverte du diabète chez certains porteurs, caractérisée par des épisodes **d'hypoglycémies**, une méthode de révélation relativement inhabituelle. Il est probable que les variants de gain de fonction de *PDX1* puissent initialement entraîner une hyperinsulinémie avant de conduire au développement du diabète. Pour confirmer ces hypothèses, des études supplémentaires, notamment de nature fonctionnelle, seront nécessaires. De plus, il est plausible qu'une libération anormale

d'insuline, liée à la mutation dans *PDX1*, puisse être à l'origine de ces épisodes d'hypoglycémie<sup>206</sup>. L'altération de sa fonction de facteur de transcription au sein des cellules  $\beta$  pourrait induire une **dysrégulation des gènes** impliqués dans le métabolisme, et donc, une sécrétion altérée de l'insuline<sup>219</sup>.

La dernière manifestation identifiée chez les porteurs hétérozygotes du variant faux-sens familial était la présence d'une **agénésie de la queue du pancréas**, observée chez tous les porteurs, avec élastase basse pour un des quatre porteurs. Ce dernier a développé une pancréatite à un âge extrêmement précoce. Nous avons identifié dans la base de données HGMD 63% des patients hétérozygotes pour des variants nuls (non sens, décalage de cadre de lecture, sites d'épissage canoniques), bien documentés sur le plan pancréatique, présentant des cas d'insuffisance exocrine et/ou d'agénésie du pancréas. Nous rapportons le premier variant pathogène faux sens situé dans *PDX1* provoquant une pénétrance complète de l'agénésie caudale du pancréas dans la famille décrite. Il apparaît ainsi que la surveillance de cet organe demeure nécessaire, même en cas d'hétérozygotie.

Nous avons également exploré les **options thérapeutiques** visant à améliorer le contrôle glycémique des individus présentant une persistance du déséquilibre glycémique. Le traitement le plus fréquent pour les formes homozygotes reste l'insuline, tandis que l'équilibre glycémique peut parfois être atteint chez les porteurs hétérozygotes à l'aide d'antidiabétiques oraux (sulfamides hypoglycémifiants, metformine ou inhibiteurs de la DPP4). Dans de rares cas, certains porteurs hétérozygotes peuvent également gérer leur équilibre glycémique grâce à des mesures hygiéno-diététiques<sup>201,204,206,212,213,220,221</sup>. L'efficacité des incrétinomimétiques (inhibiteurs de DPP4) a été confirmée dans deux études récentes<sup>212,222</sup>.

Guidés par les données exhaustives recueillies et prenant en considération la persistance du déséquilibre glycémique, la survenue d'épisodes hypoglycémiques et la

présence d'obésité chez le sujet index, nous avons entrepris la mise en œuvre d'une médecine de précision basée sur l'utilisation d'un **agoniste du récepteur GLP-1**. Cette thérapie s'est avérée remarquablement efficace, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour la prise en charge des patients diabétiques porteurs hétérozygotes de variants touchant le gène *PDX1*.

*Ce nouveau travail a permis d'utiliser l'ensemble des bases de données actuelles pour étudier l'impact de variant hétérozygote pathogène dans un gène impliqué dans une forme de diabète monogénique (MODY4). Au moyen d'une analyse familiale approfondie et d'une revue exhaustive de la littérature scientifique, nous avons non seulement établi une pénétrance complète du diabète au sein de cette famille, mais avons également corroboré la nécessité d'un suivi pancréatique en raison de la prévalence significative de l'insuffisance pancréatique chez les porteurs hétérozygotes. De plus, ce travail a rendu possible l'utilisation du génotype de nos patients pour optimiser leurs approches thérapeutiques et leur suivi médical. Cet exemple illustre une fois de plus la médecine de précision dans son application concrète.*

## B. Obésité

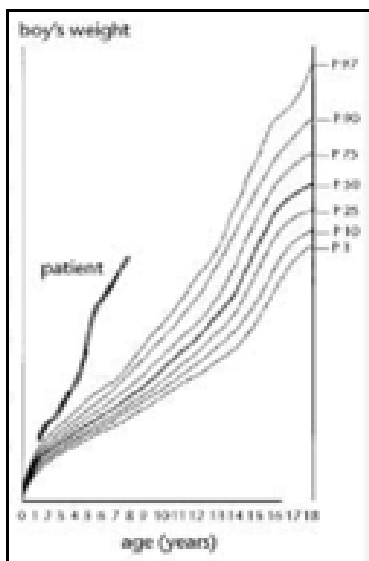
### 1. Hétérozygous pathogenic variants in *POMC* are not responsible for monogenic obesity: Implication for MC4R agonist use

Lauriane Le Collen<sup>1</sup>, Brigitte Delemer<sup>2</sup>, Christine Poitou<sup>3</sup>, Martine Vaxillaire<sup>4</sup>, Bénédicte Toussaint<sup>4</sup>, Aurélie Dechaume<sup>4</sup>, Alaa Badreddine<sup>4</sup>, Mathilde Boissel<sup>4</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>4</sup>, Karine Clément<sup>3</sup>, Jean M Petit<sup>5</sup>, Frédéric Tran Mau-Them<sup>6</sup>, Ange-Line Bruel<sup>6</sup>, Christel Thauvin-Robinet<sup>7</sup>, Alexandru Saveanu<sup>8</sup>, Blandine Gatta Cherifi<sup>9</sup>, Johanne Le Beyec-Le Bihan<sup>10</sup>, Philippe Froguel<sup>11</sup>, Amélie Bonnefond<sup>12</sup>

#### **Article en annexe**

Cet article a donné l'occasion de remettre en question la responsabilité préalablement évoquée par certains chercheurs entre les variants hétérozygotes pathogènes de *POMC* et l'obésité<sup>223</sup>. Suite à la description clinique d'une patiente initialement diagnostiquée en tant que porteuse hétérozygote, mais présentant une obésité morbide précoce et un hypocortisolisme, des interrogations ont émergé quant à la plausibilité de sa simple hétérozygotie.

Le **déficit bi-allélique en POMC** a été initialement décrit par Krude en 1998 suite à l'observation d'enfants présentant un hypocortisolisme néonatal, des cheveux roux et une obésité précoce (**Figure 17**)<sup>114</sup>.



**Figure 17. Courbe pondérale d'un des deux premiers patients avec un déficit bi-allélique en POMC, publié par Krude en 1998<sup>114</sup>.**

**Patient présentant une obésité précoce et sévère, comme en témoigne sa courbe pondérale**

En l'absence de POMC, la voie mélanocortine-leptine est déficiente. Jusqu'à présent, cinq récepteurs de la mélanocortine ont été identifiés, assurant la transmission des signaux des hormones dérivées de la POMC. Pour rappel, POMC subit un clivage en plusieurs biopeptides : l' $\alpha$ -MSH, ligand majoritaire des récepteurs MC4R et MC1R, l'ACTH qui se lie à MC2R, l' $\gamma$ -MSH qui se lie à MC3R, l'endorphine  $\beta$  qui se fixe au récepteur opioïde  $\mu$ . L'insuffisance corticotrope résulte de l'absence de fixation à MC2R, due à l'absence d'ACTH. L'obésité est liée à une perte de l'inhibition de la prise alimentaire, conséquence de la non-fixation de l' $\alpha$ -MSH sur MC4R. L'hypopigmentation cutanée et les cheveux roux sont attribuables à l'absence de fixation de l' $\alpha$ -MSH sur MC1R.

Un traitement spécifique, sous la forme d'un **agoniste MC4R**, est maintenant disponible pour les cas de déficit biallélique associé à une obésité précoce, offrant la possibilité de rétablir l'équilibre de l'axe altéré <sup>159-161</sup> .

Dans le cas spécifique de la patiente en question, nous avons entrepris une analyse génétique approfondie afin de vérifier notre hypothèse initiale, c'est-à-dire la présence d'un second variant cryptique. Ce dernier avait échappé aux investigations génétiques antérieures en raison de sa localisation en amont du promoteur, à -11 pb. La complexité de détecter ce variant provient de sa position éloignée, qui échappe aux critères de validation ACMG. De manière surprenante, il est à noter que ce variant avait déjà été décrit dès 1998.

Grâce à la mise en évidence de son état d'hétérozygotie composite, elle a été en mesure de profiter de l'application de cette thérapie ciblée, engendrant ainsi un impact significatif sur sa qualité de vie. Je vous invite à découvrir le témoignage enrichissant de cette patiente pour prendre connaissance des améliorations apportées par ce traitement (**Figure 18**).

*Je vais bien, je suis encore en vrai travail d'acceptation de ma couleur de peau plus d'un an après mais j'avance. Ce changement-ci est quand même très particulier. En plus de cela, j'ai perdu 35 kilos... C'est donc un vrai bouleversement de l'identité qui prendra du temps pour être accepté. Je marche facilement, bouge facilement, monte les marches sans m'en rendre compte. Avant tout était calcul, je réfléchissais au chemin que je devais prendre pour moins être essoufflée. J'ai découvert le luxe de mettre des chaussures à ma taille et non deux tailles au dessus et la chance de trouver des vêtements qui me plaisent. Pour la première fois de ma vie, je m'autorise à regarder les vitrines, à dire non quand certains vêtements me vont mais ne me plaisent pas... Mais au delà de tout ça, la découverte de la satiété reste la plus belle découverte de ma vie...  
.....Ma maman..... est encore surprise aujourd'hui par mon changement et de voir que l'on marche désormais au même rythme....*

**Figure 18. Témoignage d'une patiente présentant une déficience en POMC, ayant bénéficié d'une thérapie ciblée par agoniste MC4R.**

**Par souci d'anonymat, les « ... » indiquent les parties du texte qui ont été supprimées.**

À la lumière de la description familiale montrant la ségrégation de trois variants pathogènes hétérozygotes, nous avons entrepris d'étudier la responsabilité entre l'état d'hétérozygotie et l'obésité. À l'aide des données issues de la UK Biobank et de Human Gene Mutation Database (HGMD), nous avons pu établir que l'hétérozygotie n'était pas responsable d'obésité d'origine monogénique.

Au moment de la rédaction de cet article, un essai clinique est en cours (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05093634) pour évaluer l'utilisation de l'agoniste MC4R chez les patients hétérozygotes porteurs d'une déficience en POMC associée à l'obésité. Nous serons en mesure d'examiner ces résultats sous un nouvel angle en identifiant les répondeurs qui, à l'instar de notre patiente, pourraient présenter un second variant cryptique.



À l'heure actuelle, demeure encore une énigme à résoudre au sein de cette lignée familiale : la présence d'un **panhypopituitarisme** observé chez les deux cousins. Ce tableau clinique ne correspond pas aux caractéristiques classiquement décrites dans la littérature médicale.

Des études récentes ont démontré l'existence d'autres **déficits hormonaux** chez les individus porteurs de variants hétérozygotes composites ou homozygotes<sup>114,223,224,224,225</sup>. Dans une future étude encore en rédaction, l'analyse des déficits hormonaux combinés sera approfondie. Des publications ont signalé des cas associant des déficits tels que l'hypocortisolisme, l'hypogonadisme, le déficit en hormone de croissance (GH) et l'hypothyroïdie, soulignant leur complexité<sup>114,223,224,224,225</sup>. Diverses hypothèses tentent d'éclairer le lien entre le déficit en *POMC* et les insuffisances hypophysaires.

L'absence de clivage du *POMC* entraîne systématiquement l'**hypocortisolisme** néonatal en raison de l'absence de liaison au récepteur MC2R.

L'**hypothyroïdie** centrale peut être présente dès la naissance ou apparaître au cours des premiers mois de vie<sup>225,226</sup>. Le métabolisme énergétique, régulé par les hormones thyroïdiennes, est influencé par la leptine produite par les adipocytes<sup>227</sup>, augmentant la production d' $\alpha$ -MSH par les neurones *POMC* et stimulant la sécrétion de TRH via une interaction directe avec le promoteur de la TRH<sup>228</sup>. Le manque d' $\alpha$ -MSH semble lié à l'hypothyroïdie centrale dans les déficits bialléliques en *POMC*.

La relation entre la mélanocortine et l'axe **somatotrope** nécessite encore des éclaircissements. Bien que certains patients atteints de déficit en *POMC* présentent une croissance accélérée<sup>225</sup>, les taux d'IGF1 pendant l'enfance demeurent généralement normaux<sup>224,225</sup>, mais un déficit en hormone de croissance peut survenir à la puberté<sup>229</sup>.

Le déficit **gonadotrope** est également complexe et pourrait impliquer des résistances à l'insuline et à la leptine chez les patients obèses. Ces résistances pourraient influencer l'activité des neurones à kisspeptine, qui régulent les neurones à GnRH et influencent leur sécrétion. Les neurones POMC ont un lien direct avec les neurones GnRH<sup>230</sup>, et l' $\alpha$ -MSH interagit avec la sécrétion de LH pendant le cycle ovarien, suggérant que la combinaison de ces mécanismes pourrait expliquer l'hypogonadisme hypogonadotrope dans le déficit en *POMC*<sup>231</sup>.

Nous pouvons également nous interroger sur le rôle du récepteur de la mélanocortine 3 (**MC3R**), qui peut en réalité être activé par différents biopeptides issus de POMC. Initialement considéré comme un possible régulateur des mécanismes de l'appétit et de la faim, des études récentes ont révélé qu'il joue également un rôle dans la régulation de la croissance, de la puberté et des rythmes circadiens<sup>232-236</sup>. Il est intéressant de noter que l'hypogonadisme et l'insuffisance somatotrope, observés dans certains cas de déficits bialléliques en *POMC*, pourraient potentiellement être liés à l'absence de liaison du MC3R. Pour rappel, la plupart des neurones qui expriment la growth hormone secretagogue-1a (GHSR-1a) coexpriment également le MC3R, tandis que seuls quelques neurones qui expriment le MC3R coexpriment le GHSR-1a dans le noyau arqué<sup>237</sup>. MC3R a une capacité de liaison très élevée pour l'hormone stimulante de la mélanocytes  $\gamma$ -MSH, tandis que le MC4R a une capacité de liaison très élevée pour l' $\alpha$  et le  $\beta$ -MSH. Des études ont montré que lorsque les récepteurs GHSR-1a et MC3R forment des dimères et que GHSR-1a est activé de manière basale, l'activité du MC3R en réponse à  $\alpha$ -MSH est doublée, tandis que l'activité du GHSR-1a en réponse à la ghréline diminue de 60%<sup>238,239</sup>. De plus, GHSR-1a interagit avec Gpr83, régulant ainsi la signalisation de GHSR-1a et de MC3R, et contrôlant le métabolisme énergétique dépendant et indépendant de la ghréline. Ces études suggèrent que la régulation

moléculaire de la signalisation du MC3R peut être contrôlée par GHSR-1a, grâce à des interactions entre protéines. Jusqu'à présent, le trafic intracellulaire du MC3R a fait l'objet de peu d'études<sup>240</sup>. Bien que cette recherche ait suggéré que le récepteur MC3R s'internalise en présence de  $\gamma$ -MSH<sup>240</sup>, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les retards de croissance et de puberté chez les patients porteurs de variants perte de fonction du MC3R.

Certains variants bi-alléliques de *POMC* pourraient entraîner l'absence de sécrétion de  $\gamma$ -MSH et  $\alpha$ -MSH, qui sont des ligands du MC3R, provoquant ainsi un retard de croissance et un déficit gonadotrope comparable à celui observé chez les patients porteurs de variants perte de fonction du MC3R<sup>232-236</sup>.

Bien que le setmélanotide soit un agoniste sélectif du MC4R, il a également la capacité de se lier au MC3R et au MC1R, mais avec une activité réduite 20 fois<sup>241</sup>. L'ensemble de ces éléments suggère un possible rôle du MC3R dans l'absence de récupération des déficits gonadotropes et somatotropes chez les patients porteurs de variants bi-alléliques de *POMC* traités par setmélanotide.

*Cet article a permis, grâce à la description initiale d'un cas familial caractérisé par une obésité précoce et un hypocortisolisme, qui avait été à tort étiqueté comme porteur d'un variant hétérozygote en POMC, de remettre en question la responsabilité des variants hétérozygotes dans la survenue d'obésité monogénique. À l'échelle individuelle, cette remise en question a ouvert la voie à la possibilité d'induire une sensation de satiété chez la patiente et d'initier sa perte de poids par le biais de l'utilisation de l'agoniste MC4R. À l'échelle de la population, notre investigation a confirmé que les variants hétérozygotes en POMC ne devraient pas être considérés comme la cause exclusive d'une obésité monogénique. Cette*

*réévaluation a également remis en question l'efficacité de la thérapie ciblée chez les hétérozygotes dans le cadre d'un essai clinique en cours.*

## C. Lipodystrophie partielle familiale et hypertriglycémie

### 1. Dominant *ZMPSTE24* deficiency and hypertriglyceridemia: unveiling a novel possible cause of mild partial lipodystrophy?

Lauriane Le Collen<sup>1,2,3,4</sup>, Camille Desgrouas<sup>5</sup>, Céline Lukas Croisier<sup>2</sup>, Martine Vaxillaire<sup>1,4</sup>, Brunot Creugnet<sup>6</sup>, Aurélie Dechaume<sup>1,4</sup>, Alaa Badreddine<sup>1,4</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>1,4</sup>, Alexandre Lourdelle<sup>7</sup>, Brigitte Delemer<sup>2,8</sup>, Nathalie Bonello-Palot<sup>5</sup>, Philippe Froguel<sup>1,4,9</sup>, Catherine Badens<sup>5</sup>, Amélie Bonnefond<sup>1,4,9</sup>

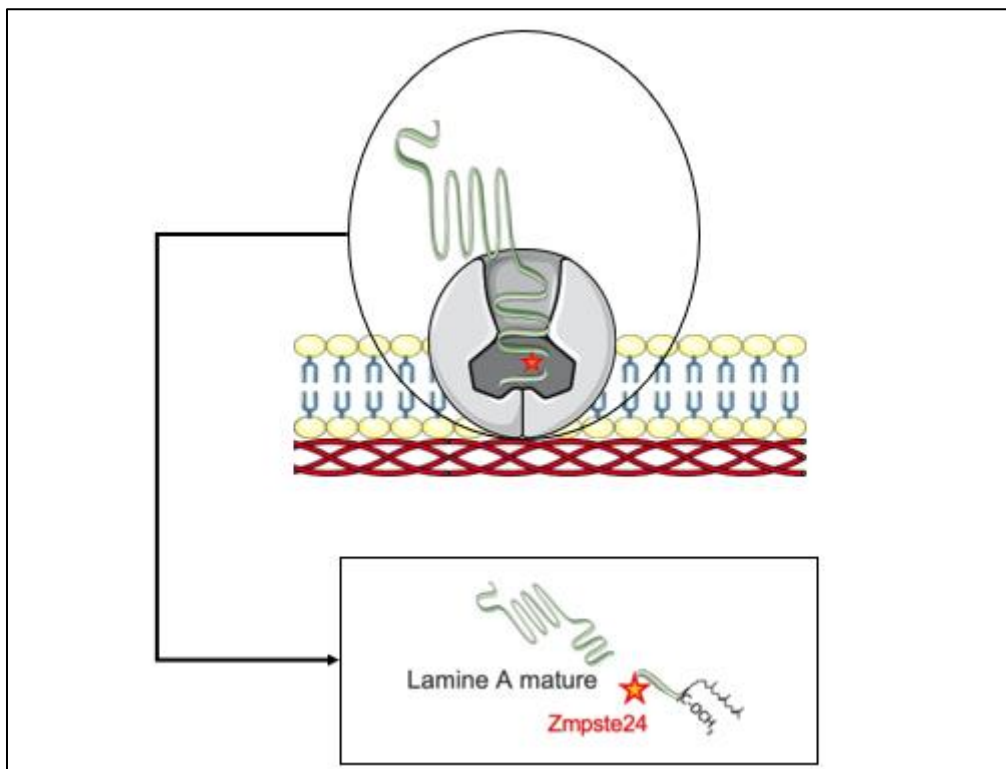
#### **Article en annexe**

Jusqu'à présent, la responsabilité des variants hétérozygotes de *ZMPSTE24* dans la lipodystrophie partielle n'avait été envisagée que de manière exceptionnelle<sup>242,243</sup>, chez un patient présentant un syndrome métabolique sévère. Face à cette rareté, nous nous sommes interrogés sur l'impact de ce même variant détecté au sein d'une famille originaire de la même île mais sans lien de parenté. Afin d'approfondir notre compréhension de son impact, nous avons employé plusieurs méthodes : une revue minutieuse de la littérature appuyée par la base de données HGMD, une analyse approfondie des données de la UK Biobank et des caractéristiques phénotypiques des porteurs, ainsi qu'une approche fonctionnelle.

La lipodystrophie partielle de type 2 (FPLD2), également connue sous le nom de syndrome de Dunnigan, constitue la forme la plus fréquente de lipodystrophie partielle (#151660). Elle est causée par une mutation pathogène dans le gène *LMNA*, responsable de la codification des lamines A/C.

Les **lamines** forment un réseau en maillage de polymères homopolymères appelé la lamina, qui soutient la membrane nucléaire interne<sup>244</sup> (**Figure 18**). Cette structure régule la forme du noyau et sert de support à l'hétérochromatine<sup>244-248</sup>. Les lamines A et B possèdent un motif CAAX C-terminal qui guide des modifications post-traductionnelles, notamment la

farnésylation de la cystéine du motif CAAX, la suppression endoprotéolytique des trois résidus terminaux (AAX) et la carboxylméthylation de la farnésyl-cystéine. La farnésylation favorise l'adhérence à la membrane et représente une modification permanente<sup>245</sup>. **ZMPSTE24** exécute une étape essentielle de traitement protéolytique dans la maturation de la protéine pré-lamine A farnésylée, le précurseur du composant architecturale nucléaire lamin A codé par *LMNA*<sup>245</sup> (**Figure 19**). Le clivage par ZMPSTE24 élimine les 15 résidus C-terminaux, y compris la cystéine farnésylée, pour la pré-lamine A.



**Figure 19.** De la pré-lamine A à la lamine A : processus de maturation.

Le réseau de lamines est représenté sous l'enveloppe nucléaire en rouge. La métalloprotéase ZMPSTE24 est symbolisée par la protéine membranaire en gris. La pré-lamine A et le site de clivage (indiqué par une étoile) sont visibles dans la métalloprotéase, où la pré-lamine A est en train d'être clivée pour donner naissance à la lamine A mature.

Ce clivage prévient l'apparition de pathologies liées au **vieillessement prématuré** (syndromes progéroïdes) telles que le syndrome de Hutchinson-Gilford, la dysplasie acromandibulaire de type B (**MAD-B**) et la dermatopathie restrictive (**RD**). En effet, la **progéria** de **Hutchinson-Gilford** (#176670) entraîne un vieillissement prématuré et accéléré en raison de variant pathogène dans le gène *LMNA*. Cette mutation conduit à l'accumulation d'un précurseur farnésylé de la lamine, qui n'est plus en mesure de subir les modifications post-traductionnelles nécessaires à sa maturation. D'autres syndromes progéroïdes sont associés à des variants pathogènes dans *ZMPSTE24*, notamment la dysplasie acromandibulaire de type B (# 608612) et la dermatopathie restrictive(# 275210)<sup>249-253</sup>. Dans ces trois pathologies, la sévérité est liée à l'étendue du défaut de maturation de la pré-lamine A ainsi qu'à la quantité accumulée de pré-lamine A farnésylée<sup>245,254,255</sup>.

La MAD est associée à des variants homozygotes/hétérozygotes composites dans *LMNA* (Type A) ou dans *ZMPSTE24* (Type B) (#608612). Le Type A est caractérisé par des variants homozygotes dans *LMNA*, entraînant une lipoatrophie sous-cutanée principalement au niveau des extrémités, tout en épargnant le cou et le tronc (lipodystrophie partielle). En revanche, le Type B se manifeste par une atteinte du cou et du tronc (lipodystrophie généralisée). Des signes de vieillissement prématuré sont également rapportés<sup>174,256,257</sup>.

Dans cette étude, nous nous sommes donc intéressés aux porteurs de variants hétérozygotes de *ZMPSTE24*, qui avait été déjà décrits comme potentiellement responsable d' une forme de lipodystrophie partielle caractérisée par un syndrome métabolique <sup>242,243</sup>.

Nous avons choisi de prendre en considération l'appartenance **ethnique** lors de la mesure de **l'obésité abdominale** dans la définition du syndrome métabolique<sup>87</sup>. En effet, cette considération s'avère pertinente, principalement chez les hommes, au sein desquels diverses

ethnies affichent déjà une adiposité abdominale excessive excédant les 90 cm, particulièrement lorsque leur origine est asiatique.

Cette observation acquiert davantage d'importance en raison de la **fréquence significative** des variants dans le gène *ZMPSTE24* chez les individus issus d'Asie de l'Est, comme le révèlent les données de GnomAD. La prévalence de ces variants hétérozygotes est notablement élevée dans cette population, contrairement à la population générale où elle était rare. La fréquence estimée est de 5/1000 pour le variant familial (NM\_00587.5:c.1312C>T p.Leu438Phe) dans le gène *ZMPSTE24*.

Nous pouvons également nous interroger sur les raisons de la découverte de ce même variant sur l'île de Wallis dans deux familles distinctes. Nous avons examiné la possibilité d'un variant à effet **fondateur** au sein de la population wallisienne. Pour répondre à cette question, nous nous sommes intéressés à la **génétique de la population océanienne**. Celle-ci peut être séparée en deux catégories : l'Océanie proche (comprenant les îles Bismarck) et l'Océanie éloignée (notamment comprenant la Nouvelle-Calédonie, Wallis-et-Futuna et la Polynésie). La colonisation humaine de l'Océanie s'est déroulée en deux vagues : la première migration hors d'Afrique il y a environ 50 000 ans et l'expansion austronésienne qui a atteint l'archipel des Bismarck il y a environ 3 450 ans<sup>258,259</sup>. La colonisation de l'Océanie éloignée (y compris l'île de Wallis) daterait donc d'environ 3 200 ans, après une phase de migration de la population de Taiwan, à travers les Philippines et l'Indonésie<sup>258</sup>. Le mélange des populations d'Asie de l'Est avec l'Océanie reflétait l'expansion austronésienne. 80% des composants génétiques proviennent de l'expansion austronésienne et 20% de la population papoue pour les habitants de l'Océanie éloignée, comparé à l'Océanie proche, estimée à 20% d'expansion austronésienne et 80% de population papoue<sup>260</sup>. Les individus d'Océanie ont les niveaux les plus élevés d'héritage néandertalien et dénisovien au monde<sup>258</sup>. Des travaux récents ont



montré l'importance des croisements avec les Denisoviens et les populations du Pacifique dans la sélection naturelle de plusieurs gènes, notamment ceux impliqués dans le métabolisme lipidique<sup>258</sup>. Des **variants candidats** pour la sélection positive ont été observés notamment dans les gènes liés au **métabolisme**. Malheureusement, ces résultats ne peuvent pas être extrapolés à la population wallisienne, car ils n'ont pas été étudiés<sup>258</sup>. L'association entre le changement alimentaire et ces différents variants pourrait contribuer à expliquer la propagation des maladies métaboliques dans les îles du Pacifique<sup>261</sup>.

Initialement, nous avons consulté la base de données HGMD et relevé un nombre limité de cas hétérozygotes<sup>242,243,262</sup>. Deux variants délétères (c.1312C > T et c.1204-5\_1210del) ont été identifiés à l'état hétérozygote, associés à la présence de **dyslipidémie**, bien que l'association avec l'hypertriglycéridémie ne soit pas spécifiquement mentionnée<sup>262</sup>.

En accord avec ces données, nous avons constaté une corrélation significative entre **l'hypertriglycéridémie** et les variants hétérozygotes de *ZMPSTE24*. En effet, après avoir étudié la population générale à travers l'analyse de la UK Biobank, nous avons identifié une association significative pour cette condition. Cependant, nous n'avons pas pu identifier d'association significative avec le syndrome métabolique, seulement une tendance non significative. En ce qui concerne la responsabilité pour la lipodystrophie partielle, étant donné l'importance de l'évaluation clinique détaillée par un expert pour son diagnostic, cette dernière n'a pas pu être confirmée au sein de la UK Biobank en raison du manque de données disponibles. Par conséquent, il semble que les variants hétérozygotes de *ZMPSTE24* puissent contribuer à la survenue de l'hypertriglycéridémie, qui constitue l'une des caractéristiques majeures des lipodystrophies partielles. Cependant, d'autres complications fréquemment associées à ces dernières, telles que l'hypertension artérielle, n'ont pas été significativement retrouvées dans l'analyse de la UK Biobank. L'éventuelle corrélation entre la lipodystrophie

partielle et les variants hétérozygotes délétères au sein du gène *ZMPSTE24* demeure sujette à interrogation, étant donné que seule l'une des éventuelles complications de cette pathologie a été associée significativement à ces variants.

La preuve de l'**impact fonctionnel** de ce variant, obtenue grâce à l'étude in vitro, confirme son caractère délétère. De manière intéressante, nous avons observé une **sénescence cellulaire accélérée** chez les porteurs du variant hétérozygote (NM\_00587.5:c.1312C>T p.Leu438Phe) dans *ZMPSTE24*, en accord avec ce qui aurait été prédit en cas de déficience bi-allélique. Cependant, dans l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible d'extrapoler que les variants hétérozygotes de *ZMPSTE24* sont une cause directe de lipodystrophie partielle.

De plus, l'hypertriglycéridémie pourrait également résulter de l'insulino-résistance associée à une lipoatrophie, sans qu'il y ait un lien direct de causalité entre les variants hétérozygotes en *ZMPSTE24* et l'hypertriglycéridémie. Au total, nous pourrions avancer l'hypothèse que ces variants hétérozygotes exercent une influence prédisposante à la survenue d'une hypertriglycéridémie, notamment au sein d'un contexte où divers éléments **environnementaux** entrent en jeu, tels qu'un mode de vie de plus en plus sédentaire et une alimentation riche en calories. Le phénotype marqué par une obésité fréquemment constatée au sein de la famille que nous avons étudiée, associée à un syndrome métabolique, pourrait découler d'une convergence complexe de facteurs **polygéniques**. Il est plausible que les variants hétérozygotes dans *ZMPSTE24* jouent un rôle d'initiateur potentialisateur dans le déclenchement d'un syndrome métabolique caractérisé par une obésité et une hypertriglycéridémie, en particulier au sein d'un environnement défavorable.

*À travers cette étude, nous avons entrepris de vérifier l'hypothèse initiale que les variants hétérozygotes de ZMPST24 pourraient être associés à une forme spécifique de lipodystrophie partielle, caractérisée par un syndrome métabolique. En combinant l'analyse approfondie d'une famille, une revue de la littérature (HGMD), une investigation au sein de la population générale (UK Biobank) et une évaluation fonctionnelle, nous avons constaté que cette notion n'était pas aussi claire que prévue. Malgré la confirmation in vitro de l'effet délétère du variant sur l'état cellulaire, son rôle significatif en tant que prédisposition monogénique n'a pas été nettement établi dans la population générale. Nos résultats suggèrent que les variants hétérozygotes de ZMPSTE24 pourraient principalement prédisposer à l'hypertriglycémie, plutôt en tant que facteur polygénique.*

## IX. Discussion générale et perspectives

Au fil de ce travail, nous avons exploré les diverses formes monogéniques des maladies métaboliques, tant à travers l'étude de cas singuliers qu' à l'échelle de la population générale. Afin d'élucider les cas complexes de diabète, d'obésité ou de lipodystrophie partielle atypiques, une approche méthodique en plusieurs étapes a été adoptée. Initialement, une analyse ciblée de l'exome a été entreprise, ce qui a permis de dévoiler l'étiologie des maladies examinées dans nos cas. Cependant, l'efficacité de cette technique isolée en première intention peut être remise en question. Par exemple, dans notre étude de cas associée au Syndrome de Wolfram-like disorder, le seul variant du gène *WFS1* ne suffisait pas à expliquer tous les aspects de la maladie (*Compound genetic etiology in a patient with a syndrome including diabetes, intellectual deficiency and distichiasis*). L'analyse par CGH array et l'étude des TADs ont alors ouvert de nouvelles pistes physiopathologiques. Le diagnostic différentiel entre le diabète de type 1, de type 2 ou d'origine génétique ne doit plus être envisagé en termes d'entités distinctes, mais plutôt comme un continuum avec des chevauchements significatifs. Il est crucial de souligner que l'intuition clinique peut jouer un rôle décisif dans l'approche thérapeutique, comme en témoigne également le cas d'une patiente présentant un déficit bi-allélique en *POMC* plutôt qu'un déficit mono-allélique (*Heterozygous pathogenic variants in POMC are not responsible for monogenic obesity: Implication for MC4R agonist use*). Cette étude appelle à remettre en question certaines hypothèses préétablies, notamment l'absence d'association entre l'hétérozygotie *POMC* et l'obésité monogénique.

Parallèlement, l'identification de variants hétérozygotes au sein du gène *ZMPSE24*, présumés être responsables d'un syndrome métabolique sévère<sup>242,243</sup>, nous a conduit à les considérer davantage comme des SNPs, contrairement aux variants bi-alléliques responsables de formes graves de lipodystrophie. Par conséquent, nous pouvons envisager que les variants

hétérozygotes en *ZMPSTE24* contribuent à l'hypertriglycéridémie plutôt que d'être impliqués dans une forme monogénique d'insulino-résistance.

Ces considérations doivent être contextualisées dans le cadre de l'état actuel de la science, tout en restant réceptifs aux découvertes à venir. Face à ces résultats, il est impératif de faire appel à notre instinct clinique afin de décider de poursuivre les investigations que nous estimons nécessaires. C'est ainsi que nous pourrons progresser dans la résolution des mystères qui entourent ces situations cliniques complexes.

Notre travail a suscité une réflexion quant à l'impact des variants pathogènes chez des patients qui incorrectement diagnostiqués avec une forme commune de maladie métabolique.

Il est essentiel de noter qu'au sein de notre travail, une enquête familiale a été systématiquement menée après l'identification des variants pathogènes chez les cas index. Un exemple significatif concerne la famille présentant un variant pathogène dans *PDX1*, où nous avons rapidement identifié une agénésie pancréatique chez tous les porteurs, parfois associée à une réduction de l'élastase fécale, bien que cette dernière ne soit pas systématique. Cette détection précoce permettra d'orienter ces patients vers une consultation spécialisée en vue de prévenir la dégradation de la fonction pancréatique exocrine. De plus, grâce à l'identification de leurs génotypes, nous avons pu diagnostiquer rapidement chez les enfants un diabète ou une intolérance au glucose. Ils pourront être traités de manière anticipée grâce à des thérapies de précision, notamment l'utilisation efficace de l'analogue du GLP1, qui été très efficace chez leur mère. Ainsi, en réalisant une identification préliminaire des porteurs de variants pathogènes au sein de la famille, nous pouvons mettre en œuvre une médecine de précision aussi bien pour le cas index que pour les membres de la famille concernés, avec des avantages considérables pour leur prise en charge médicale. Cependant, il est impératif

d'examiner attentivement la pertinence du dépistage chez les membres mineurs de la famille en fonction des implications médicales de la maladie<sup>25</sup>. Notamment dans le contexte spécifique d'une enquête familiale consécutive à l'identification d'un variant pathogène dans *GCK*, il est déconseillé de procéder au test d'un mineur asymptomatique, en raison de la nature relativement bénigne de la condition et des préoccupations liées aux répercussions psychologiques potentielles<sup>25</sup>.

Dans le contexte actuel où les avancées génomiques sont en plein essor, se pose la question de la pertinence du séquençage complet du génome par rapport à l'exome. Pour les patients présentant des maladies métaboliques évocatrices de causes génétiques, il pourrait être judicieux d'opter en première instance pour le séquençage complet du génome, en mettant l'accent sur les causes monogéniques déjà connues. Parallèlement, il serait envisageable d'utiliser le séquençage complet du génome et le génotypage par microarray d'ADN afin de ne pas ignorer les variations du nombre de copies non détectables par les méthodes précédentes. En cas d'absence de conclusions claires à partir de ces approches, une exploration plus approfondie du génome serait entreprise. Cette exploration engloberait des gènes candidats liés à différentes formes de maladies métaboliques et impliquerait également l'étude d'individus ayant des résultats de tests génétiques négatifs. L'objectif serait d'identifier de nouveaux gènes associés aux maladies métaboliques monogéniques.

Toutefois, en tenant compte des données antérieures<sup>22</sup>, il me semble que limiter notre démarche aux seuls patients soupçonnés de présenter un diagnostic génétique serait insuffisant. Par conséquent, il devient essentiel de développer des approches de dépistage génétique économiques, rapides et fiables, pouvant être déployées à l'échelle mondiale pour diagnostiquer la majorité des patients diabétiques, indépendamment de leur âge ou de leur phénotype.

De plus, il est regrettable qu'à l'heure actuelle, il n'existe pas de thérapies spécifiquement ciblées pour les gènes déficitaires associés aux diabètes monogéniques, contrairement aux obésités monogéniques (agoniste MC4R) ou encore aux lipodystrophies partielles (leptine recombinante). Les traitements de médecine de précision pour le diabète monogénique se limitent aux sulfonylurées, aux inhibiteurs de DPP4 et aux analogues du GLP1, qui étaient initialement destinés au diabète de type 2 classique. Par conséquent, il est impératif de réaliser des avancées significatives dans le développement de traitements spécifiques pour les individus porteurs de variants pathogènes associés aux diabètes monogéniques, tout en garantissant une surveillance attentive de la santé à long terme de chaque patient ayant reçu un diagnostic. Une intensification de la recherche visant à mieux comprendre les voies de signalisation auxquelles participent les gènes de diabète monogénique au sein des cellules bêta pancréatiques pourrait potentiellement mener à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

De plus, il convient de discuter de l'utilisation optimale des scores polygéniques (PRS) permettant ainsi de prédire les risques potentiels de développer des conditions telles que le diabète et l'obésité. Cette approche complémentaire, basée sur les scores polygéniques, ouvre la voie à une évaluation préventive et personnalisée de la santé du patient. En intégrant des données génétiques spécifiques à chaque individu, il devient possible d'identifier les profils à risque. Cela permet de mettre en place des stratégies de prévention et de gestion ciblées pour réduire les chances de développement de maladies chroniques. L'intégration des scores polygéniques dans les protocoles cliniques peut également avoir un impact sur la prise de décision médicale. Les informations fournies par ces scores permettront une personnalisation accrue des traitements et des interventions, en prenant en considération la prédisposition génétique propre à chaque individu. L'utilisation judicieuse des scores

polygéniques offre un potentiel significatif pour une évaluation optimisée du patient. En exploitant les informations génétiques pour prédire les risques de survenue des maladies, cette approche ouvre de nouvelles perspectives en matière de médecine personnalisée et préventive, tout en permettant une allocation plus efficiente des ressources médicales.

Le rapport de Cédric Villani sur l'intelligence artificielle (IA) offre des recommandations pertinentes pour l'avancement de la médecine de précision, notamment en ce qui concerne le diagnostic par séquençage. L'utilisation de l'IA dans ce contexte peut révolutionner la façon dont nous diagnostiquons et traitons les maladies.

Dans le domaine de la médecine de précision, l'une des recommandations clés du rapport est la création d'Instituts interdisciplinaires d'intelligence artificielle. Ces instituts pourraient jouer un rôle essentiel dans la recherche médicale en utilisant l'IA pour analyser de vastes ensembles de données génomiques et médicales. Ils permettraient ainsi d'identifier des variants pathogènes spécifiques associées à certaines maladies, ce qui faciliterait un diagnostic plus précis. De plus, la mise en place d'un supercalculateur dédié à l'IA serait extrêmement utile pour traiter les séquences génétiques rapidement et avec une grande précision. Cela permettrait d'accélérer le processus de diagnostic par séquençage, en fournissant aux médecins et aux chercheurs des informations cruciales pour personnaliser les traitements en fonction des profils génétiques des patients. Le rapport insiste également sur la nécessité de former davantage de professionnels de la santé et de chercheurs en IA. Cette initiative favoriserait le développement de compétences interdisciplinaires nécessaires pour exploiter pleinement le potentiel de l'IA en médecine de précision. Ces nouvelles formations pourraient également inclure des programmes spécifiques pour intégrer les avancées de l'IA dans le diagnostic par séquençage. Enfin, l'accent mis sur l'éthique dans le rapport de Villani est tout aussi important en médecine de précision. Alors que l'IA peut fournir des informations



puissantes pour personnaliser les traitements, il est essentiel de garantir que ces technologies sont utilisées de manière responsable, respectant la vie privée et les droits des patients.

En résumé, les recommandations du rapport de Cédric Villani sur l'IA sont directement applicables à l'avancement de la médecine de précision, en particulier dans le domaine du diagnostic par séquençage. En utilisant l'IA de manière stratégique, la France peut jouer un rôle de premier plan dans l'exploitation du potentiel des données génomiques pour améliorer la santé et la vie des individus.

Cependant, nous sommes actuellement confrontés à des problèmes liés au manque de personnel. Auparavant, le séquençage de masse était limité par le temps d'analyse. Actuellement, la problématique se déplace vers **la phase post-analytique**. En effet, au sein de la plateforme Ligan, seulement deux personnes sont responsables de l'analyse de l'ensemble des séquençages NGS requis. Cette situation souligne clairement la nécessité de renforcer notre effectif, ce qui rend impératif le recrutement de nouveaux collaborateurs. Pour faire face à ce défi lié au manque d'effectif, nous pourrions envisager d'intégrer l'intelligence artificielle dans notre processus d'analyse. L'IA serait utilisée pour automatiser les tâches répétitives et accélérer le traitement des données de séquençage. Cette approche permettrait à notre équipe actuelle de se concentrer sur des aspects plus complexes et spécialisés de l'analyse. En combinant cette stratégie avec le recrutement de personnel supplémentaire, nous pourrions anticiper une amélioration significative de notre capacité à répondre à la demande croissante en séquençage NGS.

La généralisation du score polygénique et l'intégration de l'intelligence artificielle dans les analyses génétiques représentent des avancées prometteuses. Cependant, il est crucial de reconnaître que ces approches peuvent sous-estimer l'impact de l'environnement sur la santé, qu'il s'agisse de facteurs **nutritionnels** ou **psychologiques**. Cette perspective plus globale est

encapsulée dans le concept émergent de "personomique", qui prend en compte la diversité des influences environnementales sur la génétique individuelle. La **personomique** offre une approche plus holistique en reconnaissant que la génétique seule ne suffit pas à expliquer la complexité des traits de santé. L'intégration de ces données environnementales dans les analyses génétiques permettrait une meilleure précision dans la prédiction des risques et dans la personnalisation des stratégies de prévention et de traitement. Ainsi, une approche équilibrée entre génétique, environnement et technologie émergente pourrait véritablement optimiser la compréhension et la gestion de la santé individuelle.

*Ce travail sur les maladies métaboliques met en évidence la complexité inhérente aux diagnostics génétiques, soulignant l'importance d'une méthodologie rigoureuse et de l'utilisation variée d'analyses génétiques, telles que l'exome, le CGH array et l'étude des TADs. L'intégration des scores polygéniques propose une approche préventive et personnalisée, avec une recommandation d'association à un séquençage génomique accompagnée d'une évaluation des facteurs environnementaux pour une conclusion exhaustive sur la pathologie et son évolution potentielle. À l'avenir, la concrétisation complète de ces investigations pourrait être facilitée par l'intégration de l'intelligence artificielle, nécessitant toutefois une optimisation du personnel post-analytique.*

*Il est essentiel de souligner le rôle crucial du clinicien dans le diagnostic, notamment l'intuition clinique illustrée par des cas comme le déficit bi-allélique en POMC. L'enquête familiale systématique, réalisée après l'identification de variants pathogènes chez un cas index, démontre également son utilité pour une médecine de précision anticipée, comme illustré par l'identification d'un variant pathogène dans PDX1 et ses répercussions pancréatiques.*

*Concernant le diagnostic, la question du choix entre le séquençage complet du génome et de l'exome peut être soulevée selon les indications, soulignant la nécessité de développer des approches de dépistage génétique plus économiques et accessibles. Cependant, la problématique persistante de la thérapie du patient, suite à son diagnostic génétique et à son suivi, met en évidence l'absence actuelle de thérapies spécifiques, notamment pour les diabètes monogéniques, nécessitant une poursuite de la recherche pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.*

***En conclusion***, ce travail souligne des avancées dans la compréhension des maladies métaboliques tout en mettant en évidence les défis persistants. Des approches interdisciplinaires, l'utilisation de technologies émergentes et une collaboration étroite entre la médecine de précision et l'intelligence artificielle sont essentielles pour surmonter ces défis et promouvoir des soins personnalisés de qualité.

## X. Références

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3(11):e442. doi:10.1371/journal.pmed.0030442
2. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(2):88-98. doi:10.1038/nrendo.2017.151
3. GBD 2016 Mortality Collaborators. Global, regional, and national under-5 mortality, adult mortality, age-specific mortality, and life expectancy, 1970-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet.* 2017;390(10100):1084-1150. doi:10.1016/S0140-6736(17)31833-0
4. International Diabetes Federation, Contact. IDF Diabetes Atlas 2021. <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>
5. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care.* 2021;44(Suppl 1):S15-S33. doi:10.2337/dc21-S002
6. Société Française d'Endocrinologie. Diabète de type 2. Société Française d'Endocrinologie. Published September 21, 2022. <https://www.s fendocrino.org/diabete-de-type-2/>
7. Pollin TI. Epigenetics and diabetes risk: not just for imprinting anymore? *Diabetes.* 2011;60(7):1859-1860. doi:10.2337/db11-0515
8. Hales CN, Barker DJ, Clark PM, et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ.* 1991;303(6809). doi:10.1136/bmj.303.6809.1019
9. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia.* 1992;35(7):595-601. doi:10.1007/BF00400248
10. Silverman BL, Rizzo TA, Cho NH, Metzger BE. Long-term effects of the intrauterine environment. The Northwestern University Diabetes in Pregnancy Center. *Diabetes Care.* 1998;21 Suppl 2:B142-149.
11. Oken E, Rifas-Shiman SL, Field AE, Frazier AL, Gillman MW. Maternal gestational weight gain and offspring weight in adolescence. *Obstet Gynecol.* 2008;112(5):999-1006. doi:10.1097/AOG.0b013e31818a5d50
12. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care.* 1998;21 Suppl 2:B161-167.
13. Jang HC. Gestational diabetes in Korea: incidence and risk factors of diabetes in women with previous gestational diabetes. *Diabetes Metab J.* 2011;35(1):1-7. doi:10.4093/dmj.2011.35.1.1
14. Vounzoulaki E, Khunti K, Abner SC, Tan BK, Davies MJ, Gillies CL. Progression to type 2 diabetes in women with a known history of gestational diabetes: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2020;369:m1361. doi:10.1136/bmj.m1361
15. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2009;373(9677):1773-1779. doi:10.1016/S0140-6736(09)60731-5
16. Kwak SH, Choi SH, Jung HS, et al. Clinical and genetic risk factors for type 2 diabetes at early or late post partum after gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):E744-752. doi:10.1210/jc.2012-3324
17. Moon JH, Kwak SH, Jang HC. Prevention of type 2 diabetes mellitus in women with previous gestational diabetes mellitus. *Korean J Intern Med.* 2017;32(1):26-41. doi:10.3904/kjim.2016.203
18. Bonnefond A, Unnikrishnan R, Doria A, et al. Monogenic diabetes. *Nat Rev Dis Primers.* 2023;9(1):12. doi:10.1038/s41572-023-00421-w

19. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1):S17-S38. doi:10.2337/dc22-S002
20. Bonnefond A, Froguel P. Clustering for a better prediction of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(4):193-194. doi:10.1038/s41574-021-00475-4
21. Wagner R, Heni M, Tabák AG, et al. Pathophysiology-based subphenotyping of individuals at elevated risk for type 2 diabetes. *Nat Med*. 2021;27(1):49-57. doi:10.1038/s41591-020-1116-9
22. Bonnefond A, Boissel M, Bolze A, et al. Pathogenic variants in actionable MODY genes are associated with type 2 diabetes. *Nat Metab*. 2020;2(10):1126-1134. doi:10.1038/s42255-020-00294-3
23. Flannick J, Mercader JM, Fuchsberger C, et al. Exome sequencing of 20,791 cases of type 2 diabetes and 24,440 controls. *Nature*. 2019;570(7759):71-76. doi:10.1038/s41586-019-1231-2
24. Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature*. 2016;536(7614):41-47. doi:10.1038/nature18642
25. Murphy R, Colclough K, Pollin TI, et al. The use of precision diagnostics for monogenic diabetes: a systematic review and expert opinion. *Commun Med (Lond)*. 2023;3(1):136. doi:10.1038/s43856-023-00369-8
26. Timsit J, Saint-Martin C, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C. Searching for Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): When and What for? *Can J Diabetes*. 2016;40(5):455-461. doi:10.1016/j.jcjd.2015.12.005
27. Diabètes monogéniques de type MODY. Haute Autorité de Santé. Accessed July 18, 2023. [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3389587/fr/diabetes-monogeniques-de-type-mody](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3389587/fr/diabetes-monogeniques-de-type-mody)
28. Maladie liée à HNF-1β. Haute Autorité de Santé. Accessed July 18, 2023. [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3167157/fr/maladie-liee-a-hnf-1](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3167157/fr/maladie-liee-a-hnf-1)
29. El Jellas K, Dušátková P, Haldorsen IS, et al. Two New Mutations in the CEL Gene Causing Diabetes and Hereditary Pancreatitis: How to Correctly Identify MODY8 Cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(4):e1455-e1466. doi:10.1210/clinem/dgab864
30. Du YT, Moore L, Poplawski NK, De Sousa SMC. Familial GATA6 mutation causing variably expressed diabetes mellitus and cardiac and renal abnormalities. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2019;2019:19-0022, EDM190022. doi:10.1530/EDM-19-0022
31. Urakami T. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): current perspectives on diagnosis and treatment. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019;12:1047-1056. doi:10.2147/DMSO.S179793
32. Graff SM, Johnson SR, Leo PJ, et al. A KCNK16 mutation causing TALK-1 gain of function is associated with maturity-onset diabetes of the young. *JCI Insight*. 2021;6(13):e138057, 138057. doi:10.1172/jci.insight.138057
33. Stern E, Vivante A, Barel O, Levy-Shraga Y. TRMT10A Mutation in a Child with Diabetes, Short Stature, Microcephaly and Hypoplastic Kidneys. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2022;14(2):227-232. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2020.2020.0265
34. Philippi A, Heller S, Costa IG, et al. Mutations and variants of ONECUT1 in diabetes. *Nat Med*. 2021;27(11):1928-1940. doi:10.1038/s41591-021-01502-7
35. Shaw-Smith C, De Franco E, Lango Allen H, et al. GATA4 mutations are a cause of neonatal and childhood-onset diabetes. *Diabetes*. 2014;63(8):2888-2894. doi:10.2337/db14-0061
36. Simaite D, Kofent J, Gong M, et al. Recessive mutations in PCBD1 cause a new type of early-onset diabetes. *Diabetes*. 2014;63(10):3557-3564. doi:10.2337/db13-1784

37. Prudente S, Jungtrakoon P, Marucci A, et al. Loss-of-Function Mutations in APPL1 in Familial Diabetes Mellitus. *Am J Hum Genet.* 2015;97(1):177-185. doi:10.1016/j.ajhg.2015.05.011
38. Imaki S, Iizuka K, Horikawa Y, et al. A novel RFX6 heterozygous mutation (p.R652X) in maturity-onset diabetes mellitus: A case report. *J Diabetes Investig.* 2021;12(10):1914-1918. doi:10.1111/jdi.13545
39. Iacovazzo D, Flanagan SE, Walker E, et al. MAFA missense mutation causes familial insulinomatosis and diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(5):1027-1032. doi:10.1073/pnas.1712262115
40. Shaw-Smith C, Flanagan SE, Patch AM, et al. Recessive SLC19A2 mutations are a cause of neonatal diabetes mellitus in thiamine-responsive megaloblastic anaemia. *Pediatr Diabetes.* 2012;13(4):314-321. doi:10.1111/j.1399-5448.2012.00855.x
41. Brickwood S, Bonthron DT, Al-Gazali LI, et al. Wolcott-Rallison syndrome: pathogenic insights into neonatal diabetes from new mutation and expression studies of EIF2AK3. *J Med Genet.* 2003;40(9):685-689. doi:10.1136/jmg.40.9.685
42. Ben-Skowronek I. IPEX Syndrome: Genetics and Treatment Options. *Genes (Basel).* 2021;12(3):323. doi:10.3390/genes12030323
43. Demirbilek H, Cayir A, Flanagan SE, et al. Clinical Characteristics and Long-term Follow-up of Patients with Diabetes Due To PTF1A Enhancer Mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(12):e4351-4359. doi:10.1210/clinem/dgaa613
44. Sarıkaya E, Kendirci M, Demir M, Dündar M. Neonatal Diabetes, Congenital Hypothyroidism, and Congenital Glaucoma Coexistence: A Case of GLIS3 Mutation. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* Published online April 12, 2022. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2022.2021-12-19
45. Sekiya M, Yuhara M, Murayama Y, et al. A case of early-onset diabetes with impaired insulin secretion carrying a PAX6 gene Gln135\* mutation. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2022;2022:22-0271. doi:10.1530/EDM-22-0271
46. Johnson MB, Patel KA, De Franco E, et al. A type 1 diabetes genetic risk score can discriminate monogenic autoimmunity with diabetes from early-onset clustering of polygenic autoimmunity with diabetes. *Diabetologia.* 2018;61(4):862-869. doi:10.1007/s00125-018-4551-0
47. Rigoli L, Di Bella C. Wolfram syndrome 1 and Wolfram syndrome 2. *Curr Opin Pediatr.* 2012;24(4):512-517. doi:10.1097/MOP.0b013e328354ccdf
48. Hancili S, Bonnefond A, Philippe J, et al. A novel NEUROG3 mutation in neonatal diabetes associated with a neuro-intestinal syndrome. *Pediatr Diabetes.* 2018;19(3):381-387. doi:10.1111/pedi.12576
49. Söbü E, Kaya Özçora GD, Yılmaz Güleç E, Şahinoğlu B, Tahmiscioğlu Bucak F. A New Variant of the IER3IP1 Gene: The First Case of Microcephaly, Epilepsy, and Diabetes Syndrome 1 from Turkey. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* Published online November 23, 2022. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2022.2022-8-12
50. Mackay DJG, Callaway JLA, Marks SM, et al. Hypomethylation of multiple imprinted loci in individuals with transient neonatal diabetes is associated with mutations in ZFP57. *Nat Genet.* 2008;40(8):949-951. doi:10.1038/ng.187
51. Aly HH, De Franco E, Flanagan SE, Elhenawy YI. MNX1 mutations causing neonatal diabetes: Review of the literature and report of a case with extra-pancreatic congenital defects presenting in severe diabetic ketoacidosis. *J Diabetes Investig.* 2023;14(4):516-521. doi:10.1111/jdi.13968
52. Alwatban S, Alfaraidi H, Alosaimi A, et al. Case Report: Homozygous DNAJC3 Mutation Causes Monogenic Diabetes Mellitus Associated With Pancreatic Atrophy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:742278. doi:10.3389/fendo.2021.742278

53. Warshauer JT, Belk JA, Chan AY, et al. A human mutation in STAT3 promotes type 1 diabetes through a defect in CD8+ T cell tolerance. *J Exp Med.* 2021;218(8):e20210759. doi:10.1084/jem.20210759
54. Abarinov V, Levine JA, Churchill AJ, et al. Major  $\beta$  cell-specific functions of NKX2.2 are mediated via the NK2-specific domain. *Genes Dev.* 2023;37(11-12):490-504. doi:10.1101/gad.350569.123
55. Cabrera-Salcedo C, Kumar P, Hwa V, Dauber A. IMAGE and Related Undergrowth Syndromes: The Complex Spectrum of Gain-of-Function CDKN1C Mutations. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2017;14(3):289-297. doi:10.17458/per.vol14.2017.SKHD.imageandrelatedundergrowth
56. Abdulkarim B, Nicolino M, Igoillo-Esteve M, et al. A Missense Mutation in PPP1R15B Causes a Syndrome Including Diabetes, Short Stature, and Microcephaly. *Diabetes.* 2015;64(11). doi:10.2337/db15-0477
57. Johnson MB, De Franco E, Lango Allen H, et al. Recessively Inherited LRBA Mutations Cause Autoimmunity Presenting as Neonatal Diabetes. *Diabetes.* 2017;66(8):2316-2322. doi:10.2337/db17-0040
58. Rich SS, Erlich H, Concannon P. Genetics of Type 1 Diabetes. In: Cowie CC, Casagrande SS, Menke A, et al., eds. *Diabetes in America*. 3rd ed. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US); 2018. Accessed August 15, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567984/>
59. Giri D, Hawton K, Senniappan S. Congenital hyperinsulinism: recent updates on molecular mechanisms, diagnosis and management. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2022;35(3):279-296. doi:10.1515/jpem-2021-0369
60. Stekelenburg C, Gerster K, Blouin JL, et al. Exome sequencing identifies a de novo FOXA2 variant in a patient with syndromic diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2019;20(3):366-369. doi:10.1111/pedi.12814
61. De Franco E, Watson RA, Weninger WJ, et al. A Specific CNOT1 Mutation Results in a Novel Syndrome of Pancreatic Agenesis and Holoprosencephaly through Impaired Pancreatic and Neurological Development. *Am J Hum Genet.* 2019;104(5):985-989. doi:10.1016/j.ajhg.2019.03.018
62. De Franco E, Lytrivi M, Ibrahim H, et al. YIPF5 mutations cause neonatal diabetes and microcephaly through endoplasmic reticulum stress. *J Clin Invest.* 2020;130(12):6338-6353. doi:10.1172/JCI141455
63. De Franco E, Caswell R, Johnson MB, et al. De Novo Mutations in EIF2B1 Affecting eIF2 Signaling Cause Neonatal/Early-Onset Diabetes and Transient Hepatic Dysfunction. *Diabetes.* 2020;69(3):477-483. doi:10.2337/db19-1029
64. Montaser H, Patel KA, Balboa D, et al. Loss of MANF Causes Childhood-Onset Syndromic Diabetes Due to Increased Endoplasmic Reticulum Stress. *Diabetes.* 2021;70(4):1006-1018. doi:10.2337/db20-1174
65. Yang Y, Chan L. Monogenic Diabetes: What It Teaches Us on the Common Forms of Type 1 and Type 2 Diabetes. *Endocr Rev.* 2016;37(3):190-222. doi:10.1210/er.2015-1116
66. Grarup N, Sandholt CH, Hansen T, Pedersen O. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: from genome-wide association studies to rare variants and beyond. *Diabetologia.* 2014;57(8):1528-1541. doi:10.1007/s00125-014-3270-4
67. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2012;44(9):981-990. doi:10.1038/ng.2383
68. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, et al. Fine-mapping type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. *Nat Genet.* 2018;50(11):1505-1513. doi:10.1038/s41588-018-0241-6

69. Ge T, Irvin MR, Patki A, et al. Development and validation of a trans-ancestry polygenic risk score for type 2 diabetes in diverse populations. *Genome Med.* 2022;14(1):70. doi:10.1186/s13073-022-01074-2
70. Kwak SH, Hernandez-Cancela RB, DiCorpo DA, et al. Time-to-Event Genome-Wide Association Study for Incident Cardiovascular Disease in People with Type 2 Diabetes Mellitus. *medRxiv*. Published online July 28, 2023:2023.07.25.23293180. doi:10.1101/2023.07.25.23293180
71. Flannick J, Beer NL, Bick AG, et al. Assessing the phenotypic effects in the general population of rare variants in genes for a dominant Mendelian form of diabetes. *Nat Genet.* 2013;45(11):1380-1385. doi:10.1038/ng.2794
72. Pasquali L, Gaulton KJ, Rodríguez-Seguí SA, et al. Pancreatic islet enhancer clusters enriched in type 2 diabetes risk-associated variants. *Nat Genet.* 2014;46(2):136-143. doi:10.1038/ng.2870
73. Gaulton KJ, Ferreira T, Lee Y, et al. Genetic fine mapping and genomic annotation defines causal mechanisms at type 2 diabetes susceptibility loci. *Nat Genet.* 2015;47(12):1415-1425. doi:10.1038/ng.3437
74. Ndiaye FK, Ortalli A, Canouil M, et al. Expression and functional assessment of candidate type 2 diabetes susceptibility genes identify four new genes contributing to human insulin secretion. *Mol Metab.* 2017;6(6):459-470. doi:10.1016/j.molmet.2017.03.011
75. Zhang H, Colclough K, Gloyn AL, Pollin TI. Monogenic diabetes: a gateway to precision medicine in diabetes. *J Clin Invest.* 2021;131(3):e142244, 142244. doi:10.1172/JCI142244
76. Bonnefond A, Semple RK. Achievements, prospects and challenges in precision care for monogenic insulin-deficient and insulin-resistant diabetes. *Diabetologia.* 2022;65(11):1782-1795. doi:10.1007/s00125-022-05720-7
77. Rees MG, Gloyn AL. Small molecular glucokinase activators: has another new anti-diabetic therapeutic lost favour? *Br J Pharmacol.* 2013;168(2):335-338. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02201.x
78. Sharma P, Singh S, Sharma N, Singla D, Guarve K, Grewal AS. Targeting human Glucokinase for the treatment of type 2 diabetes: an overview of allosteric Glucokinase activators. *J Diabetes Metab Disord.* 2022;21(1):1129-1137. doi:10.1007/s40200-022-01019-x
79. Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes: Implementation of translational genomic research towards precision medicine. *J Diabetes.* 2016;8(6):782-795. doi:10.1111/1753-0407.12446
80. Pearson ER, Starkey BJ, Powell RJ, Gribble FM, Clark PM, Hattersley AT. Genetic cause of hyperglycaemia and response to treatment in diabetes. *Lancet.* 2003;362(9392):1275-1281. doi:10.1016/S0140-6736(03)14571-0
81. Shepherd M, Pearson ER, Houghton J, Salt G, Ellard S, Hattersley AT. No deterioration in glycemic control in HNF-1alpha maturity-onset diabetes of the young following transfer from long-term insulin to sulphonylureas. *Diabetes Care.* 2003;26(11):3191-3192. doi:10.2337/diacare.26.11.3191-a
82. Loos RJJ, Yeo GSH. The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nat Rev Genet.* 2022;23(2):120-133. doi:10.1038/s41576-021-00414-z
83. Société Française d'Endocrinologie. Item 253 - Obésité de l'adulte. Société Française d'Endocrinologie. Published August 24, 2022. <https://www.s fendocrino.org/item-253- obesite-de-ladulte/>
84. Haute Autorité de Santé. Surpoids et obésité chez l'enfant : vers une prise en charge globale et multidimensionnelle. Haute Autorité de Santé. <https://www.has->



- sante.fr/jcms/p\_3320587/fr/surpoids-et-obesite-chez-l-enfant-vers-une-prise-en-charge-globale-et-multidimensionnelle
85. Obesity and overweight. Accessed August 26, 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
  86. Générique obésités de causes rares. Haute Autorité de Santé. Accessed July 18, 2023. [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3280217/fr/generique-obesites-de-causes-rares](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3280217/fr/generique-obesites-de-causes-rares)
  87. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med*. 2011;9:48. doi:10.1186/1741-7015-9-48
  88. Bammann K, Gwozdz W, Lanfer A, et al. Socioeconomic factors and childhood overweight in Europe: results from the multi-centre IDEFICS study. *Pediatr Obes*. 2013;8(1):1-12. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00075.x
  89. Must A, Tybor DJ. Physical activity and sedentary behavior: a review of longitudinal studies of weight and adiposity in youth. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29 Suppl 2:S84-96. doi:10.1038/sj.ijo.0803064
  90. Marshall SJ, Biddle SJH, Gorely T, Cameron N, Murdey I. Relationships between media use, body fatness and physical activity in children and youth: a meta-analysis. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(10):1238-1246. doi:10.1038/sj.ijo.0802706
  91. Dennison BA, Erb TA, Jenkins PL. Television viewing and television in bedroom associated with overweight risk among low-income preschool children. *Pediatrics*. 2002;109(6):1028-1035. doi:10.1542/peds.109.6.1028
  92. Chen X, Beydoun MA, Wang Y. Is sleep duration associated with childhood obesity? A systematic review and meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(2):265-274. doi:10.1038/oby.2007.63
  93. Blaine B. Does depression cause obesity?: A meta-analysis of longitudinal studies of depression and weight control. *J Health Psychol*. 2008;13(8):1190-1197. doi:10.1177/1359105308095977
  94. Mannan M, Mamun A, Doi S, Clavarino A. Prospective Associations between Depression and Obesity for Adolescent Males and Females- A Systematic Review and Meta-Analysis of Longitudinal Studies. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157240. doi:10.1371/journal.pone.0157240
  95. Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA*. 1986;256(1):51-54.
  96. Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(2):398-404. doi:10.1093/ajcn/87.2.398
  97. Carnell S, Haworth CMA, Plomin R, Wardle J. Genetic influence on appetite in children. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(10):1468-1473. doi:10.1038/ijo.2008.127
  98. Silventoinen K, Hasselbalch AL, Lallukka T, et al. Modification effects of physical activity and protein intake on heritability of body size and composition. *Am J Clin Nutr*. 2009;90(4):1096-1103. doi:10.3945/ajcn.2009.27689
  99. Farooqi S, O'Rahilly S. Genetics of obesity in humans. *Endocr Rev*. 2006;27(7):710-718. doi:10.1210/er.2006-0040
  100. Poitou C, Mosbah H, Clément K. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Update on treatments for patients with genetic obesity. *Eur J Endocrinol*. 2020;183(5):R149-R166. doi:10.1530/EJE-20-0363
  101. Syndrome Prader Willi. Haute Autorité de Santé. Accessed July 18, 2023. [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3291625/fr/syndrome-prader-willi](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3291625/fr/syndrome-prader-willi)
  102. Syndrome de Bardet-Biedl. Haute Autorité de Santé. Accessed July 18, 2023. [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_1237001/fr/syndrome-de-bardet-biedl](https://www.has-sante.fr/jcms/c_1237001/fr/syndrome-de-bardet-biedl)

103. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science*. 2007;315(5813):848-853. doi:10.1126/science.1136678
104. Bachmann-Gagescu R, Mefford HC, Cowan C, et al. Recurrent 200-kb deletions of 16p11.2 that include the SH2B1 gene are associated with developmental delay and obesity. *Genet Med*. 2010;12(10):641-647. doi:10.1097/GIM.0b013e3181ef4286
105. Walters RG, Jacquemont S, Valsesia A, et al. A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature*. 2010;463(7281):671-675. doi:10.1038/nature08727
106. Bochukova EG, Huang N, Keogh J, et al. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature*. 2010;463(7281):666-670. doi:10.1038/nature08689
107. Jacquemont S, Reymond A, Zufferey F, et al. Mirror extreme BMI phenotypes associated with gene dosage at the chromosome 16p11.2 locus. *Nature*. 2011;478(7367):97-102. doi:10.1038/nature10406
108. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*. 1996;84(3):491-495. doi:10.1016/s0092-8674(00)81294-5
109. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. 1997;387(6636):903-908. doi:10.1038/43185
110. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998;392(6674):398-401. doi:10.1038/32911
111. Jackson RS, Creemers JW, Ohagi S, et al. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet*. 1997;16(3):303-306. doi:10.1038/ng0797-303
112. Yeo GS, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet*. 1998;20(2):111-112. doi:10.1038/2404
113. 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;20(2):113-114. doi:10.1038/2407
114. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Grüters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet*. 1998;19(2):155-157. doi:10.1038/509
115. van der Klaauw AA, Croizier S, Mendes de Oliveira E, et al. Human Semaphorin 3 Variants Link Melanocortin Circuit Development and Energy Balance. *Cell*. 2019;176(4):729-742.e18. doi:10.1016/j.cell.2018.12.009
116. Saeed S, Arslan M, Froguel P. Genetics of Obesity in Consanguineous Populations: Toward Precision Medicine and the Discovery of Novel Obesity Genes. *Obesity (Silver Spring)*. 2018;26(3):474-484. doi:10.1002/oby.22064
117. Saeed S, Bonnefond A, Manzoor J, et al. Genetic variants in LEP, LEPR, and MC4R explain 30% of severe obesity in children from a consanguineous population. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(8):1687-1695. doi:10.1002/oby.21142
118. Saeed S, Arslan M, Manzoor J, et al. Genetic Causes of Severe Childhood Obesity: A Remarkably High Prevalence in an Inbred Population of Pakistan. *Diabetes*. 2020;69(7):1424-1438. doi:10.2337/db19-1238

119. Kurokawa N, Young EH, Oka Y, et al. The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(8):1240-1249. doi:10.1038/ijo.2008.90
120. Shugart YY, Chen L, Day INM, et al. Two British women studies replicated the association between the Val66Met polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and BMI. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(8):1050-1055. doi:10.1038/ejhg.2008.272
121. Benzinou M, Chèvre JC, Ward KJ, et al. Endocannabinoid receptor 1 gene variations increase risk for obesity and modulate body mass index in European populations. *Hum Mol Genet*. 2008;17(13):1916-1921. doi:10.1093/hmg/ddn089
122. Wang D, Ma J, Zhang S, et al. Association of the MC4R V103I polymorphism with obesity: a Chinese case-control study and meta-analysis in 55,195 individuals. *Obesity (Silver Spring)*. 2010;18(3):573-579. doi:10.1038/oby.2009.268
123. Nead KT, Li A, Wehner MR, et al. Contribution of common non-synonymous variants in PCSK1 to body mass index variation and risk of obesity: a systematic review and meta-analysis with evidence from up to 331 175 individuals. *Hum Mol Genet*. 2015;24(12):3582-3594. doi:10.1093/hmg/ddv097
124. Tönjes A, Scholz M, Loeffler M, Stumvoll M. Association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma with Pre-diabetic phenotypes: meta-analysis of 57 studies on nondiabetic individuals. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2489-2497. doi:10.2337/dc06-0513
125. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(4):529-644. doi:10.1038/oby.2006.71
126. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316(5826):889-894. doi:10.1126/science.1141634
127. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet*. 2007;3(7):e115. doi:10.1371/journal.pgen.0030115
128. Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M, et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D1005-D1012. doi:10.1093/nar/gky1120
129. Yengo L, Sidorenko J, Kemper KE, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700000 individuals of European ancestry. *Hum Mol Genet*. 2018;27(20):3641-3649. doi:10.1093/hmg/ddy271
130. Javed A, Jumean M, Murad MH, et al. Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Obes*. 2015;10(3):234-244. doi:10.1111/ijpo.242
131. Kilpeläinen TO, Zillikens MC, Stančáková A, et al. Genetic variation near IRS1 associates with reduced adiposity and an impaired metabolic profile. *Nat Genet*. 2011;43(8):753-760. doi:10.1038/ng.866
132. Lu Y, Day FR, Gustafsson S, et al. New loci for body fat percentage reveal link between adiposity and cardiometabolic disease risk. *Nat Commun*. 2016;7:10495. doi:10.1038/ncomms10495
133. Zillikens MC, Demissie S, Hsu YH, et al. Large meta-analysis of genome-wide association studies identifies five loci for lean body mass. *Nat Commun*. 2017;8(1):80. doi:10.1038/s41467-017-00031-7
134. Kilpeläinen TO, Carli JFM, Skowronski AA, et al. Genome-wide meta-analysis uncovers novel loci influencing circulating leptin levels. *Nat Commun*. 2016;7:10494. doi:10.1038/ncomms10494

135. Sun Q, Cornelis MC, Kraft P, et al. Genome-wide association study identifies polymorphisms in LEPR as determinants of plasma soluble leptin receptor levels. *Hum Mol Genet.* 2010;19(9):1846-1855. doi:10.1093/hmg/ddq056
136. Bradfield JP, Vogelesang S, Felix JF, et al. A trans-ancestral meta-analysis of genome-wide association studies reveals loci associated with childhood obesity. *Hum Mol Genet.* 2019;28(19):3327-3338. doi:10.1093/hmg/ddz161
137. Felix JF, Bradfield JP, Monnereau C, et al. Genome-wide association analysis identifies three new susceptibility loci for childhood body mass index. *Hum Mol Genet.* 2016;25(2):389-403. doi:10.1093/hmg/ddv472
138. Vogelesang S, Bradfield JP, Ahluwalia TS, et al. Novel loci for childhood body mass index and shared heritability with adult cardiometabolic traits. *PLoS Genet.* 2020;16(10):e1008718. doi:10.1371/journal.pgen.1008718
139. Martin AR, Kanai M, Kamatani Y, Okada Y, Neale BM, Daly MJ. Clinical use of current polygenic risk scores may exacerbate health disparities. *Nat Genet.* 2019;51(4):584-591. doi:10.1038/s41588-019-0379-x
140. Hendricks AE, Bochukova EG, Marenne G, et al. Rare Variant Analysis of Human and Rodent Obesity Genes in Individuals with Severe Childhood Obesity. *Sci Rep.* 2017;7(1):4394. doi:10.1038/s41598-017-03054-8
141. Turcot V, Lu Y, Highland HM, et al. Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity. *Nat Genet.* 2018;50(1):26-41. doi:10.1038/s41588-017-0011-x
142. Emdin CA, Khera AV, Chaffin M, et al. Analysis of predicted loss-of-function variants in UK Biobank identifies variants protective for disease. *Nat Commun.* 2018;9(1):1613. doi:10.1038/s41467-018-03911-8
143. Akbari P, Gilani A, Sosina O, et al. Sequencing of 640,000 exomes identifies GPR75 variants associated with protection from obesity. *Science.* 2021;373(6550):eabf8683. doi:10.1126/science.abf8683
144. Winkler TW, Justice AE, Graff M, et al. The Influence of Age and Sex on Genetic Associations with Adult Body Size and Shape: A Large-Scale Genome-Wide Interaction Study. *PLoS Genet.* 2015;11(10):e1005378. doi:10.1371/journal.pgen.1005378
145. Graff M, Scott RA, Justice AE, et al. Genome-wide physical activity interactions in adiposity - A meta-analysis of 200,452 adults. *PLoS Genet.* 2017;13(4):e1006528. doi:10.1371/journal.pgen.1006528
146. Smith CE, Follis JL, Dashti HS, et al. Genome-Wide Interactions with Dairy Intake for Body Mass Index in Adults of European Descent. *Mol Nutr Food Res.* 2018;62(3). doi:10.1002/mnfr.201700347
147. Justice AE, Winkler TW, Feitosa MF, et al. Genome-wide meta-analysis of 241,258 adults accounting for smoking behaviour identifies novel loci for obesity traits. *Nat Commun.* 2017;8:14977. doi:10.1038/ncomms14977
148. Qi Q, Chu AY, Kang JH, et al. Fried food consumption, genetic risk, and body mass index: gene-diet interaction analysis in three US cohort studies. *BMJ.* 2014;348:g1610. doi:10.1136/bmj.g1610
149. Kilpeläinen TO, Qi L, Brage S, et al. Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children. *PLoS Med.* 2011;8(11):e1001116. doi:10.1371/journal.pmed.1001116
150. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet.* 1997;27(4):325-351. doi:10.1023/a:1025635913927

151. Elks CE, den Hoed M, Zhao JH, et al. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:29. doi:10.3389/fendo.2012.00029
152. Khera AV, Chaffin M, Wade KH, et al. Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. *Cell*. 2019;177(3):587-596.e9. doi:10.1016/j.cell.2019.03.028
153. Saeed S, Bonnefond A, Tamanini F, et al. Loss-of-function mutations in ADCY3 cause monogenic severe obesity. *Nat Genet*. 2018;50(2):175-179. doi:10.1038/s41588-017-0023-6
154. Siljee JE, Wang Y, Bernard AA, et al. Subcellular localization of MC4R with ADCY3 at neuronal primary cilia underlies a common pathway for genetic predisposition to obesity. *Nat Genet*. 2018;50(2):180-185. doi:10.1038/s41588-017-0020-9
155. Wang Y, Bernard A, Comblain F, et al. Melanocortin 4 receptor signals at the neuronal primary cilium to control food intake and body weight. *J Clin Invest*. 2021;131(9):e142064, 142064. doi:10.1172/JCI142064
156. Chami N, Preuss M, Walker RW, Moscati A, Loos RJJ. The role of polygenic susceptibility to obesity among carriers of pathogenic mutations in MC4R in the UK Biobank population. *PLoS Med*. 2020;17(7):e1003196. doi:10.1371/journal.pmed.1003196
157. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med*. 1999;341(12):879-884. doi:10.1056/NEJM199909163411204
158. Farooqi IS, O'Rahilly S. 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *J Endocrinol*. 2014;223(1):T63-70. doi:10.1530/JOE-14-0480
159. Markham A. Setmelanotide: First Approval. *Drugs*. 2021;81(3):397-403. doi:10.1007/s40265-021-01470-9
160. Clément K, van den Akker E, Argente J, et al. Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency: single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(12):960-970. doi:10.1016/S2213-8587(20)30364-8
161. Kühnen P, Clément K, Wiegand S, et al. Proopiomelanocortin Deficiency Treated with a Melanocortin-4 Receptor Agonist. *N Engl J Med*. 2016;375(3):240-246. doi:10.1056/NEJMoa1512693
162. Clément K, Biebermann H, Farooqi IS, et al. MC4R agonism promotes durable weight loss in patients with leptin receptor deficiency. *Nat Med*. 2018;24(5):551-555. doi:10.1038/s41591-018-0015-9
163. Saeed S, Khanam R, Janjua QM, et al. High morbidity and mortality in children with untreated congenital deficiency of leptin or its receptor. *Cell Rep Med*. 2023;4(9):101187. doi:10.1016/j.xcrm.2023.101187
164. Mosbah H, Donadille B, Vatier C, et al. Dunnigan lipodystrophy syndrome: French National Diagnosis and Care Protocol (PNDS; Protocole National de Diagnostic et de Soins). *Orphanet J Rare Dis*. 2022;17(Suppl 1):170. doi:10.1186/s13023-022-02308-7
165. Zammouri J, Vatier C, Capel E, et al. Molecular and Cellular Bases of Lipodystrophy Syndromes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:803189. doi:10.3389/fendo.2021.803189
166. Antuna-Puente B, Boutet E, Vigouroux C, et al. Higher adiponectin levels in patients with Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy due to seipin as compared with 1-acylglycerol-3-phosphate-o-acyltransferase-2 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(3):1463-1468. doi:10.1210/jc.2009-1824
167. Polyzos SA, Perakakis N, Mantzoros CS. Fatty liver in lipodystrophy: A review with a focus on therapeutic perspectives of adiponectin and/or leptin replacement. *Metabolism*. 2019;96:66-82. doi:10.1016/j.metabol.2019.05.001

168. Vasan SK, Osmond C, Canoy D, et al. Comparison of regional fat measurements by dual-energy X-ray absorptiometry and conventional anthropometry and their association with markers of diabetes and cardiovascular disease risk. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(4):850-857. doi:10.1038/ijo.2017.289
169. Stefan N. Causes, consequences, and treatment of metabolically unhealthy fat distribution. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(7):616-627. doi:10.1016/S2213-8587(20)30110-8
170. Köbberling J, Dunnigan MG. Familial partial lipodystrophy: two types of an X linked dominant syndrome, lethal in the hemizygous state. *J Med Genet*. 1986;23(2):120-127. doi:10.1136/jmg.23.2.120
171. Garg A, Peshock RM, Fleckenstein JL. Adipose tissue distribution pattern in patients with familial partial lipodystrophy (Dunnigan variety). *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(1):170-174. doi:10.1210/jcem.84.1.5383
172. Mosbah H, Vantyghem MC, Vazier C, et al. Lipodystrophies génétiques partielles, de la physiopathologie à la prise en charge. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 2021;15(2):171-178. doi:10.1016/j.mmm.2021.01.007
173. Fernández-Pombo A, Sánchez-Iglesias S, Cobelo-Gómez S, Hermida-Ameijeiras Á, Araújo-Vilar D. Familial partial lipodystrophy syndromes. *Presse Med*. 2021;50(3):104071. doi:10.1016/j.lpm.2021.104071
174. Capeau J, Magré J, Lascols O, Caron M, Béréziat V, Vigouroux C. [Primary lipodystrophies]. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2007;68(1):10-20. doi:10.1016/j.ando.2006.12.003
175. Semple RK, Pate KA, Auh S, ADA/EASD PMDI, Brown RJ. Systematic review of genotype-stratified treatment for monogenic insulin resistance. *medRxiv*. Published online April 21, 2023:2023.04.17.23288671. doi:10.1101/2023.04.17.23288671
176. Collet-Gaudillat C, Billon-Bancel A, Beressi JP. Long-term improvement of metabolic control with pioglitazone in a woman with diabetes mellitus related to Dunnigan syndrome: a case report. *Diabetes Metab*. 2009;35(2):151-154. doi:10.1016/j.diabet.2009.01.001
177. Owen KR, Donohoe M, Ellard S, Hattersley AT. Response to treatment with rosiglitazone in familial partial lipodystrophy due to a mutation in the LMNA gene. *Diabet Med*. 2003;20(10):823-827. doi:10.1046/j.1464-5491.2003.01034.x
178. Dawn Teare M, Barrett JH. Genetic linkage studies. *Lancet*. 2005;366(9490):1036-1044. doi:10.1016/S0140-6736(05)67382-5
179. Froguel P, Vaxillaire M, Sun F, et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature*. 1992;356(6365):162-164. doi:10.1038/356162a0
180. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
181. Fonseca SG, Fukuma M, Lipson KL, et al. WFS1 is a novel component of the unfolded protein response and maintains homeostasis of the endoplasmic reticulum in pancreatic beta-cells. *J Biol Chem*. 2005;280(47):39609-39615. doi:10.1074/jbc.M507426200
182. Scully KJ, Wolfsdorf JJ. Efficacy of GLP-1 Agonist Therapy in Autosomal Dominant WFS1-Related Disorder: A Case Report. *Horm Res Paediatr*. Published online October 19, 2020:1-6. doi:10.1159/000510852
183. Bonycastle LL, Chines PS, Hara T, et al. Autosomal dominant diabetes arising from a Wolfram syndrome 1 mutation. *Diabetes*. 2013;62(11):3943-3950. doi:10.2337/db13-0571
184. Rendtorff ND, Lodahl M, Boulahbel H, et al. Identification of p.A684V missense mutation in the WFS1 gene as a frequent cause of autosomal dominant optic atrophy and hearing impairment. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(6):1298-1313. doi:10.1002/ajmg.a.33970

185. Hogewind BFT, Pennings RJE, Hol FA, et al. Autosomal dominant optic neuropathy and sensorineural hearing loss associated with a novel mutation of WFS1. *Mol Vis*. 2010;16:26-35.
186. Bespalova IN, Van Camp G, Bom SJH, et al. Mutations in the Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) are a common cause of low frequency sensorineural hearing loss. *Hum Mol Genet*. 2001;10(22):2501-2508. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6198816/>
187. Rohayem J, Ehlers C, Wiedemann B, et al. Diabetes and neurodegeneration in Wolfram syndrome: a multicenter study of phenotype and genotype. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1503-1510. doi:10.2337/dc10-1937
188. Lemaire K, Schuit F. Integrating insulin secretion and ER stress in pancreatic  $\beta$ -cells. *Nat Cell Biol*. 2012;14(10):979-981. doi:10.1038/ncb2594
189. de Muijnck C, Brink JBT, Bergen AA, Boon CJF, van Genderen MM. Delineating Wolfram-like syndrome: A systematic review and discussion of the WFS1-associated disease spectrum. *Surv Ophthalmol*. 2023;68(4):641-654. doi:10.1016/j.survophthal.2023.01.012
190. da Costa-Nunes JA, Noordermeer D. TADs: Dynamic structures to create stable regulatory functions. *Curr Opin Struct Biol*. 2023;81:102622. doi:10.1016/j.sbi.2023.102622
191. Paik S, Maule F, Gallo M. Dysregulation of chromatin organization in pediatric and adult brain tumors: oncoepigenomic contributions to tumorigenesis and cancer stem cell properties. *Genome*. 2021;64(4):326-336. doi:10.1139/gen-2020-0097
192. Rao SSP, Huntley MH, Durand NC, et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell*. 2014;159(7):1665-1680. doi:10.1016/j.cell.2014.11.021
193. Dixon JR, Selvaraj S, Yue F, et al. Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions. *Nature*. 2012;485(7398):376-380. doi:10.1038/nature11082
194. Nora EP, Dekker J, Heard E. Segmental folding of chromosomes: a basis for structural and regulatory chromosomal neighborhoods? *Bioessays*. 2013;35(9):818-828. doi:10.1002/bies.201300040
195. Lupiáñez DG, Kraft K, Heinrich V, et al. Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell*. 2015;161(5):1012-1025. doi:10.1016/j.cell.2015.04.004
196. Flavahan WA, Drier Y, Liao BB, et al. Insulator dysfunction and oncogene activation in IDH mutant gliomas. *Nature*. 2016;529(7584):110-114. doi:10.1038/nature16490
197. Laver TW, Wakeling MN, Caswell RC, et al. Chromosome 20p11.2 deletions cause congenital hyperinsulinism via the likely disruption of FOXA2. Published online August 21, 2023;2023.08.16.23294161. doi:10.1101/2023.08.16.23294161
198. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012;337(6096):816-821. doi:10.1126/science.1225829
199. Qi LS, Larson MH, Gilbert LA, et al. Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell*. 2021;184(3):844. doi:10.1016/j.cell.2021.01.019
200. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat Genet*. 1997;17(2):138-139. doi:10.1038/ng1097-138
201. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat Genet*. 1997;15(1):106-110. doi:10.1038/ng0197-106
202. De Franco E, Shaw-Smith C, Flanagan SE, et al. Biallelic PDX1 (insulin promoter factor 1) mutations causing neonatal diabetes without exocrine pancreatic insufficiency. *Diabet Med*. 2013;30(5):e197-200. doi:10.1111/dme.12122

203. Wright NM, Metzger DL, Borowitz SM, Clarke WL. Permanent neonatal diabetes mellitus and pancreatic exocrine insufficiency resulting from congenital pancreatic agenesis. *Am J Dis Child*. 1993;147(6):607-609. doi:10.1001/archpedi.1993.02160300013005
204. Cloquet AR, Egan JM, Stoffers DA, et al. Impaired insulin secretion and increased insulin sensitivity in familial maturity-onset diabetes of the young 4 (insulin promoter factor 1 gene). *Diabetes*. 2000;49(11):1856-1864. doi:10.2337/diabetes.49.11.1856
205. Schwitzgebel VM, Mamin A, Brun T, et al. Agenesis of human pancreas due to decreased half-life of insulin promoter factor 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(9):4398-4406. doi:10.1210/jc.2003-030046
206. Fajans SS, Bell GI, Paz VP, et al. Obesity and hyperinsulinemia in a family with pancreatic agenesis and MODY caused by the IPF1 mutation Pro63fsX60. *Transl Res*. 2010;156(1):7-14. doi:10.1016/j.trsl.2010.03.003
207. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia*. 2013;56(9):1958-1963. doi:10.1007/s00125-013-2962-5
208. Sahebi L, Niknafs N, Dalili H, et al. Iranian neonatal diabetes mellitus due to mutation in PDX1 gene: a case report. *J Med Case Rep*. 2019;13(1):258. doi:10.1186/s13256-019-2149-x
209. Nicolino M, Claiborn KC, Senée V, Boland A, Stoffers DA, Julier C. A novel hypomorphic PDX1 mutation responsible for permanent neonatal diabetes with subclinical exocrine deficiency. *Diabetes*. 2010;59(3):733-740. doi:10.2337/db09-1284
210. Thomas IH, Saini NK, Adhikari A, et al. Neonatal diabetes mellitus with pancreatic agenesis in an infant with homozygous IPF-1 Pro63fsX60 mutation. *Pediatr Diabetes*. 2009;10(7):492-496. doi:10.1111/j.1399-5448.2009.00526.x
211. Colclough K, Ellard S, Hattersley A, Patel K. Syndromic Monogenic Diabetes Genes Should Be Tested in Patients With a Clinical Suspicion of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Diabetes*. 2022;71(3):530-537. doi:10.2337/db21-0517
212. Yoshiji S, Horikawa Y, Kubota S, et al. First Japanese Family With PDX1-MODY (MODY4): A Novel PDX1 Frameshift Mutation, Clinical Characteristics, and Implications. *J Endocr Soc*. 2022;6(1):bvab159. doi:10.1210/jendso/bvab159
213. Macfarlane WM, Frayling TM, Ellard S, et al. Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 1999;104(9):R33-39. doi:10.1172/JCI7449
214. Al-Kandari H, Al-Abdulrazzaq D, Davidsson L, et al. Identification of Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY) mutations in a country where diabetes is endemic. *Sci Rep*. 2021;11(1):16060. doi:10.1038/s41598-021-95552-z
215. Kulkarni A, Sharma VK, Nabi F. PDX1 Gene Mutation with Permanent Neonatal Diabetes Mellitus with Annular Pancreas, Duodenal Atresia, Hypoplastic Gall Bladder and Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Indian Pediatr*. 2017;54(12):1052-1053. doi:10.1007/s13312-017-1211-2
216. Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Sulem P, et al. Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2014;46(3):294-298. doi:10.1038/ng.2882
217. Cockburn BN, Bermano G, Boodram LLG, et al. Insulin promoter factor-1 mutations and diabetes in Trinidad: identification of a novel diabetes-associated mutation (E224K) in an Indo-Trinidadian family. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):971-978. doi:10.1210/jc.2003-031282
218. Lian H, Gong S, Li M, et al. Prevalence and Clinical Characteristics of PDX1 Variant Induced - Diabetes in Chinese Early Onset Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. Published online June 6, 2023:dgad303. doi:10.1210/clinem/dgad303



219. Nasteska D, Fine NHF, Ashford FB, et al. PDX1LOW MAFALOW  $\beta$ -cells contribute to islet function and insulin release. *Nat Commun.* 2021;12(1):674. doi:10.1038/s41467-020-20632-z
220. Abreu G de M, Tarantino RM, da Fonseca ACP, et al. PDX1-MODY: A rare missense mutation as a cause of monogenic diabetes. *Eur J Med Genet.* 2021;64(5):104194. doi:10.1016/j.ejmg.2021.104194
221. Caetano LA, Santana LS, Costa-Riquetto AD, et al. PDX1 -MODY and dorsal pancreatic agenesis: New phenotype of a rare disease. *Clin Genet.* 2018;93(2):382-386. doi:10.1111/cge.13044
222. Mangrum C, Rush E, Shivaswamy V. Genetically Targeted Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Use in a Patient with a Novel Mutation of MODY type 4. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes.* 2015;8:83-86. doi:10.4137/CMED.S31926
223. Courbage S, Poitou C, Le Beyec-Le Bihan J, et al. Implication of heterozygous variants in genes of the leptin-melanocortin pathway in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* Published online June 7, 2021:dgab404. doi:10.1210/clinem/dgab404
224. Mendiratta MS, Yang Y, Balazs AE, et al. Early onset obesity and adrenal insufficiency associated with a homozygous POMC mutation. *Int J Pediatr Endocrinol.* 2011;2011(1):5. doi:10.1186/1687-9856-2011-5
225. Gregoric N, Groselj U, Bratina N, et al. Two Cases With an Early Presented Proopiomelanocortin Deficiency-A Long-Term Follow-Up and Systematic Literature Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:689387. doi:10.3389/fendo.2021.689387
226. Hung CN, Poon WT, Lee CY, Law CY, Chan AYW. A case of early-onset obesity, hypocortisolism, and skin pigmentation problem due to a novel homozygous mutation in the proopiomelanocortin (POMC) gene in an Indian boy. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(1-2):175-179. doi:10.1515/jpem-2011-0437
227. Amin A, Dhillon WS, Murphy KG. The Central Effects of Thyroid Hormones on Appetite. *J Thyroid Res.* 2011;2011:306510. doi:10.4061/2011/306510
228. Harris M, Aschkenasi C, Elias CF, et al. Transcriptional regulation of the thyrotropin-releasing hormone gene by leptin and melanocortin signaling. *J Clin Invest.* 2001;107(1):111-120. doi:10.1172/JCI10741
229. Clément K, Dubern B, Mencarelli M, et al. Unexpected endocrine features and normal pigmentation in a young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(12):4955-4962. doi:10.1210/jc.2008-1164
230. Hill JW, Elmquist JK, Elias CF. Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(5):E827-832. doi:10.1152/ajpendo.00670.2007
231. Evans JJ, Anderson GM. Balancing ovulation and anovulation: integration of the reproductive and energy balance axes by neuropeptides. *Hum Reprod Update.* 2012;18(3):313-332. doi:10.1093/humupd/dms004
232. Sutton GM, Perez-Tilve D, Nogueiras R, et al. The melanocortin-3 receptor is required for entrainment to meal intake. *J Neurosci.* 2008;28(48):12946-12955. doi:10.1523/JNEUROSCI.3615-08.2008
233. Lee YS, Poh LKS, Loke KY. A novel melanocortin 3 receptor gene (MC3R) mutation associated with severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(3):1423-1426. doi:10.1210/jcem.87.3.8461
234. Lam BYH, Williamson A, Finer S, et al. MC3R links nutritional state to childhood growth and the timing of puberty. *Nature.* 2021;599(7885):436-441. doi:10.1038/s41586-021-04088-9
235. Yanik T, Durhan ST. Specific Functions of Melanocortin 3 Receptor (MC3R). *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2023;15(1):1-6. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2022.2022-5-21

236. Zheng Y, Rajcsanyi LS, Peters T, et al. Evaluation of the MC3R gene pertaining to body weight and height regulation and puberty development. *Sci Rep*. 2023;13(1):10419. doi:10.1038/s41598-023-37344-1
237. Yin Y, Li Y, Zhang W. The growth hormone secretagogue receptor: its intracellular signaling and regulation. *Int J Mol Sci*. 2014;15(3):4837-4855. doi:10.3390/ijms15034837
238. Wellman M, Abizaid A. Growth Hormone Secretagogue Receptor Dimers: A New Pharmacological Target. *eNeuro*. 2015;2(2):ENEURO.0053-14.2015. doi:10.1523/ENEURO.0053-14.2015
239. Rediger A, Piechowski CL, Habegger K, et al. MC4R dimerization in the paraventricular nucleus and GHSR/MC3R heterodimerization in the arcuate nucleus: is there relevance for body weight regulation? *Neuroendocrinology*. 2012;95(4):277-288. doi:10.1159/000334903
240. Wachira SJM, Guruswamy B, Uradu L, Hughes-Darden CA, Denaro FJ. Activation and endocytic internalization of melanocortin 3 receptor in neuronal cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1096:271-286. doi:10.1196/annals.1397.093
241. Hussain A, Farzam K. Setmelanotide. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed September 16, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589641/>
242. Dutour A, Roll P, Gaborit B, et al. High prevalence of laminopathies among patients with metabolic syndrome. *Hum Mol Genet*. 2011;20(19):3779-3786. doi:10.1093/hmg/ddr294
243. Galant D, Gaborit B, Desgrouas C, et al. A Heterozygous ZMPSTE24 Mutation Associated with Severe Metabolic Syndrome, Ectopic Fat Accumulation, and Dilated Cardiomyopathy. *Cells*. 2016;5(2):E21. doi:10.3390/cells5020021
244. Dittmer TA, Misteli T. The lamin protein family. *Genome Biol*. 2011;12(5):222. doi:10.1186/gb-2011-12-5-222
245. Wood KM, Spear ED, Mossberg OW, Odinammadu KO, Xu W, Michaelis S. Defining substrate requirements for cleavage of farnesylated prelamin A by the integral membrane zinc metalloprotease ZMPSTE24. *PLoS One*. 2020;15(12):e0239269. doi:10.1371/journal.pone.0239269
246. Butin-Israeli V, Adam SA, Goldman AE, Goldman RD. Nuclear lamin functions and disease. *Trends Genet*. 2012;28(9):464-471. doi:10.1016/j.tig.2012.06.001
247. Gerace L, Huber MD. Nuclear lamina at the crossroads of the cytoplasm and nucleus. *J Struct Biol*. 2012;177(1):24-31. doi:10.1016/j.jsb.2011.11.007
248. Gruenbaum Y, Foisner R. Lamins: nuclear intermediate filament proteins with fundamental functions in nuclear mechanics and genome regulation. *Annu Rev Biochem*. 2015;84:131-164. doi:10.1146/annurev-biochem-060614-034115
249. Hitzert MM, van der Crabben SN, Baldewsingh G, et al. Mandibuloacral dysplasia type B (MADB): a cohort of eight patients from Suriname with a homozygous founder mutation in ZMPSTE24 (FACE1), clinical diagnostic criteria and management guidelines. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):294. doi:10.1186/s13023-019-1269-0
250. Thill M, Nguyen TD, Wehnert M, et al. Restrictive dermopathy: a rare laminopathy. *Arch Gynecol Obstet*. 2008;278(3):201-208. doi:10.1007/s00404-008-0676-6
251. Navarro CL, Esteves-Vieira V, Courrier S, et al. New ZMPSTE24 (FACE1) mutations in patients affected with restrictive dermopathy or related progeroid syndromes and mutation update. *Eur J Hum Genet*. 2014;22(8):1002-1011. doi:10.1038/ejhg.2013.258
252. Cenni V, D'Apice MR, Garagnani P, et al. Mandibuloacral dysplasia: A premature ageing disease with aspects of physiological ageing. *Ageing Res Rev*. 2018;42:1-13. doi:10.1016/j.arr.2017.12.001
253. Agarwal AK, Fryns JP, Auchus RJ, Garg A. Zinc metalloproteinase, ZMPSTE24, is mutated in mandibuloacral dysplasia. *Hum Mol Genet*. 2003;12(16):1995-2001. doi:10.1093/hmg/ddg213

254. Barrowman J, Wiley PA, Hudon-Miller SE, Hrycyna CA, Michaelis S. Human ZMPSTE24 disease mutations: residual proteolytic activity correlates with disease severity. *Hum Mol Genet.* 2012;21(18):4084-4093. doi:10.1093/hmg/dds233
255. Spear ED, Hsu ET, Nie L, Carpenter EP, Hrycyna CA, Michaelis S. ZMPSTE24 missense mutations that cause progeroid diseases decrease prelamin A cleavage activity and/or protein stability. *Dis Model Mech.* 2018;11(7):dmm033670. doi:10.1242/dmm.033670
256. Agarwal AK, Garg A. Genetic disorders of adipose tissue development, differentiation, and death. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006;7:175-199. doi:10.1146/annurev.genom.7.080505.115715
257. Broers JLV, Ramaekers FCS, Bonne G, Yaou RB, Hutchison CJ. Nuclear lamins: laminopathies and their role in premature ageing. *Physiol Rev.* 2006;86(3):967-1008. doi:10.1152/physrev.00047.2005
258. Choin J, Mendoza-Revilla J, Arauna LR, et al. Genomic insights into population history and biological adaptation in Oceania. *Nature.* 2021;592(7855):583-589. doi:10.1038/s41586-021-03236-5
259. Pugach I, Duggan AT, Merriwether DA, Friedlaender FR, Friedlaender JS, Stoneking M. The Gateway from Near into Remote Oceania: New Insights from Genome-Wide Data. *Mol Biol Evol.* 2018;35(4):871-886. doi:10.1093/molbev/msx333
260. Quintana Murci L. *Le Peuple Des Humains.*
261. Gosling AL, Buckley HR, Matisoo-Smith E, Merriman TR. Pacific Populations, Metabolic Disease and “Just-So Stories”: A Critique of the “Thrifty Genotype” Hypothesis in Oceania. *Ann Hum Genet.* 2015;79(6):470-480. doi:10.1111/ahg.12132
262. Dron JS, Wang J, McIntyre AD, et al. Six years’ experience with LipidSeq: clinical and research learnings from a hybrid, targeted sequencing panel for dyslipidemias. *BMC Med Genomics.* 2020;13(1):23. doi:10.1186/s12920-020-0669-2

## XI. Annexes

RESEARCH

Open Access



# Compound genetic etiology in a patient with a syndrome including diabetes, intellectual deficiency and distichiasis

Lauriane Le Collen<sup>1,2,3,4\*</sup>, Brigitte Delemer<sup>1,5\*</sup>, Marta Spodenkiewicz<sup>4</sup>, Pascale Cornillet Lefebvre<sup>6</sup>, Emmanuelle Durand<sup>2,3</sup>, Emmanuel Vaillant<sup>2,3</sup>, Alaa Badreddine<sup>2,3</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>2,3</sup>, Tarik Ait Mouhoub<sup>4</sup>, Guillaume Jouret<sup>4,7</sup>, Pauline Juttet<sup>8</sup>, Pierre François Souchon<sup>9</sup>, Martine Vaxillaire<sup>2,3</sup>, Philippe Froguel<sup>2,3\*</sup>, Amélie Bonnefond<sup>2,3\*†</sup> and Martine Doco Fenzy<sup>4,10\*†</sup>

## Abstract

**Background:** We studied a young woman with atypical diabetes associated with mild intellectual disability, lymphedema distichiasis syndrome (LDS) and polymalformative syndrome including distichiasis. We used different genetic tools to identify causative pathogenic mutations and/or copy number variations.

**Results:** Although proband's, diabetes mellitus occurred during childhood, type 1 diabetes was unlikely due to the absence of detectable autoimmunity. DNA microarray analysis first identified a de novo, heterozygous deletion at the chr16q24.2 locus. Previously, thirty-three pathogenic or likely pathogenic deletions encompassing this locus have been reported in patients presenting with intellectual deficiency, obesity and/or lymphedema but not with diabetes. Of note, the deletion encompassed two topological association domains, whose one included *FOXC2* that is known to be linked with LDS. Via whole-exome sequencing, we found a heterozygous, likely pathogenic variant in *WFS1* (encoding wolframin endoplasmic reticulum [ER] transmembrane glycoprotein) which was inherited from her father who also had diabetes. *WFS1* is known to be involved in monogenic diabetes. We also found a likely pathogenic variant in *USP9X* (encoding ubiquitin specific peptidase 9 X-linked) that is involved in X-linked intellectual disability, which was inherited from her mother who had dyscalculia and dyspraxia.

**Conclusions:** Our comprehensive genetic analysis suggested that the peculiar phenotypes of our patient were possibly due to the combination of multiple genetic causes including chr16q24.2 deletion, and two likely pathogenic variants in *WFS1* and *USP9X*.

**Keywords:** Childhood onset diabetes, Genotype–phenotype relations, Genetic disorders, Genetic analysis, Intellectual disability, Wolfram syndrome

\*Correspondence: lle-collen@chu-reims.fr; bdelemer@chu-reims.fr; p.froguel@imperial.ac.uk; amelie.bonnefond@cnrs.fr; mdocofenzy@chu-reims.fr

†Amélie Bonnefond and Martine Doco Fenzy have contributed equally to this work

<sup>1</sup> Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France

<sup>2</sup> Inserm/CNRS UMR 1283/8199, Pasteur Institute of Lille, EGID, Lille, France

<sup>4</sup> Department of Genetic, University Hospital Center of Reims, Reims, France

Full list of author information is available at the end of the article

## Background

Type 2 diabetes is a non-autoimmune, multifactorial metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia resulting from impaired insulin secretion and altered action of insulin [1]. Type 2 diabetes depends on various environmental components while having a high heritability ranging from 40 to 70% [2]. Apart from common type 2 diabetes that affects most cases with non-autoimmune



diabetes, there are atypical, monogenic forms of diabetes which are usually rare and severe, with an early onset. Pathogenic mutations in more than 40 genes have now been described in patients with monogenic diabetes. They cause various conditions including neonatal diabetes, maturity-onset diabetes of the young (MODY), and diabetes-associated syndromes (e.g. Wolfram syndrome due to variants in *WFS1*, Wolcott–Rallison syndrome) [3]. In Wolfram syndrome (OMIM #222300), juvenile-onset diabetes mellitus can be isolated or associated with more complex phenotypes including optic atrophy, diabetes insipidus, and deafness. Several genes linked with monogenic diabetes are actionable (such as *KCNJ11* [5], *ABCC8* [5], *GCK* [5], *HNF1A* [5], *HNF1B* [5, 6] or *HNF4A* [5]), implying a substantial change in care for the carriers of a pathogenic variant (such as specific therapeutic management and monitoring) [4, 5]. Therefore, the genetic diagnosis of patients with a suspicion of monogenic diabetes has become crucial.

Here, we performed karyotyping, DNA microarray, and whole-exome sequencing in order to detect point mutations and/or copy number variations (CNVs) putatively causing a complex syndrome (including an atypical diabetes and polymalformative syndrome) in a young woman.

## Results

### Phenome of the case report

A 17-year-old girl was referred after a pediatric follow-up for a non-autoimmune diabetes and a mild intellectual disability. She was from a non-consanguineous family and had two healthy siblings.

On the maternal side, her mother is an only child, and presented with mild dyscalculia and dyspraxia. None other members of this part of the family had an intellectual disability.

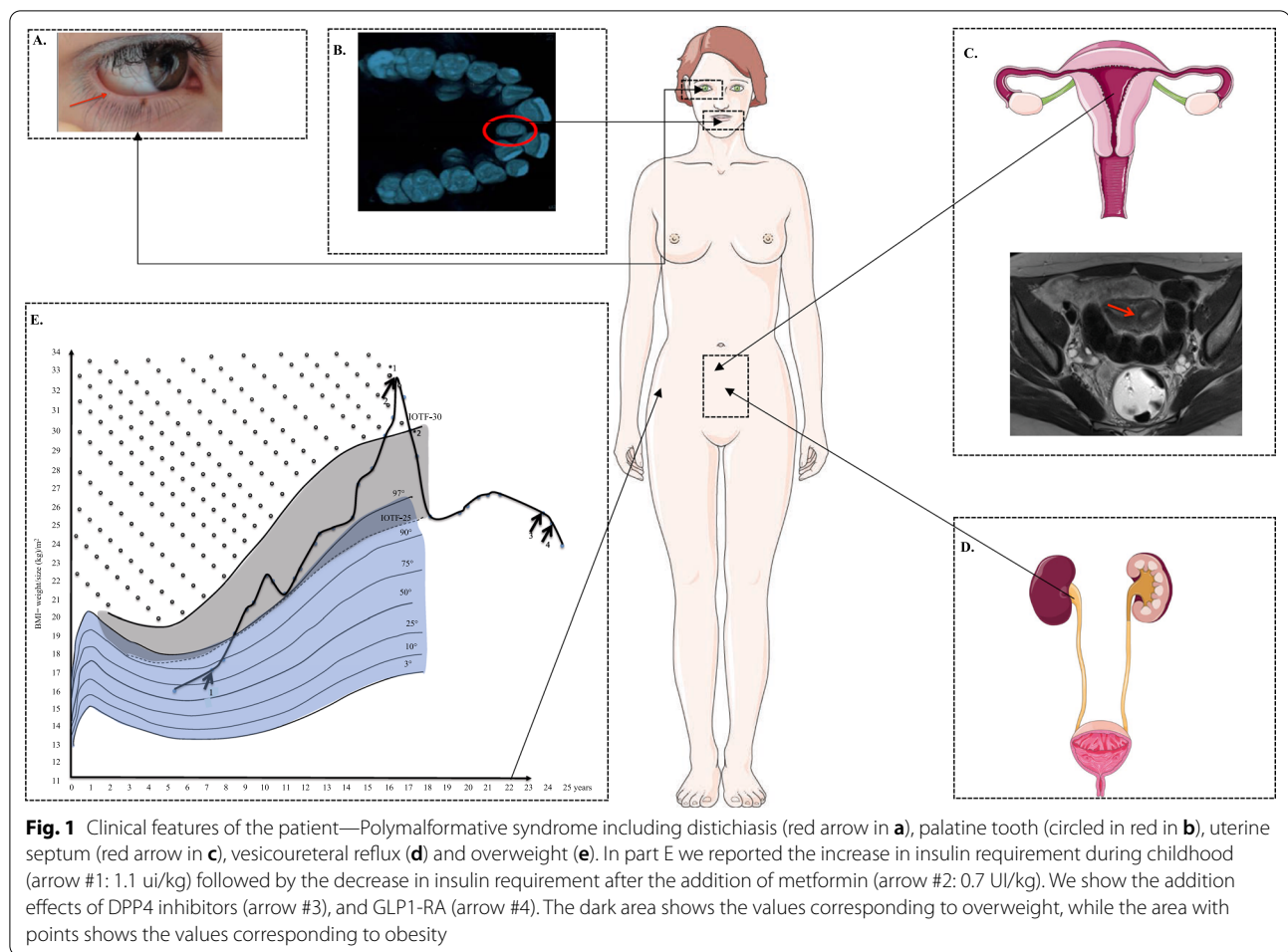
On the paternal side, her father has had type 2 diabetes since age 50. There was no history of diabetes in any of the three patient's uncles. Her paternal grandmother presented with a late isolated cataract (from age ~ 80).

She was born at 41 weeks gestation after an uneventful pregnancy. Her birth weight was 3.620 kg (67th percentile), her size was 51 cm (67th percentile), and had a normal head circumference (85th percentile). Diabetes was diagnosed at age 7 while the young girl suffered from sudden polydipsia, polyuria, and unexplained weight loss (− 1.50 kg). At hospital admission, venous glycaemia level was 5.34 g/L, with 2+ in urinary ketone testing, glycated hemoglobin A1c (HbA1c) was very high (12.8%; Normal range: < 6.5%) and C-peptide was low (0.27 ng/mL; Normal range: 1.2–4.5 ng/mL). The venous pH, blood sodium and potassium levels were

normal, with alkaline reserve at 26 mmol/L. Neither islet autoantibodies, nor anti-insulin antibodies were present. Anti-GAD, anti-IA2, anti-ZNT8 antibodies were not initially analyzed. Insulin therapy was initiated and the patient was regularly followed up. HbA1c had remained between 7.5% and 8.5% overtime without episodes of ketosis or severe hypoglycemia. At the last clinical investigation at age 24, no chronic complications of diabetes were reported. Anti-GAD, anti-ZnT8 and anti-IA2 antibodies were still negative. Pancreas imaging did not show any pancreatic atrophy.

We observed a severe gain of weight at age 8, concomitant to insulin treatment, reaching the 97th percentile of body mass index (BMI) (Fig. 1). Weight gain persisted throughout puberty. No endocrine causes of obesity were found, but low limbs swelling were regularly reported by the patient suggesting lymphedema. At age 16, the patients suddenly needed more insulin (1 UI/kg). Furthermore, metformin (1 g per day) was added to insulin injections (Fig. 1). This additional treatment led to an initial and persistent weight loss and to a 40% reduction in insulin doses. Then, we have tested the action of the incretin pathway agonists on diabetes control and insulin requirement. First, a dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) inhibitor was added to her insulin injections, and we observed a decrease in HbA1c after 3 months (8.9 to 7.9%) and 1 kg weight loss (Fig. 1). Then, we have switched from prandial insulin to glucagon-like peptide-1 receptor agonist (GLP1-RA) (Liraglutide 1.8 mg per day) associated with basal insulin only. The patient has further lost 3.6 kg (Fig. 1).

In addition, after ruling out deafness, we assessed psychomotor retardation of the patient during her childhood. She used sentences at age 6. At age 8, the intelligence quotient (IQ) test showed a mild intellectual disability (WISC III test: total IQ 68). Moreover, at age 5, the patient was diagnosed with a bilateral distichiasis in the lower and superior eyelids, complicated with keratitis, which required surgery followed by laser and recurrent epilation. She also had dental malposition and palatine tooth requiring a surgery during her childhood. At age 8, she had diurnal enuresis. Urodynamic examinations showed that the patient also had vesicoureteral reflux with retro-urethral meatal stenosis and overactive bladder. Kidney ultrasound showed renal calyceal, hypotonia and duplex kidney. Despite anticholinergic drugs, the injection of botulinum toxin was required to manage bladder instability. After puberty, at age 13, the patient suffered from painful dysmenorrhea. Pelvic ultrasound and magnetic resonance imaging showed that the patient presented with uterine septum, which required surgery.



### Genetic investigations

The karyotype was normal. Through array comparative genomic hybridization (CGH) performed in the trio (proband *versus* both parents), we found a de novo heterozygous deletion of 693 kb (chr16q24.2; 16: 87,152,792–87,845,741 [hg19]) in the proband. The deleted region includes six protein-coding genes (Table 1). This result was confirmed by real-time PCR. According to the Human Gene Mutation Database (HGMD), none of these genes were consistently found to be linked with monogenic forms of diabetes, obesity, kidney disorders, intellectual deficiency, lymphedema and/or distichiasis. However, other deletions encompassing chr16q24.2 have already been reported in 33 patients according to ClinGen and Decipher databases (Fig. 2 and Table 2). Among them, 25 patients presented with intellectual disability (Fig. 2 and Table 2). It is noteworthy that four patients shared intellectual disability, obesity or lymphedema as observed in our patient (Fig. 2 and Table 2). Furthermore, we observed that *FOXC2* which is linked with lymphedema distichiasis syndrome (LDS) (Additional

file 1: Table S1) was located 550 kb downstream to the chr16q24.2 deletion. This gene encodes a transcription factor belonging to the forkhead family. Using HiC data obtained from human fetal brain, we found that the chr16q24.2 deletion encompassed two subsequent topologically association domains (TADs) (Fig. 3). *FOXC2* was located in the first TAD (Fig. 3). Therefore, we have hypothesized that the deletion might disrupt the transcriptional network of *FOXC2*, possibly leading to lymphedema in the carriers of chr16q24.2 deletion [7].

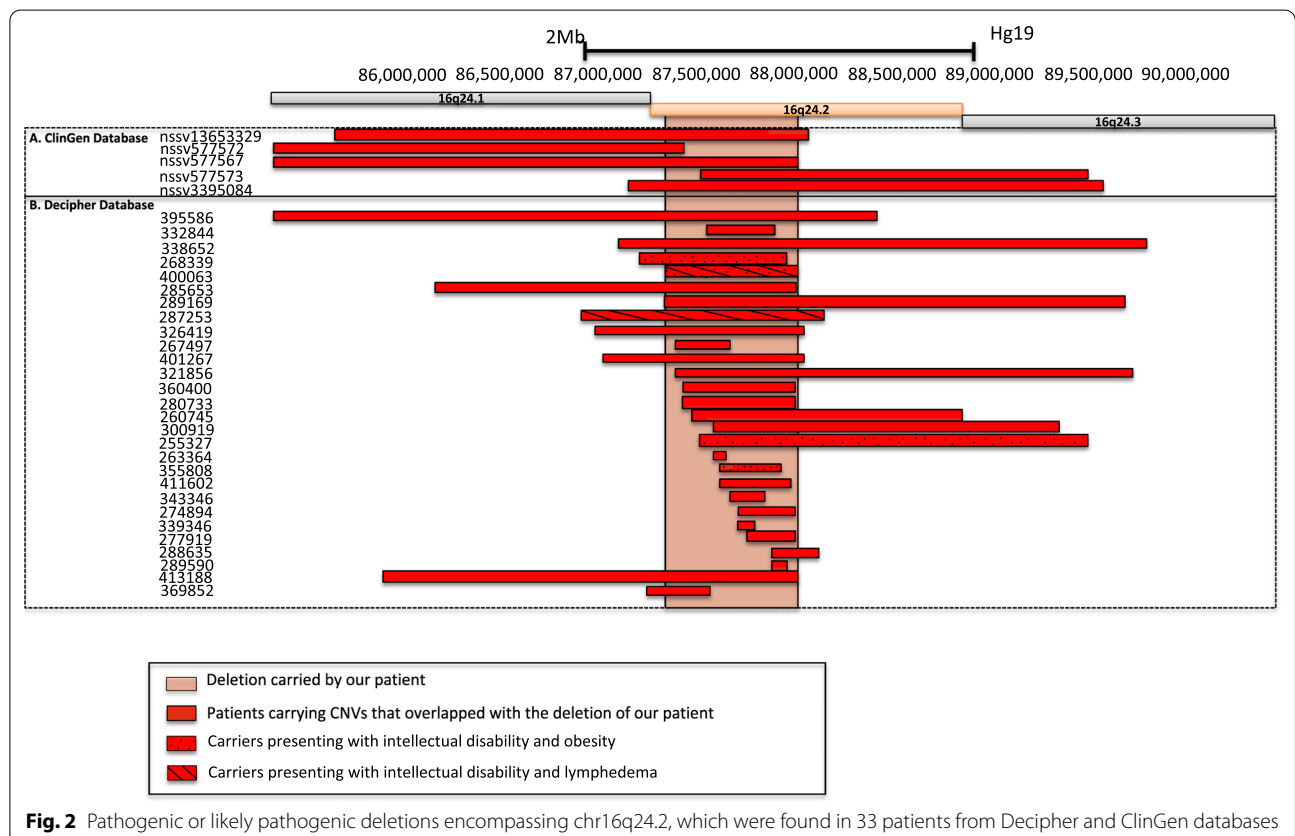
Based on the WES analyses of the trio (proband *versus* both parents), we did not find in the proband any de novo pathogenic or likely pathogenic variant located in the 1321 genes linked with monogenic forms of diabetes, obesity, kidney disorders, lymphedema, intellectual deficiency and/or distichiasis (Additional file 1: Table S1). However, we found one new heterozygous, likely pathogenic, missense variant in *WFS1* (NM\_006005.3: c.424G>C/p.V142L). The heterozygous *WFS1* variants have previously been found to cause autosomal dominant diabetes [8]. This



**Table 1** List of genes and their transcripts included in the chr16q24 deletion carried by the proband (UCSC Genomic Institute. UCSC Genomic Institute (University of California Santa Cruz)

Gene	Transcript	Chr	Tx-Start [hg19]	Tx-End [hg19]	Exon Count	Strand	Function	Disease
<i>C16orf95</i>	NM_001195124	16	87,336,420	87,350,998	7	–	Unknown	Unknown
<i>FBXO31</i>	NM_024735	16	87,360,592	87,417,382	9	–	Degradation via Skp1-Cul1-Fbox protein complex; cell cycle regulator [33]	Intellectual disability autosomal recessive
<i>MAP1LC3B</i>	NM_022818	16	87,425,941	87,438,380	4	+	Autophagy pathway [33]	Unknown
<i>ZCCHC14</i>	NM_015144	16	87,439,853	87,526,630	13	–	Regulates tumor progression [34]	Unknown
<i>JPH3</i>	NM_001271604	16	87,636,113	87,638,254	2	+	cross talk between cell surface and intracellular ion channels by junctional complexes (OMIM* 60,526)	Huntington's Disease Like 2
<i>KLHDC4</i>	NM_017566	16	87,741,417	87,799,592	12	–	Unknown	Unknown

Chr Chromosome, Tx transcription



mutation that has never been reported before and that was not listed in the Genome Aggregation Database (gnomAD; v2.1.1), was inherited from her father who presented with type 2 diabetes. Furthermore, we found a likely pathogenic missense variant in *USP9X* (NM\_001039590.2: c.3803A > G/p.Y1268C) involved in

X-linked intellectual disability [9], which was inherited from her mother who had academic difficulties, related to dyscalculia and dyspraxia. One of the two healthy brothers of the patient did not carry neither *WFS1* p.V142L variant or *USP9X* p.Y1268C variant. In the proband, we did not identify any rare coding mutations in *FOXC2*.

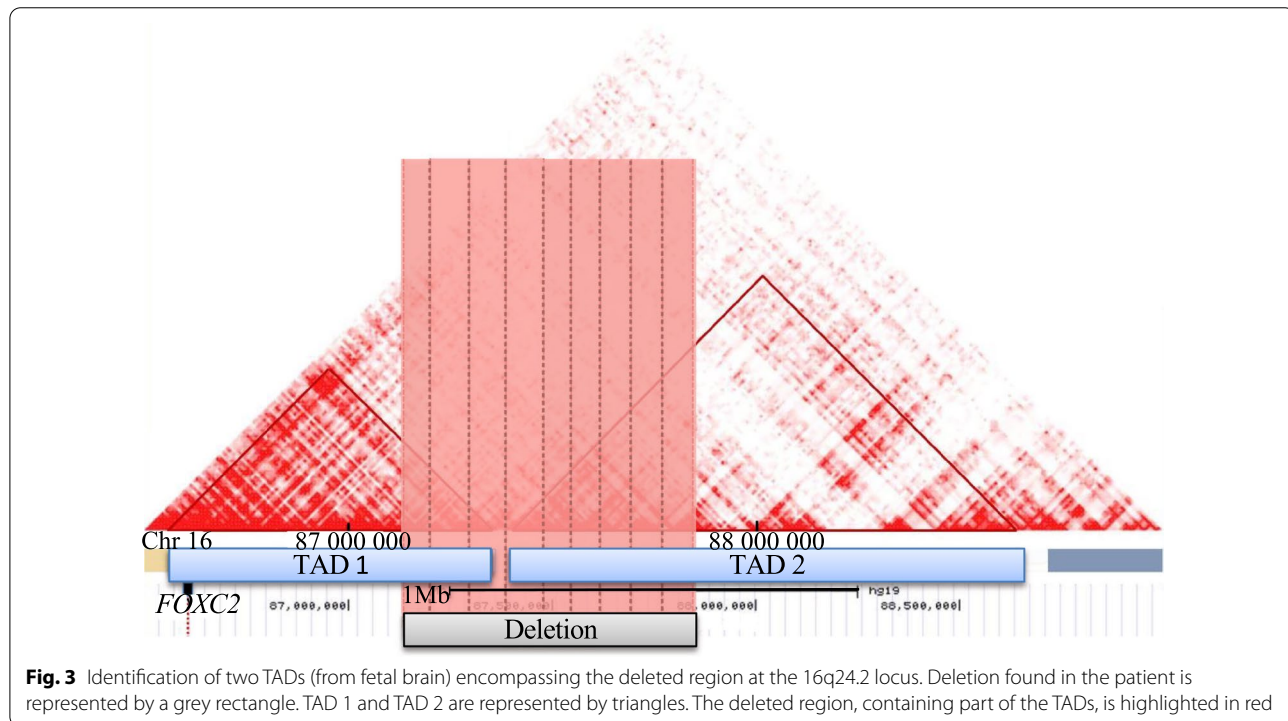


**Table 2** Pathogenic or likely pathogenic deletions encompassing chr16q24.2, which were found in 33 patients from Decipher and ClinGen databases

Sample's ID	Position (Hg19)	Size (Mb)	Pathogenicity	Phenotypes
nssv577572	chr16: 83,912,597–87,257,444	3.3	Pathogenic	Developmental delay and/or other significant developmental or morphological phenotypes
nssv13653329	chr16: 85,491,404–87,883,528	2.4	Pathogenic	Premature birth, respiratory distress, obsolete malformation of the heart and great vessels
nssv577567	chr16: 78,738,172–87,852,948	9.1	Pathogenic	Low-set ears
nssv577573	chr16: 87,340,135–89,335,487	2	Pathogenic	Developmental delay and/or other significant developmental or morphological phenotypes
nssv3395084	chr16: 86,983,712–89,402,222	2.4	Pathogenic	Autistic behavior, cleft palate, delayed fine motor development, delayed gross motor development, delayed speech and language development, failure to thrive, hydronephrosis, omphalocele, premature birth, seizures, ventricular septal defect
395,586	chr16: 66,542,499–88,242,499	22	Likely pathogenic	Aplasia/Hypoplasia of the hallux, broad forehead, broad hallux, delayed closure of the anterior fontanelle, epicanthus, flat occiput, frontal bossing, high anterior hairline, intellectual disability, microcephaly, muscular hypotonia, proportionate short stature, supernumerary nipple
413,188	chr16: 85,817,324–87,841,184	2	Likely pathogenic	Unknown
285,653	chr16: 86,011,033–87,846,920	1.8	Pathogenic	Unknown
287,253	chr16: 86,761,351–87,972,139	1.2	Likely pathogenic	Intellectual disability, lymphedema
326,419	chr16: 86,804,086–87,887,066	1.1	Likely pathogenic	Abnormality of movement, microcephaly, seizure
401,267	chr16: 86,877,615–87,868,052	0.99	Likely pathogenic	Abnormality of prenatal development or birth, broad nasal tip, hyperextensibility of the finger joints, hypertelorism, intellectual disability, umbilical hernia
338,652	chr16: 86,910,262–89,623,832	2.7	Unknown	Acute lymphoblastic leukemia
268,339	chr16: 87,044,630–87,779,387	0.73	Unknown	Barrel-shaped chest, delayed speech and language development, feeding difficulties in infancy, intellectual disability, obesity
369,852	chr16: 87,054,643–87,410,554	0.36	Uncertain	Bilateral tonic-clonic seizure with focal onset, low-set ears, macrocephaly, neonatal hypotonia
400,063	chr16: 87,152,792–87,845,741	0.69	Likely pathogenic	Abnormality of the uterus, corneal ulceration, diabetes, distichiasis, intellectual disability, misalignment of teeth, predominantly lower limb lymphedema, ureter duplex, vesicoureteral reflux
289,169	chr16: 87,183,661–89,520,803	2.3	Uncertain	Abnormal facial shape, abnormality of the kidney, congenital thrombocytopenia, developmental delay, increased susceptibility to fractures, mild intrauterine growth retardation, multiple skeletal anomalies, ptosis
267,497	chr16: 87,213,968–87,504,677	0.29	Unknown	Unknown
321,856	chr16: 87,219,866–89,561,087	2.3	Likely pathogenic	Depressed nasal bridge, failure to thrive in infancy, moderate global developmental delay, prominent metopic ridge, rocker bottom foot, thick eyebrow, wide nose
280,733	chr16: 87,257,185–87,845,882	0.59	Unknown	2–3 toe syndactyly, behavioral abnormality, developmental delay, synophrys
360,400	chr16: 87,257,185–87,845,882	0.59	Likely pathogenic	Unknown
260,745	chr16: 87,319,450–88,669,353	1.4	Unknown	Depressed nasal bridge, hypotonia, hypertelorism, infra-orbital crease, prominent forehead, thoracic hypoplasia
255,327	chr16: 87,340,135–89,335,428	2	Unknown	Coarse facial features, intellectual disability, macrocephaly, obesity, proportionate short stature, short foot, short palm, synophrys
332,844	chr16: 87,381,358–87,713,863	0.33	Uncertain	Developmental delay
300,919	chr16: 87,432,206–89,199,829	1.8	Uncertain	Congenital horizontal nystagmus, high myopia, intellectual disability, joint hypermobility
263,364	chr16: 87,433,214–87,485,161	0.052	Unknown	Unknown
355,808	chr16: 87,439,917–87,753,353	0.31	Uncertain	Intellectual disability, obesity
411,602	chr16: 87,485,102–87,814,273	0.33	Uncertain	Intellectual disability
343,346	chr16: 87,504,276–87,670,757	0.17	Uncertain	Intellectual disability
339,346	chr16: 87,539,375–87,637,824	0.098	Unknown	Unknown
274,894	chr16: 87,539,375–87,845,741	0.31	Unknown	Developmental delay
277,919	chr16: 87,609,569–87,848,970	0.24	Unknown	Behavioral abnormality

**Table 2** (continued)

Sample's ID	Position (Hg19)	Size (Mb)	Pathogenicity	Phenotypes
289,590	chr16: 87,709,267–87,802,845	0.094	Uncertain	Behavioral abnormality, intellectual disability
288,635	chr16: 87,709,267–87,957,415	0.25	Uncertain	Developmental delay, tetralogy of Fallot



## Discussion

We describe the case of a young female whose diabetes was difficult to associate with intellectual disability, polymalformative syndrome and lymphedema distichiasis syndrome (LDS).

On the one hand, initially, the young age of the patient, the presence of ketone bodies and the low C-peptide level at diagnosis, argued in favor of type 1 diabetes [10]. However, the absence of acidosis and of islets antibodies at diagnosis, the absence of anti-GAD, anti-IA2 and anti-ZNT8 antibodies at age 24 [11, 12], as well as the normal size of pancreas [13], suggested instead an atypical non-autoimmune diabetes. Furthermore, as the introduction of metformin in addition to insulin led to weight loss and a decrease in insulin needs, we hypothesized that insulin resistance was also involved in the patient's metabolic phenotype. More recently, the unexpected effect of Liraglutide on the discontinuation of prandial insulin has been an additional argument in favor of atypical non-autoimmune diabetes [14–16].

On the other hand, we performed genetic investigations in front of a polymalformative syndrome and an intellectual disability.

Through our comprehensive genetic analyses, we identified a de novo 693-kb deletion in chr16q24.2. Intellectual disability, obesity, lymphedema and distichiasis have already been described in individuals carrying a pathogenic deletion at the same locus chr16q24.2 [17–19]. Interestingly, *FOXC2* that is a major gene linked with LDS (OMIM# 153400 [20]) was located close to the chr16q24.2 deletion (550 kb downstream). The specific function of *FOXC2* has not yet been fully explored; however, the encoded transcription factor plays an important role in the development and maintenance of venous and lymphatic valves and of mesenchymal tissues [21]. Considering that the activity of a transcription factor depends on its expression, we hypothesized that LDS might be the result of altered expression of *FOXC2*, triggered by the deletion of a long-range regulatory element in chr16q24.2 [7, 17, 22]. Indeed, a growing body of research suggests that

deletions can exert a pathogenic effect through disruption of DNA structural elements such as TADs, and disruption of boundaries as a major mechanism [23]. TAD can regulate gene expression notably by the activation of an enhancer-promoter loop [24]. As the chr16q24.2 deletion encompassed two TADs, it might cause TAD disruption, and altered *FOXC2* expression leading to LDS [7, 23]. However, further studies are needed to demonstrate this assumption.

Furthermore, we identified a novel heterozygous, likely pathogenic, missense mutation in *WFS1* (p.V142L) inherited from the father with diabetes. Interestingly, we observed different presentations of diabetes in the proband and her father. Contrary to the proband, diabetes in the father was polygenic-like type 2 diabetes, as it was diagnosed in adulthood and was treated with metformin and DPP4 inhibitor without any insulin. Wolfram syndrome 1 caused by homozygous or compound heterozygous mutations in *WFS1* (encoding wolframin, a 100-kDa transmembrane glycoprotein localized in the secretory granules and endoplasmic reticulum [ER]). Heterozygous mutations in *WFS1* have been reported to be involved in less severe phenotypes including isolated adult-onset diabetes (OMIM #614296) [8]. A recent study has shown that GLP1-RA could be efficient for patients with diabetes and heterozygous, pathogenic *WFS1* variants [16]. The authors proposed that GLP1-RA might improve glucose regulation due to decreased ER stress leading to conservation of  $\beta$ -cell function and insulin secretion [16]. Here, we hypothesized that the likely pathogenic heterozygous variant in *WFS1* might possibly explain the patient's early-onset diabetes and the efficacy of GLP1-RA on prandial insulin interruption.

In addition, we found a likely pathogenic missense variant in *USP9X* (p.Y1268C) which was inherited from her mother who had dyscalculia and dyspraxia during her school career. *USP9X* encodes an enzyme that plays a key role in human neural development and the p.Y1268C mutation has been shown to be involved in X-linked intellectual disability [9]. Furthermore, *USP9X* is an X-chromosome gene that escapes X-inactivation [25]. Female patients with de novo pathogenic mutations present with mild to moderate intellectual disability (motor and language delay), and several other clinical features (including notably urogenital abnormality, hearing impairment, cleft palate or bifid uvula) [26]. The intellectual disability could therefore be due to the likely pathogenic missense variant in *USP9X* associated with the impact of the deletion.

The major limitation of our study is the fact that we did not analyze the functional effect of the deletion on *FOXC2* expression, and of the two variants in *WFS1* and *USP9X* on the activity of respective encoded proteins.

## Conclusions

In conclusion, we suggest that the patient's complex syndrome might be due to several genetic events including a new likely pathogenic heterozygous *WFS1* variant, a likely pathogenic missense *USP9X* variant and a chr16q24.2 deletion possibly causing the dysregulation of *FOXC2* via TADs disruption (in addition to possibly other abnormalities due to the multi-gene deletion). This study demonstrates the relevance and usefulness of comprehensive genetic analyses in cases presenting with very complex phenotypes.

## Methods

### Patient

We collected clinical data of a female patient from pediatric and adult diabetology medical records. Family medical data have been also collected. In accordance with French laws, patient's and her parents' consent were obtained.

### DNA extraction

Genomic DNA samples from the proband and her two parents were extracted from peripheral blood using the QIAamp DNA Blood Midi kit (Qiagen, Valencia, CA, USA).

### Karyotyping

Conventional cytogenetic analysis was performed on peripheral blood lymphocytes from the patient using the 550-band including GTG (G-bands after trypsin and Giemsa) and RHG (R-bands by heating using Giemsa) banding for family members.

### DNA microarray

Array CGH was performed in the proband, using Agilent 180 k oligoarrays (SurePrint G3 Human CGH Microarray 4 × 180 k). Random primer labelling and hybridization were carried out with sex-matched reference DNA according to the manufacturer's recommendations and results were analyzed using cytogenomics (v3.0.6.6) software (Agilent Technologies) using ADM2 algorithm and a three-point filter.

CNV presence was confirmed in the proband and both parents by real-time PCR using primers targeting *JPH3* (that was included in the CNV). Primers for the *JPH3* was designed and tested using standard procedures (forward primer 5'-CCTGTGCGTCTGATCTGC T-3', reverse primer 5'-GTCCTGCTGCTCCTTCTG

AC-3') on a LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

### Whole-exome sequencing (WES)

WES was performed in the proband and both parents. For this purpose, we used SeqCap EZ MedExome+ Probes (Roche) or Human Core Exome Kit (Twist Bioscience), for Illumina sequencing (on the NovaSeq6000 system). Alignment of sequence reads to the human genome (GRCh38/hg38), variant calling and variant annotation were done as previously described [27]. For the proband and both parents, more than 98% of the target was covered with more than eight reads. Based on the clinical data of the patient (Fig. 1), we analyzed 1321 genes linked with monogenic diabetes, monogenic obesity, monogenic kidney disorders, lymphedema and/or intellectual deficiency (Additional file 1: Table S1). To assess the pathogenicity of the variants we used the standards and guidelines of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) [28]. For the moderate pathogenic criterion PM2 and the supporting pathogenic criterion PP2, we used gnomAD browser (v2.1.1). For the supporting pathogenic criterion PP3, we used PolyPhen-2 (HumDiv), and Mutation Taster [29, 30]. The variants were written according to the nomenclature of the Human Genome Variation Society (HGVS).

### TAD prediction

To integrate recent high-throughput technologies based on chromatin interaction data at the chr16q24.2 locus, we used the 3D Genome Browser (<http://3dgenome.org>), provided by the Bioinformatics and Genomics Program, Pennsylvania State University [31]. TADs were predicted from Hi-C analysis in Human fetal brain GZ [32].

### Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02248-2>.

**Additional file 1: Supplementary Table 1.** Characteristics of the 1,321 genes that have been specifically analyzed in the WES data, according to the phenotypes of the patient.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the patient and her family for their cooperation. We are specifically thankful to Genetic laboratory, American Hospital, University hospital Robert Debre (Reims, France) for their cooperation and genetic investigation. We are also thankful to Hematology laboratory (University hospital, Reims France) and Pediatric diabetology Department, American Hospital (University hospital, Reims, France) for his participation.

### Author's contributions

ABo, MV, PF, ED, EV, ABA, MD performed the sequencing studies and bioinformatics analysis. LLC, BD, MDF, MS, TAM, GJ, PJ, PFS, PCL contributed clinical

samples and information. LLC, ABo, BD, PF and MDF wrote and edited the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

### Funding

The next-generation sequencing work was supported by grants from the French National Research Agency (ANR-10-LABX-46 [European Genomics Institute for Diabetes] and ANR-10-EQPX-07-01 [LIGAN-PM]), and from the National Center for Precision Diabetic Medicine—PreciDIAB, which is jointly supported by the French National Agency for Research (ANR-18-IBHU-0001), by the European Union (FEDER), by the Hauts-de-France Regional Council and by the European Metropolis of Lille (MEL). ABo is supported by the European Research Council (ERC Reg-Seq—715575).

### Availability of data and materials

Please contact author for data requests.

### Declarations

#### Ethics approval and consent to participate

All procedures performed were in accordance with the ethical standards of the institutional committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments. Written informed consent from patients/participants and their parents/legal guardians has been obtained.

#### Consent for publication

Informed consent from the parents/legal guardians of the patients/participants was obtained for the publication of their data.

#### Competing interests

The authors declare no competing financial interests.

#### Author details

<sup>1</sup>Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France. <sup>2</sup>Inserm/CNRS UMR 1283/8199, Pasteur Institute of Lille, EGI-D, Lille, France. <sup>3</sup>University of Lille, Lille, France. <sup>4</sup>Department of Genetic, University Hospital Center of Reims, Reims, France. <sup>5</sup>Faculty of Medicine of Reims, CRESTIC EA 3804, University of Reims Champagne Ardenne, Moulin de La Housse, BP 1039, 51687 Reims Cedex 2, France. <sup>6</sup>Laboratory of Hematology, University Hospital Center of Reims, Reims, France. <sup>7</sup>Department of Genetic, 1 rue Louis Rech Dudelongue, 3555 Luxembourg, Luxembourg. <sup>8</sup>Diabetology, Medipole Lyon-Villeurbanne, Lyon, France. <sup>9</sup>Department of Pediatric Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France. <sup>10</sup>Faculty of Medicine of Reims, EA 3801, URCA, Reims, France.

Received: 25 August 2021 Accepted: 13 February 2022

Published online: 28 February 2022

### References

- Mahler RJ, Adler ML. Clinical review 102: type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1165–71.
- Bonnefond A, Froguel P. Rare and common genetic events in type 2 diabetes: what should biologists know? *Cell Metab.* 2015;21:357–68.
- Bonnefond A, Boissel M, Bolze A, Durand E, Toussaint B, Vaillant E, et al. Pathogenic variants in actionable MODY genes are associated with type 2 diabetes. *Nat Metab.* 2020;2:1126–34.
- Gloyn AL, Drucker DJ. Precision medicine in the management of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6:891–900.
- Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes: Implementation of translational genomic research towards precision medicine. *J Diabetes.* 2016;8:782–95.
- Bockenbauer D, Jaureguierry G. HNF1B-associated clinical phenotypes: the kidney and beyond. *Pediatr Nephrol.* 2016;31:707–14.
- Wallis M, Pope-Couston R, Mansour J, Amor DJ, Tang P, Stock-Myer S. Lymphedema distichiasis syndrome may be caused by FOXC2 promoter-enhancer dissociation and disruption of a topological associated domain. *Am J Med Genet A.* 2021;185:150–6.

8. Bonnycastle LL, Chines PS, Hara T, Huyghe JR, Swift AJ, Heikinheimo P, et al. Autosomal dominant diabetes arising from a Wolfram syndrome 1 mutation. *Diabetes*. 2013;62:3943–50.
9. Homan CC, Kumar R, Nguyen LS, Haan E, Raymond FL, Abidi F, et al. Mutations in *USP9X* are associated with X-linked intellectual disability and disrupt neuronal cell migration and growth. *Am J Hum Genet*. 2014;94:470–8.
10. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2014;383:69–82.
11. Borg H, Marcus C, Sjöblad S, Fernlund P, Sundkvist G. Islet cell antibody frequency differs from that of glutamic acid decarboxylase antibodies/IA2 antibodies after diagnosis of diabetes. *Acta Paediatr*. 2000;89:46–51.
12. Ongagna JC, Levy-Marchal C. Sensitivity at diagnosis of combined beta-cell autoantibodies in insulin-dependent diabetic children. French Registry of IDDM in Children Study Group. *Diabetes Metab*. 1997;23:155–60.
13. Virostko J, Williams J, Hilmes M, Bowman C, Wright JJ, Du L, et al. Pancreas volume declines during the first year after diagnosis of type 1 diabetes and exhibits altered diffusion at disease onset. *Diabetes Care*. 2019;42:248–57.
14. Toots M, Seppa K, Jagomäe T, Koppel T, Pallase M, Heinla I, et al. Preventive treatment with liraglutide protects against development of glucose intolerance in a rat model of Wolfram syndrome. *Sci Rep*. 2018;8.
15. Kondo M, Tanabe K, Amo-Shiino K, Hatanaka M, Morii T, Takahashi H, et al. Activation of GLP-1 receptor signalling alleviates cellular stresses and improves beta cell function in a mouse model of Wolfram syndrome. *Diabetologia*. 2018;61:2189–201.
16. Scully KJ, Wolfsdorf JL. Efficacy of GLP-1 agonist therapy in autosomal dominant WFS1-related disorder: a case report. *Horm Res Paediatr*. 2020;1–6.
17. Butler MG, Dagenais SL, Garcia-Perez JL, Brouillard P, Vikkula M, Strouse P, et al. Microcephaly, intellectual impairment, bilateral vesicoureteral reflux, distichiasis, and glomovenous malformations associated with a 16q24.3 contiguous gene deletion and a Glomulin mutation. *Am J Med Genet A*. 2012;158A:839–49.
18. Handrigan GR, Chitayat D, Lionel AC, Pinsk M, Vaags AK, Marshall CR, et al. Deletions in 16q24.2 are associated with autism spectrum disorder, intellectual disability and congenital renal malformation. *J Med Genet*. 2013;50:163–73.
19. UCSC Genomic Institute. UCSC Genomic Institute (University of California Santa Cruz). UCSC Genome Browser on Human Feb.2009 (GR37/hg 19) Assembly-chr16:87152792-87845741. [https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg19&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr16%3A87152792%2D87845741&hgslid=948807615\\_BA0atwAXAUEOzrYkusmP8ZsgpOA](https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg19&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr16%3A87152792%2D87845741&hgslid=948807615_BA0atwAXAUEOzrYkusmP8ZsgpOA).
20. Mansour S, Brice GW, Jeffery S, Mortimer P. GeneReviews®—Lymphedema-Distichiasis Syndrome. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1457/>.
21. Tissue expression of FOXC2—Summary—The Human Protein Atlas. <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000176692-FOXC2/tissue>.
22. Wong JH, Shigemizu D, Yoshii Y, Akiyama S, Tanaka A, Nakagawa H, et al. Identification of intermediate-sized deletions and inference of their impact on gene expression in a human population. *Genome Med*. 2019;11:44. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0656-4>.
23. Lupiáñez DG, Spielmann M, Mundlos S. Breaking TADs: how alterations of chromatin domains result in disease. *Trends Genet*. 2016;32:225–37.
24. Hansen AS, Cattoglio C, Darzacq X, Tjian R. Recent evidence that TADs and chromatin loops are dynamic structures. *Nucleus*. 2018;9:20–32.
25. Jolly LA, Parnell E, Gardner AE, Corbett MA, Pérez-Jurado LA, Shaw M, et al. Missense variant contribution to *USP9X*-female syndrome. *NPJ Genom Med*. 2020;5:1–11.
26. Reijnders MRF, Zachariadis V, Latour B, Jolly L, Mancini GM, Pfundt R, et al. De novo loss-of-function mutations in *USP9X* cause a female-specific recognizable syndrome with developmental delay and congenital malformations. *Am J Hum Genet*. 2016;98:373–81.
27. Vaxillaire M, Bonnefond A, Liatis S, Ben Salem Hachmi L, Jotic A, Boissel M, et al. Monogenic diabetes characteristics in a transnational multi-center study from Mediterranean countries. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;108553.
28. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405–24.
29. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7:248–9.
30. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods*. 2014;11:361–2.
31. Wang Y, Song F, Zhang B, Zhang L, Xu J, Kuang D, et al. The 3D Genome Browser: a web-based browser for visualizing 3D genome organization and long-range chromatin interactions. *Genome Biol*. 2018;19.
32. Won H, de la Torre-Ubieta L, Stein JL, Parikshak NN, Huang J, Opland CK, et al. Chromosome conformation elucidates regulatory relationships in developing human brain. *Nature*. 2016;538:523–7.
33. Seeley AH, Durham MA, Micale MA, Wesolowski J, Foerster BR, Martin DM. Macrocephallism, epilepsy, intellectual disability, and gut malrotation in a child with a 16q24.1–q24.2 contiguous gene deletion. *Am J Med Genet A*. 2014;164:2062–8. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36569>.
34. Shi X, Han X, Cao Y, Li C, Cao Y. ZCCHC14 regulates proliferation and invasion of non-small cell lung cancer through the MAPK-P38 signalling pathway. *J Cell Mol Med*. 2021;25:1406–14.

## Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more [biomedcentral.com/submissions](https://biomedcentral.com/submissions)



**Supplementary Table 1. Characteristics of the 1,321 genes that have been specifically analyzed in the WES data, according to the phenotypes of the patient (disponible sur demande)**

**Dominant *PDX1* deficiency causes highly penetrant diabetes at different ages, associated with obesity and exocrine pancreatic deficiency: lessons for precision medicine**

Youssef Kouidrat<sup>1\*</sup>, Lauriane Le Collen<sup>\*2,3,4</sup>, Martine Vaxillaire<sup>2,5</sup>, Aurélie Dechaume<sup>2,5</sup>, Bénédicte Toussaint<sup>2,5</sup>, Emmanuel Vaillant<sup>2,5</sup>, Souhila Amanzougarene<sup>2,5</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>2,5</sup>, Brigitte Delemer<sup>3</sup>, Mustapha Azahaf<sup>7</sup>, Philippe Froguel<sup>2,5,6</sup> and Amélie Bonnefond<sup>2,5,6</sup>

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation, Nutrition and Obesity, Berck Maritime Hospital, Greater Paris University Hospitals, AP-HP, Berck, France;

<sup>2</sup>Inserm/CNRS UMR 1283/8199, Pasteur Institute of Lille, EGID, Lille, France;

<sup>3</sup>Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France;

<sup>4</sup>Department of Clinical Genetic, University Hospital Center of Reims, Reims, France;

<sup>5</sup>University of Lille, Lille University Hospital, Lille, France;

<sup>6</sup>Department of Metabolism, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London, UK;

<sup>7</sup>Department of Radiology, Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille, Saint Philibert Hospital, Lille, France.

\*Co-first authors

Correspondence to: Amélie Bonnefond (amelie.bonnefond@inserm.fr), Philippe Froguel (p.froguel@imperial.ac.uk) and Lauriane Le Collen (laurianelecollen@wanadoo.fr)

Inserm UMR1283, CNRS UMR8199, European Genomic Institute for Diabetes, Université de Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille University Hospital, 59045 Lille Cedex, France



## **Abstract**

**Objective.** Heterozygous pathogenic or likely pathogenic (P/LP) *PDX1* variants cause monogenic diabetes. We comprehensively examined the phenotypes of carriers of P/LP *PDX1* variants, and delineated potential treatments that could be efficient in an objective of precision medicine.

**Research Design and Methods.** The study primarily involved a family harboring a novel P/LP *PDX1* variant. We then conducted an analysis of documented carriers of P/LP *PDX1* variants, from the Human Gene Mutation Database (HGMD), RaDiO study, and Type 2 Diabetes (T2D) Knowledge Portal including 87K participants.

**Results.** Within the family, we identified a P/LP *PDX1* variant encoding p.G232S in four relatives. All of them exhibited diabetes, albeit with very different ages of onset (10-40 years), along with caudal pancreatic agenesis and childhood-onset obesity. In HGMD, 79% of carriers of a P/LP *PDX1* variant displayed diabetes (with differing ages of onset from 8 days of life to 67 years), 63% exhibited pancreatic insufficiency and surprisingly 40% had obesity. The impact of P/LP *PDX1* variants on increased T2D risk was confirmed in the T2D Knowledge Portal. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor (DPP4i) and glucagon-like peptide-1 receptor agonist (GLP1-RA), enabled good glucose control without hypoglycemia and weight management.

**Conclusions.** This study reveals diverse clinical presentations among the carriers of a P/LP *PDX1* variant, highlighting strong variations in diabetes onset, and unexpectedly high prevalence of obesity and pancreatic development abnormalities. Clinical data suggest that DPP4i and GLP1-RA may be the best effective treatments to manage both glucose and weight controls, opening new avenue in precision diabetic medicine.

*Keywords:* Monogenic diabetes; *PDX1*; GLP1 receptor agonist; DPP4 inhibitors.



## Introduction

Monogenic diabetes is characterized by insufficient function or development of pancreatic islets, leading to defective insulin secretion (1). One of the most prevalent forms of monogenic diabetes is autosomal dominant Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY), accounting for 0.5-5% of patients diagnosed with non-autoimmune diabetes, but its prevalence is likely to be underdiagnosed (1). MODY is usually characterized by diabetes onset before 25 years of age, a notable family history of diabetes, and typically without the concurrent presence of excess weight (1).

Heterozygous, pathogenic variants in *PDX1* cause a subtype of MODY (2). *PDX1* functions as a transcription factor involved in the function and development of pancreatic islet and beta cells (2–4). In addition, homozygous, pathogenic variants in the same gene were described in cases with neonatal diabetes (*i.e.* emerging within the initial 6 months of life), coupled with pancreatic agenesis resulting in profound exocrine pancreatic insufficiency (3). Despite the initial identification of *PDX1* deficiency in monogenic diabetes dating back to 1997, the literature has documented only a limited number of pathogenic *PDX1* variants ( $n=35$ ), as recorded in the Human Gene Mutation Database (HGMD Pro v2022.4). This is notably fewer compared to the more prevalent MODY subtypes such as *GCK* and *HNF1A* deficiencies ( $n=983$  and  $n=610$ , respectively). We and others have demonstrated that a monogenic diabetes gene can play a role in various diabetes presentations, whether with an early or later onset, and may not exhibit complete penetrance (1). We wondered whether this clinical continuum was also present in people carrying a heterozygous, pathogenic *PDX1* variant. For this purpose, we studied a non-consanguineous family of French origin with MODY, harboring a novel heterozygous, likely pathogenic variant in *PDX1*. Subsequently, we conducted a thorough analysis of the metabolic phenotypes and treatments previously reported in the carriers of heterozygous, pathogenic or likely pathogenic (P/LP) *PDX1* variants from the literature, and in large cohort studies.

## **Research Design and Methods**

**Study participants.** We conducted a study involving seven patients from the same family, whose clinical data were collected from medical records at Bercy Hospital (France). Our focus was on describing the family data, with particular attention to the four individuals who carried the pathogenic *PDX1* variant. In accordance with French laws, we obtained informed consent from both the patients and their relatives.

To supplement our research, we performed an extensive review of the literature and gathered clinical and biological data from HGMD Pro (v2022.4) for the carriers of heterozygous P/LP *PDX1* variants.

In the RaDiO study, individuals with T2D were identified by their fasting glucose levels exceeding 7.0 mmol/L, and/or their use of diabetes treatment, and the absence of islet auto-antibodies. Prediabetes was defined when the blood glucose level was within the range of 5.6 to 6.9 mmol/L (5).

In all population studies, we defined impaired glucose control to encompass T2D, glucose intolerance, and gestational diabetes. We defined pancreatic insufficiency for individuals exhibiting low elastase fecal levels and/or pancreatic agenesis/hypoplasia. For adults aged 18 and above, we categorized healthy weight as having a body mass index (BMI) below 25 kg/m<sup>2</sup>, overweight as falling within the range of 25 to 29.9 kg/m<sup>2</sup> and obesity as having a BMI higher than 30 kg/m<sup>2</sup>. For children, obesity was defined using age-specific BMI calculations.

**Family study, Whole-exome sequencing and analysis of siblings.** In the family, whole-exome sequencing was conducted in the proband (Patient II.1) using the Human Core Exome Kit (Twist Bioscience), and the sequencing was performed on the NovaSeq6000 system (Illumina). The obtained sequence reads were aligned to the Human Genome Reference Sequence (hg38). Based on the clinical data of Patient II.1, we focused on the analysis of 190 genes known to cause monogenic diabetes or monogenic obesity (**Supplementary Table 1**).

To investigate the specific variant found in *PDX1* (NM\_000209.4), Sanger sequencing was performed in the proband's sons. The primer sequences and PCR conditions used in the analysis are available upon request. Regrettably, the test could not be carried out for the parents.

**Next-generation sequencing in the RaDiO study.** Target enrichment (encompassing *PDX1*) was performed according to the manufacturer's protocol (NimbleGen SeqCap EZ Choice XL) for Illumina sequencing on the HiSeq 4000 system, as previously described (6).

## Results

### Description of a French family harboring a novel P/LP *PDX1* variant: various diabetes presentations, pancreatic insufficiency and childhood obesity

We present a female patient (referred to as the proband, Patient II.1; **Figure 1**) and her three sons from a nonconsanguineous family. All members of the family presented with non-autoimmune diabetes, marked by different ages of diabetes onset, pancreatic insufficiency and childhood-onset obesity.

The mother (Patient II.1) had a history of gestational diabetes. Subsequently, she encountered multiple instances of hypoglycemic episodes, leading to her diabetes diagnosis at the age of 40 (**Table 1**). She had previously exhibited childhood obesity, and currently, at the age of 44, maintains an overweight status with a BMI of 27 kg/m<sup>2</sup>. Before turning to the addition of long-acting insulin, she relied on a combination of metformin, sulfonylureas and a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor (DPP4i) for her treatment (**Table 1**).

The three sons presented with distinct manifestations: overt diabetes was observed in Patients III.1 and III.2, with diagnoses at the ages of 18 and 10 years respectively (**Table 1, Figure 1**). The youngest son, Patient III.3, has exhibited glucose intolerance since age 11 (**Table 1, Figure 1**). None of them had autoimmune diabetes, which was evidenced by the absence of autoantibodies against glutamic acid decarboxylase 65, insulin, and islet antigen-2. The three sons also presented with obesity from the age of 7. One of the sons (Patient III.2, **Figure 1; Table 1**) received metformin for his treatment.

At the age of 42, Patient II.1 was found to carry a rare heterozygous variant in *PDX1* (NM\_000209.4: c.694G>A / p.G232S) through whole-exome sequencing. We did not find any other variant of interest in genes linked with monogenic diabetes or obesity. Sanger sequencing then pinpointed the same *PDX1* variant encoding p.G232S in her three sons. Computed tomography scans showed caudal pancreatic agenesis in all four heterozygous carriers of this

*PDX1* variant (**Supplementary Figure 1**). One son (Patient III.2, **Table 1**) also exhibited decreased fecal elastase. He experienced abdominal pain and weight loss three years after the diabetes diagnosis, with reduced fecal elastase (<100 mcg/g), indicative of exocrine pancreatic insufficiency. The *PDX1* variant encoding p.G232S was extremely rare in the Genome Aggregation Database (gnomAD; v2.1.1). It was also predicted to be deleterious by multiple *in silico* software programs (SIFT, PolyPhen, AlignGVGD, CADD) and was located at a highly conserved locus previously identified in cases with MODY (according to HGMD). Furthermore, considering the cosegregation of the variant with early-onset diabetes within the family and its association with distinct phenotypes related to *PDX1* deficiency, we designated the *PDX1* variant encoding p.G232S as probably pathogenic according to criteria of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (7).

Thanks to this genetic diagnosis, we made significant modifications to the proband's diabetes treatment based on the findings of previous studies (8,9). Despite the administration of multiple anti-diabetic medications, such as metformin, sulfonylureas, a DPP4i, and ultimately insulin therapy, the patient continued to experience significant glycemic fluctuations, marked by recurrent episodes of hypoglycemia and hyperglycemia. We implemented a glucagon-like peptide-1 receptor agonist (GLP1-RA), which had a substantial positive impact on glycemic control and weight management. The proband's BMI decreased from 27 to 23 kg/m<sup>2</sup> after just one year.

Recently, one of the sons (Patient III.2) experienced a deterioration of glycemic control, due to a pancreatitis crisis. To address this, sulfonylureas were administered, resulting in moderate success in controlling his condition. Interestingly, his body weight improved, and his BMI normalized to 22 kg/m<sup>2</sup> by the age of 14. Insulin therapy has been proposed for further management. The youngest son (Patient III.3) managed to normalize his BMI by diet, maintaining it at 22 kg/m<sup>2</sup>.

## **Deciphering metabolic phenotypes of the carriers of rare heterozygous P/LP *PDX1* variants in the literature and large population cohort studies**

From the HGMD database, a total of 35 P/LP *PDX1* variants were documented. Following an evaluation using ACMG criteria (7), the list was narrowed to 27 P/LP *PDX1* variants. This adjustment was primarily made because certain variants occurred at an excessively high frequency. The 27 P/LP *PDX1* variants were found in 116 individuals, including 15 homozygotes who presented with early-onset diabetes (*data not shown*). Among the 101 heterozygotes, 74 were categorized as individuals with diabetes, while 20 were classified as having normal glucose homeostasis and the diabetes status of seven was not documented (**Table 2; Supplementary Table 2**). Diabetes was therefore highly penetrant but with a very variable age of onset (between 8 days of life to 67 years; **Table 2; Supplementary Table 2**). Of note, the presence of diabetes was nominally more prevalent among carriers of null (*e.g.* nonsense, frameshift, canonical  $\pm$  1 or 2 splice sites) P/LP variants compared to those with missense P/LP variants (unadjusted logistic regression analysis:  $P = 0.096$ ; OR = 2.5 [0.85-7.1]; **Supplementary Table 2**). However, the age of diabetes onset was also very variable among carriers of null P/LP variants (**Supplementary Table 2**). Nearly half of patients underwent insulin therapy and 16% were treated with oral hypoglycemic agents, which included DPP4i (**Table 2; Supplementary Table 2**). The latter therapy seemed to be very effective in two cases (8,9). Surprisingly, obesity was a common occurrence in *PDX1*-deficient individuals, with 40% of them experiencing this condition (**Table 2**). Furthermore, pancreatic insufficiency was observed in 12 carriers with diabetes (**Table 2; Supplementary Table 2**). All these 12 patients carried null P/LP *PDX1* variants. Therefore, here, we report the first missense P/LP *PDX1* variant causing pancreatic caudal agenesis.

In the French RaDiO study including 10K individuals comprising patients with T2D and/or overweight and controls (10), we found only two heterozygous P/LP *PDX1* variants (NM\_000209.4: c.176A>T / p.Q59L and c.561del / p.G218Afs\*12). The variant encoding p.Q59L was carried by a 50-year old male with severe obesity (BMI of 42 kg/m<sup>2</sup>). His treatment regimen included sulfonylurea, and he exhibited low levels of high-density cholesterol at 1.01 mmol/L. The variant encoding p.G218Afs\*12 was carried by a 38-year old female who was in a pre-diabetic state. She also had severe obesity (BMI of 48 kg/m<sup>2</sup>), low levels of high-density cholesterol at 0.77 mmol/L, moderate hypertriglyceridemia (1.8 mmol/L) and high blood pressure. Therefore, those two carriers deficient for *PDX1* from the RaDiO study presented with metabolic syndrome.

We subsequently examined the association between P/LP *PDX1* variants and the risk of T2D on a large scale by utilizing the genetic association interactive tool within the T2D Knowledge Portal (11). Among 43K individuals from the 52K study and 44K individuals from TOPMed, we found eight P/LP variants in the former and seven in the latter group according to ACMG criteria (**Supplementary Table 3**). A significant association with an increased risk of T2D was observed in both studies (Collapsing Burden test:  $P = 1.6 \times 10^{-3}$ ; OR = 1.1, SE = 0.040 and  $P = 4.1 \times 10^{-4}$ , OR = 5.3, SE = 0.47; respectively).

## Conclusions

Our study highlights the impact of heterozygous variants in *PDX1* on T2D risk, a factor often overlooked since the initial discovery of homozygous P/LP *PDX1* variants within consanguineous families (3). Moreover, it demonstrates that not only null *PDX1* variants can cause pancreas development failure but also missense variants. Notably, documented biological pancreatic deficiency occurred significantly in heterozygotes, with a high occurrence rate of 63%. This pancreatic development abnormality had notable medical consequences. Indeed, in our family, all four relatives were diagnosed with caudal pancreatic agenesis. The young boy, in particular, had confirmed exocrine pancreatic insufficiency with low fecal elastase levels and experienced pancreatitis—an exceptional event given his age.

We also show the substantial heterogeneity of clinical characteristics among individuals carrying a heterozygous, P/LP *PDX1* variant. Indeed, our findings based on the family study, the literature and large cohort studies, revealed a wide range of ages of diabetes onset among the carriers. Even more surprisingly, considering what is typically observed in monogenic diabetes, we identified a remarkably high prevalence of obesity, potentially associated with a metabolic syndrome.

In the present family, the penetrance of diabetes (or pre-diabetes in the youngest boy) was complete. To date, *PDX1* variants exhibiting complete penetrance for diabetes have been observed in only a few families worldwide (12). In fact, most studies indicate non-complete penetrance for diabetes (13–23). This is in line with other monogenic diabetes genes (1). Nonetheless, we confirmed the significant enrichment of heterozygous P/LP *PDX1* variants among patients with T2D in the T2D Knowledge Portal (11).

Recently, Lian *et al.* suggested that the frequency of obesity was higher in individuals with a missense, P/LP *PDX1* variant compared to those with a null *PDX1* variant (24). In the present family, obesity might be linked to the presence of the missense P/LP variant encoding p.G232S.



Previous studies have highlighted the heterogeneity of diabetes treatment for heterozygous *PDX1* variant carriers. Recent research has reported significant efficacy of DPP4i in glycemic control (8,9). Given that GLP1-RA acts in the same signaling pathway as DPP4i, and considering the presence of overweight, we opted to augment the proband's therapy with GLP1-RA. GLP1-RA proved remarkably well-tolerated and promptly demonstrated its effectiveness in improving both glycemic control and weight management with a weight loss of 11 kg (15%) in the index case. Remarkably, this new therapy not only improved glycemia but also led to a reduction in hypoglycemic episodes.

The mode of onset of diabetes in this family is worth highlighting, as it has not been previously documented in the literature. Indeed, both the proband and one of her sons experienced multiple hypoglycemic episodes, which led to the diagnosis of diabetes.

In summary, individuals carrying a heterozygous P/LP *PDX1* variant exhibit a remarkably high penetrance of T2D, occurring at various ages, as well as pancreatic insufficiency and obesity. These features, despite being documented in the literature, have been overlooked in textbooks and guidelines. Our findings emphasize the importance of considering DPP4i or preferably GLP1-RA as excellent first-line therapies for *PDX1*-deficient patients. Additionally, we recommend routine pancreas monitoring upon genetic diagnosis.

**Acknowledgments.** The authors extend their gratitude to the patients and their families for their valuable cooperation. We thank Frédéric Allegaert and Timothée Beke for technical assistance.

**Funding.** This study was also supported by grants from the French National Research Agency (ANR-10-LABX-46 [European Genomics Institute for Diabetes] and ANR-10-EQPX-07-01 [LIGAN-PM]), from the European Union's Horizon Europe Research and Innovation Programme (OBELISK grant agreement 101080465) and from the National Center for Precision Diabetic Medicine – PreciDIAB, which is jointly supported by the French National Agency for Research (ANR-18-IBHU-0001), by the European Union (FEDER) 20001891/NP0025517, by the Hauts-de-France Regional Council and by the European Metropolis of Lille (MEL 2019\_ESR\_11). A.B. is supported by the European Research Council (ERC  $\text{O}\pi\text{O}$ : 101043671). We also thank “France Génomique” consortium (ANR-10-INBS-009).

**Conflict of Interest.** We declare no competing interests.

**Author Contributions and Guarantor Statement.** Y.K., P.F. and A.B. conceptualized and designed the study. A.D., B.T. and E.V. contributed to next-generation sequencing and/or Sanger sequencing. S.A., M.D. and A.B. contributed to statistical and/or computer analyses. L.L.C., M.V. and A.B. assessed the pathogenicity of *PDX1* variants. Y.K., M.V., B.D., M.A., P.F. and A.B. contributed to collection of clinical data and/or recruitment of cohort studies. Y.K., L.L.C., P.F. and A.B. wrote the first draft of the manuscript. All authors provided input on the interpretation of results and revised and approved the final manuscript. P.F. and A.B. are the guarantors of this work and, as such, had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

**Table 1. Clinical and biological characteristics of Patients II.1, III.1, III.2 and III.3 from a non-consanguineous family**

Patients	II.1	III.1	III.2	III.3
Sex	Female	Male	Male	Male
Heterozygous variant in <i>PDX1</i> (NM_000209.4)	c.694G>A, p.G232S	c.694G>A, p.G232S	c.694G>A, p.G232S	c.694G>A, p.G232S
Current age (years)	44	21	14	12
BMI at diabetes diagnosis (kg/m <sup>2</sup> )	27	32	26	26
Age of onset of weight gain (years)	childhood	7	7	7
Age at diabetes diagnosis (years)	40	18	10	11
Relevant clinical features	History of gestational diabetes; episodes of hypoglycemia which led to diabetes diagnosis	-	Episodes of hypoglycemia which led to diabetes diagnosis; pancreatitis crisis	-
Diabetes Management	Metformin, DPP-4 inhibitor, sulfonylurea, insulin, GLP1-RA	Diet	Metformin, sulfonylurea	Diet
HbA1c (%)	8.0	7.6	6.5	5.4
Fasting plasma glucose (g/L)	1.4	1.8	1.4	1.2
$\beta$ -cell autoantibodies	Negative	Negative	Negative	Negative
Abdominal scan	Caudal pancreas agenesis	Caudal pancreas agenesis	Caudal pancreas agenesis	Caudal pancreas agenesis
Elastase fecal	Normal	Normal	Low	Normal

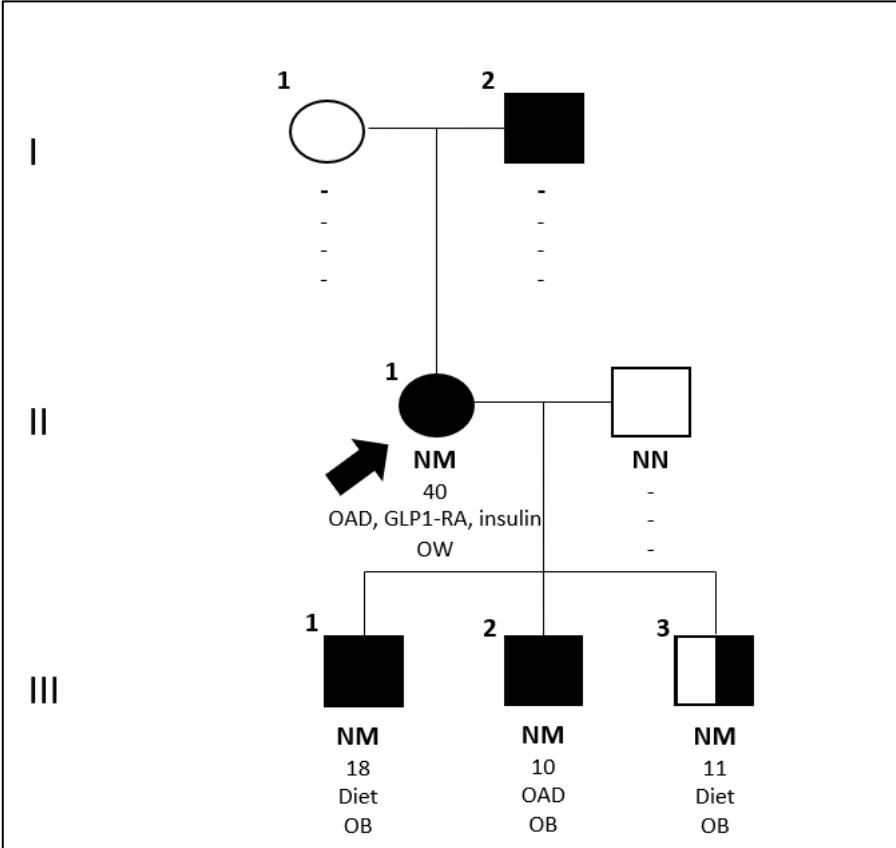
*BMI*, body mass index; *GLP1-RA*, glucagon-like peptide-1 receptor agonist; *HbA1c*, glycated hemoglobin 1Ac

**Table 2. Clinical characteristics of patients carrying a heterozygous P/LP *PDX1* variant from HGMD database**

<b>Trait</b>		<b>N<sub>Carrier</sub></b>
<b>Diabetes status of carriers</b>	Overt diabetes / glucose intolerance / gestational diabetes	74
	Absence of diabetes	20
	NA	7
<b>Treatment of carriers with diabetes</b>	None	1
	Oral hypoglycemic agents (without insulin therapy)	16
	Insulin alone or combined with other drugs	21
	Diet	8
	NA	26
<b>Adiposity</b>	Obesity	20
	Overweight	9
	Normal Weight	21
	NA	51
<b>Pancreatic agenesis or other pancreatic abnormalities</b>	Yes	12
	No	7
	NA	82

Further details are available in **Supplementary Table 2**. *NA*, not applicable.

**Figure 1. Pedigree of the family with hereditary diabetes and obesity, harboring a heterozygous P/LP *PDX1* variant**



Pedigree of the family illustrates the diabetes and adiposity status of each member, along with their genetic status, age of diabetes onset, and antidiabetic therapy. Circles represent female participants, squares represent male participants. Black symbols represent patients with diabetes, while hatched squares indicate individuals with glucose intolerance. The black arrow points to the proband (Patient II.1).

*GLP1-RA*, glucagon-like peptide-1 receptor agonist; *NM*, heterozygous P/LP *PDX1* variant encoding p.Gly232Ser; *NN*, wild-type; *OB*, obesity; *OAD*, oral antidiabetic agents; *OW*, overweight.

## REFERENCES

1. Bonnefond A, Unnikrishnan R, Doria A, Vaxillaire M, Kulkarni RN, Mohan V, et al. Monogenic diabetes. *Nat Rev Dis Primer*. 2023 Mar 9;9(1):12.
2. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat Genet*. 1997 Oct;17(2):138–9.
3. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat Genet*. 1997 Jan;15(1):106–10.
4. Hani EH, Stoffers DA, Chèvre JC, Durand E, Stanojevic V, Dina C, et al. Defective mutations in the insulin promoter factor-1 (IPF-1) gene in late-onset type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999 Nov;104(9):R41-48.
5. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021 Jan;44(Suppl 1):S15–33.
6. Bonnefond A, Boissel M, Bolze A, Durand E, Toussaint B, Vaillant E, et al. Pathogenic variants in actionable MODY genes are associated with type 2 diabetes. *Nat Metab*. 2020 Oct;2(10):1126–34.
7. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2015 May;17(5):405–24.
8. Yoshiji S, Horikawa Y, Kubota S, Enya M, Iwasaki Y, Keidai Y, et al. First Japanese Family With PDX1-MODY (MODY4): A Novel PDX1 Frameshift Mutation, Clinical Characteristics, and Implications. *J Endocr Soc*. 2022 Jan 1;6(1):bvab159.
9. Mangrum C, Rush E, Shivaswamy V. Genetically Targeted Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Use in a Patient with a Novel Mutation of MODY type 4. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*. 2015;8:83–6.
10. Folon L, Baron M, Toussaint B, Vaillant E, Boissel M, Scherrer V, et al. Contribution of heterozygous PCSK1 variants to obesity and implications for precision medicine: a case-control study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2023 Mar;11(3):182–90.
11. Costanzo MC, von Grotthuss M, Massung J, Jang D, Caulkins L, Koesterer R, et al. The Type 2 Diabetes Knowledge Portal: An open access genetic resource dedicated to type 2 diabetes and related traits. *Cell Metab*. 2023 Apr 4;35(4):695-710.e6.
12. Colclough K, Ellard S, Hattersley A, Patel K. Syndromic Monogenic Diabetes Genes Should Be Tested in Patients With a Clinical Suspicion of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Diabetes*. 2022 Mar 1;71(3):530–7.
13. De Franco E, Shaw-Smith C, Flanagan SE, Edghill EL, Wolf J, Otte V, et al. Biallelic PDX1 (insulin promoter factor 1) mutations causing neonatal diabetes without exocrine pancreatic insufficiency. *Diabet Med J Br Diabet Assoc*. 2013 May;30(5):e197-200.
14. Clocquet AR, Egan JM, Stoffers DA, Muller DC, Wideman L, Chin GA, et al. Impaired insulin secretion and increased insulin sensitivity in familial maturity-onset diabetes of the young 4 (insulin promoter factor 1 gene). *Diabetes*. 2000 Nov;49(11):1856–64.
15. Schwitzgebel VM, Mamin A, Brun T, Ritz-Laser B, Zaiko M, Maret A, et al. Agenesis of human pancreas due to decreased half-life of insulin promoter factor 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Sep;88(9):4398–406.
16. Sahebi L, Niknafs N, Dalili H, Amini E, Esmacilnia T, Amoli M, et al. Iranian neonatal diabetes mellitus due to mutation in PDX1 gene: a case report. *J Med Case Reports*. 2019 Aug 1;13(1):258.

17. Nicolino M, Claiborn KC, Senée V, Boland A, Stoffers DA, Julier C. A novel hypomorphic PDX1 mutation responsible for permanent neonatal diabetes with subclinical exocrine deficiency. *Diabetes*. 2010 Mar;59(3):733–40.
18. Macfarlane WM, Frayling TM, Ellard S, Evans JC, Allen LI, Bulman MP, et al. Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 1999 Nov;104(9):R33-39.
19. Flannick J, Beer NL, Bick AG, Agarwala V, Molnes J, Gupta N, et al. Assessing the phenotypic effects in the general population of rare variants in genes for a dominant Mendelian form of diabetes. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1380–5.
20. Al-Kandari H, Al-Abdulrazzaq D, Davidsson L, Nizam R, Jacob S, Melhem M, et al. Identification of Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY) mutations in a country where diabetes is endemic. *Sci Rep*. 2021 Aug 9;11(1):16060.
21. Kulkarni A, Sharma VK, Nabi F. PDX1 Gene Mutation with Permanent Neonatal Diabetes Mellitus with Annular Pancreas, Duodenal Atresia, Hypoplastic Gall Bladder and Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Indian Pediatr*. 2017 Dec 15;54(12):1052–3.
22. Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Sulem P, Helgason H, Grarup N, Sigurdsson A, et al. Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2014 Mar;46(3):294–8.
23. Cockburn BN, Bermano G, Boodram LLG, Teelucksingh S, Tsuchiya T, Mahabir D, et al. Insulin promoter factor-1 mutations and diabetes in Trinidad: identification of a novel diabetes-associated mutation (E224K) in an Indo-Trinidadian family. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Feb;89(2):971–8.
24. Lian H, Gong S, Li M, Wang X, Wang F, Cai X, et al. Prevalence and Clinical Characteristics of PDX1 Variant Induced - Diabetes in Chinese Early Onset Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2023 Jun 6;dgad303.

**Supplementary Table 1. List of genes that were analyzed in the index patient**

<b>Monogenic Diabetes</b>	
<b>Gene</b>	<b>Transcript</b>
ABCC8	NM_000352.6
ADIPOQ	NM_004797.4
AIRE	NM_000383.4
AKT2	NM_001626.6
APPL1	NM_012096.3
BLK	NM_001715.3
BLM	NM_000057.4
CD274	NM_014143.4
CDKN1C	NM_000076.2
CEL	NM_001807.6
CELA2A	NM_033440.3
CISD2	NM_001008388.5
CNOT1	NM_001265612.2
DNAJC3	NM_006260.5
DYRK1B	NM_004714.3
EIF2AK3	NM_004836.7
EIF2B1	NM_001414.4
EPHX1	NM_000120.4
FOXA2	NM_021784.5
FOXP3	NM_014009.4
GATA4	NM_002052.5
GATA6	NM_005257.6
GCK	NM_000162.5
GLIS3	NM_152629.4
HNF1A	NM_000545.8
HNF1B	NM_000458.4
HNF4A	NM_175914.4
IER3IP1	NM_016097.5
IL2RA	NM_000417.3
INS	NM_000207.3
INSR	NM_000208.4
IRS1	NM_005544.3
KCNJ11	NM_000525.4
KCNK16	NM_001135105.2
KLF11	NM_003597.5
LRBA	NM_006726.4
LRP6	NM_002336.3
MAFA	NM_201589.4
MIA3	NM_198551.4
MNX1	NM_005515.4
MRAP2	NM_138409.4
NEUROD1	NM_002500.5
NEUROG3	NM_020999.4
NKX2-2	NM_002509.4
ONECUT1	NM_004498.4
PAX4	NM_001366110.1
PAX6	NM_000280.5
PCBD1	NM_000281.4
PCYT1A	NM_005017.4
PDX1	NM_000209.4
PPARG	NM_015869.5
PPP1R15B	NM_032833.5
PTF1A	NM_178161.3
RFX6	NM_173560.4

SLC19A2	NM_006996.3
SLC2A2	NM_000340.2
STAT1	NM_007315.4
STAT3	NM_139276.3
STAT5B	NM_012448.4
TRMT10A	NM_152292.5
WFS1	NM_006005.3
YIPF5	NM_001024947.4
ZFP57	NM_001109809.5
ZMPSTE24	NM_005857.5
ZNF808	NM_001039886.4
MANF	NM_006010.6
<b>Monogenic Obesity</b>	
<b>Gene</b>	<b>Transcript</b>
ACACB	NM_001093.4
ADCY3	NM_004036.5
AFF2	NM_002025.4
AFF4	NM_014423.4
ALMS1	NM_001378454.1
ANOS1	NM_000216.4
ARL6	NM_177976.3
ATRX	NM_000489.6
BBIP1	NM_001195306.2
BBS1	NM_024649.5
BBS10	NM_024685.4
BBS12	NM_152618.3
BBS2	NM_031885.5
BBS4	NM_033028.5
BBS5	NM_152384.3
BBS7	NM_176824.3
BBS9	NM_198428.3
BDNF	NM_170735.6
BRWD3	NM_153252.5
CDKL5	NM_003159.3
CELA2A	NM_033440.3
CEP19	NM_032898.5
CEP290	NM_025114.4
CHD2	NM_001271.4
CHD7	NM_017780.4
CPE	NM_001873.4
CREBBP	NM_004380.3
CUL4B	NM_003588.4
DEAF1	NM_021008.4
DNMT3A	NM_175629.2
DYRK1B	NM_004714.3
EHMT1	NM_024757.5
EIF2S3	NM_001415.4
EP300	NM_001429.4
FBN3	NM_032447.5
FGFR1	NM_023110.3
FMR1	NM_002024.6
GHR	NM_000163.5
GNAS	NM_000516.7
GPD1	NM_005276.4
HDAC4	NM_006037.4
HDAC8	NM_018486.3



<i>IFT172</i>	NM_015662.3
<i>IFT27</i>	NM_006860.5
<i>INPP5E</i>	NM_019892.6
<i>IQSEC2</i>	NM_001111125.3
<i>IRS2</i>	NM_003749.3
<i>ISL1</i>	NM_002202.3
<i>KCTD13</i>	NM_178863.5
<i>KDM6A</i>	NM_021140.4
<i>KIDINS220</i>	NM_020738.4
<i>KMT2A</i>	NM_001197104.2
<i>KMT2D</i>	NM_003482.4
<i>KSR2</i>	NM_173598.6
<i>LAS1L</i>	NM_031206.7
<i>LEP</i>	NM_000230.3
<i>LEPR</i>	NM_002303.6
<i>LZTFL1</i>	NM_020347.4
<i>MAGEL2</i>	NM_019066.5
<i>MC3R</i>	NM_019888.3
<i>MC4R</i>	NM_005912.3
<i>MECP2</i>	NM_004992.4
<i>MEGF8</i>	NM_001410.3
<i>MKKS</i>	NM_018848.3
<i>MKS1</i>	NM_017777.4
<i>MRAP2</i>	NM_138409.4
<i>MYT1L</i>	NM_015025.4
<i>NCOA1</i>	NM_003743.5
<i>NIPBL</i>	NM_133433.4
<i>NPHP1</i>	NM_000272.5
<i>NRG4</i>	NM_138573.4
<i>NRP1</i>	NM_003873.7
<i>NRP2</i>	NM_201266.2
<i>NTRK2</i>	NM_006180.6
<i>P4HTM</i>	NM_177938.2
<i>PCSK1</i>	NM_000439.5
<i>PGM2L1</i>	NM_173582.6
<i>PHF6</i>	NM_032458.3
<i>PHIP</i>	NM_017934.7
<i>PLXNA1</i>	NM_032242.3
<i>PLXNA2</i>	NM_025179.4
<i>PLXNA3</i>	NM_017514.5
<i>PLXNA4</i>	NM_020911.2

<i>POMC</i>	NM_001035256.3
<i>PPARG</i>	NM_015869.5
<i>PRMT7</i>	NM_019023.5
<i>PROK2</i>	NM_001126128.2
<i>PROKR2</i>	NM_144773.4
<i>RAB23</i>	NM_183227.3
<i>RAD21</i>	NM_006265.3
<i>RAI1</i>	NM_030665.4
<i>RPGRIP1L</i>	NM_015272.5
<i>RPS6KA3</i>	NM_004586.3
<i>SDCCAG8</i>	NM_006642.5
<i>SEMA3A</i>	NM_006080.3
<i>SEMA3B</i>	NM_004636.4
<i>SEMA3C</i>	NM_006379.5
<i>SEMA3D</i>	NM_152754.3
<i>SEMA3E</i>	NM_012431.3
<i>SEMA3F</i>	NM_004186.5
<i>SEMA3G</i>	NM_020163.3
<i>SETD5</i>	NM_001080517.3
<i>SH2B1</i>	NM_001145795.2
<i>SIM1</i>	NM_005068.3
<i>SMC1A</i>	NM_006306.4
<i>SMC3</i>	NM_005445.4
<i>SOX10</i>	NM_006941.4
<i>SPEN</i>	NM_015001.3
<i>STX16</i>	NM_001001433.3
<i>TBC1D4</i>	NM_014832.5
<i>TBX1</i>	NM_080647.1
<i>TBX3</i>	NM_005996.4
<i>THRA</i>	NM_199334.5
<i>TRAPPC9</i>	NM_031466.8
<i>TRIM32</i>	NM_012210.4
<i>TRIP12</i>	NM_004238.3
<i>TRPC5</i>	NM_012471.3
<i>TTC8</i>	NM_198309.3
<i>TUB</i>	NM_003320.5
<i>UBE2A</i>	NM_003336.4
<i>UBE3A</i>	NM_130838.4
<i>UCP3</i>	NM_003356.4
<i>VPS13B</i>	NM_017890.5
<i>WDPCP</i>	NM_015910.7

**Supplementary Table 2. Diabetes, obesity and pancreatic insufficiency status in individuals carrying a heterozygous P/LP variant in *PDX1* (NM\_000209.4) from HGMD**

Ind	HGVSp	HGVSp	D/ND (Ao/Ae)	Antidiabetic Treatment	Ob/Ow/Nw	Panc Ins	Ref
1	c.52T>C	p.C18R	D (13 yrs)	Diet	Na	Na	(18)
2	c.52T>C	p.C18R	D (65 yrs)	Insulin	Na	Na	(18)
3	c.52T>C	p.C18R	ND (40 yrs)	None	Na	Na	(18)
4	c.52T>C	p.C18R	D	Na	Na	Na	(19)
5	c.52T>C	p.C18R	D	Na	Na	Na	(19)
6	c.52T>C	p.C18R	D	Na	Na	Na	(19)
7	c.52T>C	p.C18R	D	Na	Na	Na	(19)
8	c.52T>C	p.C18R	D (child)	Insulin	Na	Na	(25)
9	c.52T>C	p.C18R	D	Na	Nw	Na	(26)
10	c.54C>A	p.C18*	D (8 days)	Insulin	Na	No	(13)
11	c.54C>A	p.C18*	ND	None	Na	Na	(19)
12	c.54C>A	p.C18*	ND	None	Na	Na	(19)
13	c.54C>A	p.C18*	ND	None	Na	Na	(19)
14	c.54C>A	p.C18*	D	Na	Na	Na	(19)
15	c.54C>A	p.C18*	D (neonatal)	Na	Nw	Na	(27)
16	c.98delC	p.P33Lfs*90	D	Na	Nw	Na	(28)
17	c.98dupC	p.A34Cfs*191	D (32 yrs)	Na	Na	Na	(13)
18	c.98dupC	p.A34Cfs*191	ND	None	Na	Na	(13)
19	c.176A>T	p.Q59L	D	Na	Na	Na	(29)
20	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (42 yrs)	OHA	Ob	Yes	(14)
21	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (28 yrs)	Metformin	Ow	Yes	(14)
22	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (25 yrs)	Diet	Ow	Yes	(14,30)
23	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (17 yrs)	Na	Na	Yes	(14,30)
24	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (35 yrs)	Na	Na	Yes	(14)
25	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (67 yrs)	Diet	Nw	Yes	(14)
26	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (23 yrs)	OHA	Nw	Yes	(14)
27	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (30 yrs)	OHA	Ow	Yes	(14)
28	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (30 yrs)	Diet	Ow	Yes	(14)
29	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (47 yrs)	Na	Na	Yes	(14)
30	c.188delC	p.P63Rfs*60	ND	None	Na	Na	(14)
31	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (21 yrs)	OHA	Ob	Na	(31,32)
32	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (15 yrs)	OHA	Ob	Na	(31,32)
33	c.188delC	p.P63Rfs*60	D	Insulin	Ob	Na	(32)
34	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (38 yrs)	OHA	Ob	Na	(32)
35	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (17 yrs)	Insulin	Ob	Na	(32)
36	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (17 yrs)	Insulin	Ob	Na	(32)
37	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (38 yrs)	OHA	Ob	Na	(32)
38	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (40 yrs)	Na	Nw	Na	(32)
39	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (2 yrs)	Diet	Nw	Na	(32)
40	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (43 yrs)	Na	Ob	Na	(32)
41	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (15 yrs)	Na	Ob	Na	(32)
42	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (5 yrs)	Na	Nw	Na	(32)
43	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (21 yrs)	Na	Ob	Na	(32)
44	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (49 yrs)	Na	Nw	Na	(32)
45	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (21 yrs)	Na	Na	Na	(32)
46	c.188delC	p.P63Rfs*60	Na (7 yrs)	Na	Na	Na	(32)
47	c.188delC	p.P63Rfs*60	D	Na	Ob	Na	(32)
48	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (17 yrs)	Insulin	Ob	Na	(32)
49	c.188delC	p.P63Rfs*60	D	OHA	Ob	Na	(32)
50	c.188delC	p.P63Rfs*60	D	Insulin	Ob	Na	(32)
51	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (14 yrs)	Insulin, OHA	Nw	Yes	(33)
52	c.188delC	p.P63Rfs*60	D (5 yrs)	Diet	Nw	Yes	(33)
53	c.217dupC	p.L73Pfs*152	D	Na	Na	Na	(12)
54	c.218delT	p.L73Pfs*50	D	Na	Na	Na	(12)
55	c.218delT	p.L73Pfs*50	D (16 yrs)	OHA, DPP4-inhibitor	Nw	No	(8)
56	c.218delT	p.L73Pfs*50	D (55 yrs)	Diet	Ow	No	(8)

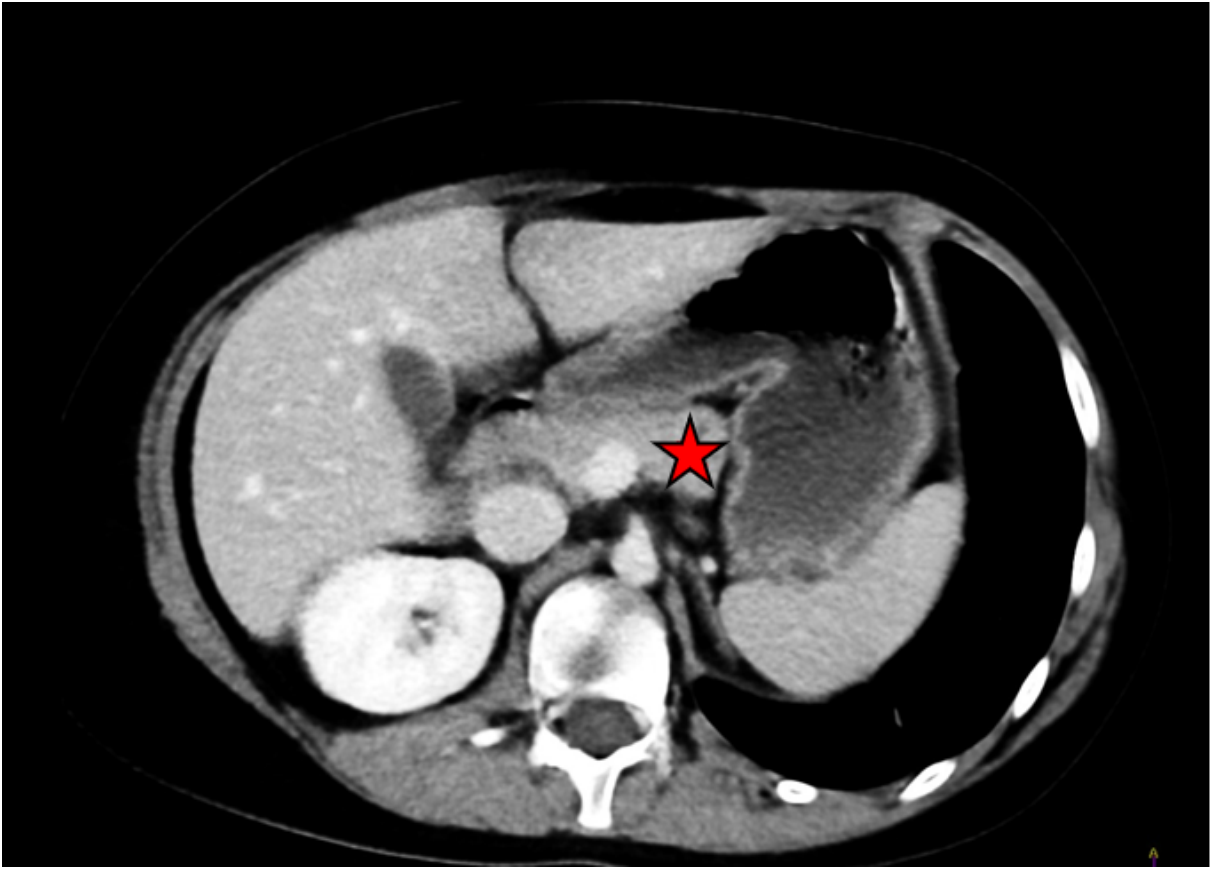
57	c.455C>G	p.A152G	ND	None	Na	Na	(13)
58	c.455C>G	p.A152G	ND	None	Na	Na	(13)
59	c.461C>G	p.T154R	D (16 yrs)	Insulin	Ow	Na	(20)
60	c.461C>G	p.T154R	D (12 yrs)	Insulin	Na	Na	(20)
61	c.461C>G	p.T154R	ND	None	Na	Na	(20)
62	c.482T>C	p.L161P	D (Na)	Insulin	Na	Na	(34)
63	c.488A>G	p.K163R	D (18 yrs)	Insulin	Na	Na	(21)
64	c.488A>G	p.K163R	ND	None	Na	Na	(21)
65	c.492G>T	p.E164D	D (Na)	Na	Nw	Na	(15)
66	c.492G>T	p.E164D	D (39 yrs)	Na	Na	Na	(15)
67	c.499T>G	p.F167V	D	None	Na	Na	(16)
68	c.499T>G	p.F167V	ND	None	Na	Na	(16)
69	c.527G>A	p.R176Q	ND	None	Na	Na	(13)
70	c.529G>A	p.V177M	D (26 yrs)	Insulin	Nw	Na	(35)
71	c.532G>A	p.E178K	ND	None	Ow	Na	(15)
72	c.532G>A	p.E178K	D (27 yrs)	Metformin, Insulin	Nw	Na	(36)
73	c.532G>A	p.E178K	D (10 yrs)	Diet	Ow	Na	(36)
74	c.533A>G	p.E178G	ND (30-38 yrs)	None	Na	No	(37)
75	c.533A>G	p.E178G	ND (30-38 yrs)	None	Na	No	(37)
76	c.533A>G	p.E178G	ND (30-38 yrs)	None	Na	No	(37)
77	c.533A>G	p.E178G	ND (30-38 yrs)	None	Na	No	(37)
78	c.559G>A	p.E187K	D (<25 yrs)	Na	Nw	Na	(19)
79	c.571A>C	p.K191Q	D (<25 yrs)	Na	Na	Na	(38)
80	c.590G>A	p.R197H	D (36 yrs)	OHA	Na	Na	(18)
81	c.590G>A	p.R197H	D (45 yrs)	OHA	Na	Na	(18)
82	c.651delT	p.G218Afs*12	D	Na	Na	Na	(22)
83	c.651delT	p.G218Afs*12	D	Na	Na	Na	(22)
84	c.651delT	p.G218Afs*12	D	Na	Na	Na	(22)
85	c.651delT	p.G218Afs*12	ND	None	Na	Na	(22)
86	c.670G>A	p.E224K	D (34 yrs)	Insulin	Ow	Na	(23)
87	c.670G>A	p.E224K	D	Na	Ow	Na	(23)
88	c.670G>A	p.E224K	D (13 yrs)	Thiazolidinedione	Ob	Na	(23)
89	c.670G>A	p.E224K	D (19 yrs)	OHA, Metformin	Ob	Na	(23)
90	c.670G>A	p.E224K	D (21 yrs)	Insulin	Ob	Na	(23)
91	c.670G>A	p.E224K	ND (16 yrs)	None	Na	Na	(23)
92	c.670G>A	p.E224K	ND (11 yrs)	None	Nw	Na	(23)
93	c.670G>A	p.E224K	D (25 yrs)	Insulin	Na	Na	(23)
94	c.670G>A	p.E224K	D (10 yrs)	Insulin	Nw	Na	(39)
95	c.670G>A	p.E224K	D	Na	Na	Na	(39)
96	c.670G>A	p.E224K	D (28 yrs)	OHA	Nw	Na	(35)
97	c.670G>A	p.E224K	D (40 yrs)	OHA	Na	Na	(35)
98	c.670G>A	p.E224K	D (33 yrs)	OHA	Na	Na	(35)
99	c.670G>A	p.E224K	D (28 yrs)	Metformin, OHA	Ob	Na	(35)
100	c.670G>A	p.E224K	D (35 yrs)	Insulin	Nw	Na	(35)
101	c.694_697delGGCG insAGCT	p.G232_E233delinsS*	D (26 yrs)	Metformin (stop), Thiazolidinedione, OHA (switch after metformin then stop), DPP4- inhibitor (after OHA), then Insulin	Nw	Na	(9)

**Ao.Ae**, age of impaired glucose control onset (**D**) or age at examination of non-diabetic carriers (**ND**) if known; **D**, Diabetes or glucose intolerance or gestational diabetes; **ND**, non-diabetic; **Nw**, normal weight; **Ob**, obesity; **Ow**, overweight; **Panc Ins**, pancreatic insufficiency (including agenesis, abnormalities of pancreas, or pancreatic endocrine dysfunction); **Na**, not available.

**Supplementary Table 3. P/LP *PDX1* variants identified in the T2D knowledge Portal (52K and TopMED Studies)**

Location	Variants (NM_000209.4)	Minor Allele Frequency (GnomAD; v2.1.1)	52K	TopMED
13:28494327:T:C	p.Cys18Arg	0.0002014	1	1
13:28494398:G:GC	p.Pro44AlafsTer181	-	1	0
13:28494451:A:T	p.Gln59Leu	0.0000155	1	1
13:28494457:GC:G	p.Pro63ArgfsTer60	-	1	1
13:28494485:GC:G	p.Leu73SerfsTer50	-	0	1
13:28494574:TC:T	p.Pro101ArgfsTer22	-	1	0
13:28494677:G:A	p.Trp134Ter	-	1	0
13:28498487:CA:C	p.Asn168ThrfsTer16	-	0	1
13:28498656:G:A	p.Glu224Lys	0.009502	1	0
13:28498683:G:T	p.Glu233Ter	0.0001084	1	1
13:28498712:G:GC	p.Gly245ArgfsTer22	-	0	1

**Supplementary Figure 1. Caudal pancreatic agenesis in one heterozygote from the family**



The figure was extracted from a computed tomography scan. The red star indicates the limit of the pancreatic tail and the presence of caudal pancreatic agenesis.

## REFERENCES

1. Bonnefond, A. *et al.* Monogenic diabetes. *Nat. Rev. Dis. Primer* **9**, 12 (2023).
2. Stoffers, D. A., Ferrer, J., Clarke, W. L. & Habener, J. F. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat. Genet.* **17**, 138–139 (1997).
3. Stoffers, D. A., Zinkin, N. T., Stanojevic, V., Clarke, W. L. & Habener, J. F. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat. Genet.* **15**, 106–110 (1997).
4. Hani, E. H. *et al.* Defective mutations in the insulin promoter factor-1 (IPF-1) gene in late-onset type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* **104**, R41-48 (1999).
5. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care* **44**, S15–S33 (2021).
6. Bonnefond, A. *et al.* Pathogenic variants in actionable MODY genes are associated with type 2 diabetes. *Nat. Metab.* **2**, 1126–1134 (2020).
7. Richards, S. *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.* **17**, 405–424 (2015).
8. Yoshiji, S. *et al.* First Japanese Family With PDX1-MODY (MODY4): A Novel PDX1 Frameshift Mutation, Clinical Characteristics, and Implications. *J. Endocr. Soc.* **6**, bvab159 (2022).
9. Mangrum, C., Rush, E. & Shivaswamy, V. Genetically Targeted Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Use in a Patient with a Novel Mutation of MODY type 4. *Clin. Med. Insights Endocrinol. Diabetes* **8**, 83–86 (2015).
10. Folon, L. *et al.* Contribution of heterozygous PCSK1 variants to obesity and implications for precision medicine: a case-control study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **11**, 182–190 (2023).
11. Costanzo, M. C. *et al.* The Type 2 Diabetes Knowledge Portal: An open access genetic resource dedicated to type 2 diabetes and related traits. *Cell Metab.* **35**, 695-710.e6 (2023).
12. Colclough, K., Ellard, S., Hattersley, A. & Patel, K. Syndromic Monogenic Diabetes Genes Should Be Tested in Patients With a Clinical Suspicion of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Diabetes* **71**, 530–537 (2022).
13. De Franco, E. *et al.* Biallelic PDX1 (insulin promoter factor 1) mutations causing neonatal diabetes without exocrine pancreatic insufficiency. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc.* **30**, e197-200 (2013).

14. Clocquet, A. R. *et al.* Impaired insulin secretion and increased insulin sensitivity in familial maturity-onset diabetes of the young 4 (insulin promoter factor 1 gene). *Diabetes* **49**, 1856–1864 (2000).
15. Schwitzgebel, V. M. *et al.* Agenesis of human pancreas due to decreased half-life of insulin promoter factor 1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 4398–4406 (2003).
16. Sahebi, L. *et al.* Iranian neonatal diabetes mellitus due to mutation in PDX1 gene: a case report. *J. Med. Case Reports* **13**, 258 (2019).
17. Nicolino, M. *et al.* A novel hypomorphic PDX1 mutation responsible for permanent neonatal diabetes with subclinical exocrine deficiency. *Diabetes* **59**, 733–740 (2010).
18. Macfarlane, W. M. *et al.* Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* **104**, R33-39 (1999).
19. Flannick, J. *et al.* Assessing the phenotypic effects in the general population of rare variants in genes for a dominant Mendelian form of diabetes. *Nat. Genet.* **45**, 1380–1385 (2013).
20. Al-Kandari, H. *et al.* Identification of Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY) mutations in a country where diabetes is endemic. *Sci. Rep.* **11**, 16060 (2021).
21. Kulkarni, A., Sharma, V. K. & Nabi, F. PDX1 Gene Mutation with Permanent Neonatal Diabetes Mellitus with Annular Pancreas, Duodenal Atresia, Hypoplastic Gall Bladder and Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Indian Pediatr.* **54**, 1052–1053 (2017).
22. Steinthorsdottir, V. *et al.* Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. *Nat. Genet.* **46**, 294–298 (2014).
23. Cockburn, B. N. *et al.* Insulin promoter factor-1 mutations and diabetes in Trinidad: identification of a novel diabetes-associated mutation (E224K) in an Indo-Trinidadian family. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 971–978 (2004).
24. Lian, H. *et al.* Prevalence and Clinical Characteristics of PDX1 Variant Induced - Diabetes in Chinese Early Onset Type 2 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* dgad303 (2023) doi:10.1210/clinem/dgad303.
25. Johnson, S. R. *et al.* Comprehensive genetic screening: The prevalence of maturity-onset diabetes of the young gene variants in a population-based childhood diabetes cohort. *Pediatr. Diabetes* **20**, 57–64 (2019).
26. Wang, X. *et al.* Point mutations in the PDX1 transactivation domain impair human  $\beta$ -cell development and function. *Mol. Metab.* **24**, 80–97 (2019).
27. Ellard, S. *et al.* Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia* **56**, 1958–1963 (2013).

28. Breidbart, E. *et al.* Frequency and characterization of mutations in genes in a large cohort of patients referred to MODY registry. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* **34**, 633–638 (2021).
29. Hani, E. H. *et al.* Defective mutations in the insulin promoter factor-1 (IPF-1) gene in late-onset type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* **104**, R41-48 (1999).
30. Stoffers, D. A., Zinkin, N. T., Stanojevic, V., Clarke, W. L. & Habener, J. F. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPF1 gene coding sequence. *Nat. Genet.* **15**, 106–110 (1997).
31. Thomas, I. H. *et al.* Neonatal diabetes mellitus with pancreatic agenesis in an infant with homozygous IPF-1 Pro63fsX60 mutation. *Pediatr. Diabetes* **10**, 492–496 (2009).
32. Fajans, S. S. *et al.* Obesity and hyperinsulinemia in a family with pancreatic agenesis and MODY caused by the IPF1 mutation Pro63fsX60. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* **156**, 7–14 (2010).
33. Caetano, L. A. *et al.* PDX1 -MODY and dorsal pancreatic agenesis: New phenotype of a rare disease. *Clin. Genet.* **93**, 382–386 (2018).
34. Yu, M. G. *et al.* Residual  $\beta$  cell function and monogenic variants in long-duration type 1 diabetes patients. *J. Clin. Invest.* **129**, 3252–3263 (2019).
35. Chapla, A. *et al.* Maturity onset diabetes of the young in India - a distinctive mutation pattern identified through targeted next-generation sequencing. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **82**, 533–542 (2015).
36. Abreu, G. de M. *et al.* PDX1-MODY: A rare missense mutation as a cause of monogenic diabetes. *Eur. J. Med. Genet.* **64**, 104194 (2021).
37. Nicolino, M. *et al.* A novel hypomorphic PDX1 mutation responsible for permanent neonatal diabetes with subclinical exocrine deficiency. *Diabetes* **59**, 733–740 (2010).
38. Brahm, A. J. *et al.* Genetic Confirmation Rate in Clinically Suspected Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Can. J. Diabetes* **40**, 555–560 (2016).
39. Doddabelavangala Mruthyunjaya, M. *et al.* Comprehensive Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) Gene Screening in Pregnant Women with Diabetes in India. *PloS One* **12**, e0168656 (2017).



## **Heterozygous pathogenic variants in *POMC* are not responsible for monogenic obesity: implication for MC4R agonist use**

Lauriane Le Collen<sup>1,2,3,4</sup>, Brigitte Delemer<sup>2</sup>, Christine Poitou<sup>5</sup>, Martine Vaxillaire<sup>1,4</sup>, Bénédicte Toussaint<sup>1,4</sup>, Aurélie Dechaume<sup>1,4</sup>, Alaa Badreddine<sup>1,4</sup>, Mathilde Boissel<sup>1,4</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>1,4</sup>, Karine Clément<sup>5</sup>, Jean Michel Petit<sup>6</sup>, Frédéric Tran Mau-Them<sup>7,8</sup>, Ange-Line Bruel<sup>7,8</sup>, Christel Thauvin-Robinet<sup>7,8,9</sup>, Alexandru Saveanu<sup>10,11,12</sup>, Blandine Gatta Cherifi<sup>13,14,15</sup>, Johanne Le Beyec-Le Bihan<sup>16,17</sup>, Philippe Froguel<sup>1,4,18</sup>, Amélie Bonnefond<sup>1,4,18</sup>

<sup>1</sup>Inserm/CNRS UMR 1283/8199, Pasteur Institute of Lille, EGID, Lille, France; <sup>2</sup>Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France; <sup>3</sup>Department of Clinical Genetic, University Hospital Center of Reims, Reims, France; <sup>4</sup>University of Lille, Lille, France; <sup>5</sup>Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Nutrition Department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France; Sorbonne Université, INSERM, Nutrition and Obesity : systemic approaches Research Unit (NutriOmics), Paris, France; <sup>6</sup>Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Central of F.Mitterrand Dijon-Bourgogne; <sup>7</sup>Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic Génomique des maladies rares, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France; <sup>8</sup>INSERM UMR1231 GAD, F-21000, Dijon, France; <sup>9</sup>Centre de Référence Maladies Rares “Anomalies du développement et syndromes malformatifs”, Centre de Génétique, FHU TRANSLAD et Institut GIMI, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France; <sup>10</sup>Aix-Marseille University, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1251, Marseille Medical Genetics (MMG), Marseille, France; <sup>11</sup>Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Reference Center for Rare Pituitary Diseases HYPO, Marseille, France; <sup>12</sup>Assistance-Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Laboratory of Molecular Biology, Conception Hospital, Marseille, France; <sup>13</sup>CHU Bordeaux, Endocrinology, Diabetology & Nutrition, F-33000, Bordeaux, France; <sup>14</sup>University of Bordeaux, F-33000, Bordeaux, France; <sup>15</sup>INSERMU1215 Neurocentre Magendie, University of Bordeaux, Bordeaux, France; <sup>16</sup>Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Endocrine and Oncological Biochemistry Department, Pitié-Salpêtrière Hospital, Sorbonne University, Paris, France; <sup>17</sup>INSERMU1149, Centre de recherche sur l’inflammation, Paris, France; <sup>18</sup>Department of Metabolism, Imperial College London, London, United Kingdom

Correspondence to: Amélie Bonnefond ([amelie.bonnefond@inserm.fr](mailto:amelie.bonnefond@inserm.fr))

and Lauriane Le Collen ([lle-collen@chu-reims.fr](mailto:lle-collen@chu-reims.fr))

Inserm UMR1283, CNRS UMR8199, European Genomic Institute for Diabetes, Université de Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille University Hospital, 59045 Lille Cedex, France

*Word count (main manuscript): 2828*

## **Abstract**

**Purpose.** Recessive deficiency for proopiomelanocortin (POMC) causes childhood-onset severe obesity. Cases can now benefit from the MC4R agonist setmelanotide. Furthermore, a phase 3 clinical trial is evaluating setmelanotide in heterozygotes for *POMC*. We performed a large-scale genetic analysis assessing the effect of heterozygous, pathogenic *POMC* variants on obesity.

**Methods.** A genetic analysis was performed in a family including two cousins with childhood-onset obesity. We analyzed the obesity status of heterozygotes for pathogenic *POMC* variants in the Human Gene Mutation Database (HGMD). The association between heterozygous, pathogenic *POMC* variants and obesity risk was assessed using 190,000 exome samples from UK Biobank.

**Results.** The two cousins carried a compound heterozygous, pathogenic variant in *POMC*. Six siblings were heterozygotes; only one of them had obesity. In HGMD, we identified 60 heterozygotes for pathogenic *POMC* variants, of whom 14 had obesity. In UK Biobank, heterozygous, pathogenic *POMC* variants were not associated with obesity risk, but modestly increased body mass index levels.

**Conclusions.** Heterozygous, pathogenic *POMC* variants do not contribute to monogenic obesity, but slightly increase BMI. Setmelanotide use in patients with obesity which would only be based on the presence of a heterozygous *POMC* variant can be questioned.

*Keywords:* obesity; Hypocortisolism; POMC; Heterozygous; Variant.

## Introduction

Obesity and overweight are global public health problems, and 671 million individuals (12% of the world's adult population) suffer from obesity (NCD Risk Factor Collaboration Data) <sup>1</sup>. Obesity is a multifactorial background <sup>1,2</sup>. It includes rare, monogenic forms mostly due to pathogenic variants in genes involved in the leptin-melanocortin pathway (including *MC4R*, *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1*, etc.) which regulates food intake <sup>2,3</sup>. These monogenic forms are characterized by severe early-onset weight gain, diversely associating eating behavior disorders, neurodevelopmental disorders, pituitary deficiencies, and polymalformative syndromes <sup>2</sup>.

*POMC* deficiency was firstly described in 1998 <sup>4</sup>. *POMC* encodes proopiomelanocortin that is the precursor of numerous biologically active peptides including  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH) and adrenocorticotrophic hormone (ACTH);  $\alpha$ -MSH is the ligand for melanocortin 4 receptor (MC4R) and melanocortin 1 receptor (MC1R), and ACTH binds to MC2R (melanocortin 2 receptor) <sup>5</sup>. The patients carrying biallelic pathogenic *POMC* variants present with severe early-onset obesity along with a neonatal corticotrophic insufficiency, sometimes associated with skin hypopigmentation with red hair <sup>4</sup>. In these cases, obesity was ascribed to a loss of inhibitory tone of appetite via the lack of ligation of  $\alpha$ -MSH to MC4R; neonatal hypocortisolism was related to the absence of ligation of ACTH to MC2R; and skin hypopigmentation with red hair was explained by the lack of ligation of  $\alpha$ -MSH to MC1R <sup>5</sup>. Other endocrine features such as central hypothyroidism and hypogonadism may also be present <sup>6</sup>.

Patients who suffered from severe, early-onset obesity can now be treated by molecules targeting the melanocortin pathway. ObeRar cohort aims to personalize individual care management using innovative therapies (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04604626). The MC4R agonist setmelanotide has been proven to be effective in patients with obesity who were

recessively deficient for *POMC*, *LEPR* and *PCSK1*<sup>3,7,8</sup>; and consequently, this treatment has recently been approved by the United States Food and Drug Administration and the European Medicines Agency<sup>8</sup>. Setmelanotide is currently being evaluated in patients with obesity who carry rare, heterozygous *POMC* variants (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05093634). However, the effect of heterozygous *POMC* variants on obesity (including severe, early-onset forms) is still elusive.

To address this question, we analyzed a large non-consanguineous family, including two cousins who suffered from severe obesity and neonatal hypocortisolism, along with progressive multiple pituitary deficiencies. We identified three heterozygous, pathogenic *POMC* variants in this family; the two cousins carrying a compound heterozygous *POMC* variant as expected. We then carefully analyzed the heterozygotes of the family; and we performed a review of the literature. We finally used UK Biobank exome data to analyze the effect of heterozygous, pathogenic *POMC* variants on obesity risk and body mass index (BMI) levels.

## **Materials and Methods**

**Study participants.** We collected clinical data of two first cousins (Patient A and Patient B) from pediatric and adult medical records related to endocrinology. We reported family data focusing on the heterozygotes for pathogenic *POMC* variants. Following French laws, we obtained the consents from patients' and their relatives'.

We performed a review of the literature and gathered clinical and biological data of the heterozygotes ( $n=60$ ) for rare, pathogenic *POMC* variants from Human Gene Mutation Database (HGMD Pro 2022 v3).

We used participants ( $n=187,727$  individuals) with available exome data from UK Biobank. This research is part of UK Biobank research application #67575.

In HGMD, obesity in adults was classified into three categories (according to Centers for Disease Control and Prevention): Class I obesity (or 'obesity'), BMI of 30-34.9 kg/m<sup>2</sup>; Class II obesity, BMI of 35-39.9 kg/m<sup>2</sup>; Class III obesity, BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>. Severe obesity was defined by BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> in adults.

Classification of childhood obesity was done according to available data. Childhood obesity was defined by  $\geq 2$  SDS-BMI (with z-score, according to World Health Organization) or a BMI  $\geq 95$ th percentile (according to Centers for Disease Control and Prevention). Severe obesity was defined by a  $\geq 3$  SDS-BMI (z-score), BMI  $\geq 120\%$  of the 95th percentile or BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> (according to Centers for Disease Control and Prevention).

In UK Biobank the case control for adult obesity was defined, with cases having BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> and controls having BMI  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>. The case control for adult overweight was defined with cases having BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> and controls having BMI  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>. BMI data outliers were excluded using Tukey methods (quartiles +/- 3 times IQR).

**Genetic analyses in the family.**

**Karyotyping.** Conventional cytogenetic analysis was performed on peripheral blood lymphocytes from Patient A using the 550-band including GTG (G-bands after trypsin and Giemsa) and RHG (R-bands by heating using Giemsa) banding for family members.

**DNA microarray.** Array comparative genomic hybridization (CGH) was performed in Patient A using Agilent 8×60k oligoarrays (SurePrint G3 Human CGH Microarray 8×60k). Random primer labelling and hybridization were carried out with sex-matched reference DNA according to the manufacturer's recommendations and results were analyzed using cytogenomics (v4.0.2.21) software (Agilent Technologies).

**Sanger sequencing.** Genomic DNA was PCR-amplified using sets of flanking intronic primers for direct sequencing of *TBX19*, *PROPI* and *LHX3* as previously described for Patient A <sup>9</sup>. Amplification was carried out for this patient, using the Hot Start Taq polymerase kit protocol (Qiagen). Sequencing was assessed with a 3130 XL Genetic analyzer (Life Technologies). Sequences were analyzed using Variant Reporter software (Life Technologies) <sup>10</sup>. A solo strategy was used for Patient B, following protocols which were previously described <sup>11</sup> to analyse *PIT1*, *PROPI*, *OTX2* and *GLI2*. POMC-targeted sequencing was performed as a second step in Patient B following standard protocols.

**Exome sequencing and analysis of siblings.** Exome sequencing was performed in Patient A. For this purpose, we used Human Core Exome Kit (Twist Bioscience) and Illumina sequencing (on the NovaSeq6000 system). Sequence reads were aligned to the Human Genome Reference Sequence (GRCh38). Based on the clinical data of Patient A, we analyzed 114 genes linked with monogenic obesity. Sanger sequencing focusing on *POMC* (NM\_001035256.3) was then performed in the paternal grandparents of Patient A, her mother, her brother, and the close family of Patient B (including seven siblings in total). Primer sequences and PCR conditions are available upon request.

**Analyses of genetic variants.** To assess the pathogenicity of the variants we used the standards and guidelines of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) <sup>12</sup>. For the supporting pathogenic criterion PP3, we used PolyPhen-2 (HumDiv), SIFT and Mutation Taster. Variants addressing the supporting pathogenic criterion PP4 were previously reported homozygous or compound heterozygous in patients with severe early-onset obesity and adrenal insufficiency. Variants addressing the supporting pathogenic criterion PP5 have already been reported pathogenic or likely pathogenic in ClinVar and/or HGMD database (Pro 2022 v3). None of the pathogenic or likely pathogenic (P/LP) variants reported in the present manuscript had a minor allele frequency (MAF) > 0.1% in the Genome Aggregation Database (gnomAD; v2.1.1).

**Genetic analyses in UK Biobank.**

***Detection of P/LP POMC variants.*** We used exome data from pVCF format (field #23156). All P/LP *POMC* variants were heterozygous. All P/LP *POMC* variants had a coverage higher than 16 reads and a quality GQ score higher than 40.

***Statistical analyses for association studies.*** We used the MiST method <sup>13</sup> to assess the effect of P/LP *POMC* variants on overweight or obesity and BMI, as previously described <sup>14</sup>. Briefly, heterozygous P/LP *POMC* variants were analyzed as a single cluster. We obtained a score statistics  $S(\pi)$  for the mean effect ( $\pi$ ) of the study population. These analyses were adjusted for age, sex, and ancestry (*i.e.* first five genetic principal components available in the field #22009). The BMI data were not normally distributed so we use the log-transformed to get a normal shape. As none analyses had a significant p-value related to the heterogeneity of the cluster ( $\tau$ ), we only showed p-values related to the effect of the cluster ( $\pi$ ) below.

## Results

### Genetic investigation of the two cousins with childhood-onset severe obesity and hypocortisolism

We describe the phenotypes of two first cousins (Patient A and Patient B) from a nonconsanguineous family, referred for neonatal hypocortisolism associated with early-onset and severe obesity (**Table 1**). The weight growth chart revealed a  $> 3$  SDS-BMI at nine months for Patient A (**Supplementary Figure 1**) and  $> 3$  SDS-BMI at 15 months for Patient B (**Supplementary Figure 2**). Additionally, Patient A had drug-resistant epilepsy, possibly due to these episodes of neonatal hypoglycemia. Patient B suffered from psychomotor sequelae possibly due to cerebral anoxia and convulsive crises. They subsequently suffered from combined pituitary hormonal deficiency (CPHD) (**Table 1**). Their skin color was pale but not associated with red hair (**Table 1**).

In Patient A, the first genetic investigations including karyotyping, CGH-array, and targeted sequencing of genes linked with hypopituitarism failed to find any P/LP genetic event. In Patient B, genetic investigations also failed to find a genetic etiology. At the age of 28 years, Patient B was found to carry a compound heterozygous pathogenic variant in *POMC* (NM\_001035256.3:c.416dup p.(Tyr139\*) and c.84C>A p.(Cys28\*)) (**Supplementary Figure 3**). These two variants were genetically null and were not present in GnomAD (**Supplementary Table 1**). As the clinical presentations were similar in the two cousins, a targeted *POMC* sequencing was then performed in Patient A. This patient only shared c.416dup p.(Tyr139\*) variant, which was inherited from her mother (**Figure 1**). As a single heterozygous *POMC* variant was unlikely to explain alone Patient A's severe early-onset obesity and hypocortisolism, we performed exome sequencing that revealed a second pathogenic *POMC* variant (c.-11C>A; **Supplementary Figure 3; Supplementary Table 1**). This non-coding



variant has already been shown to be pathogenic in the literature via *in vitro* assays<sup>4,15</sup>, and is very rare in GnomAD (MAF of  $2.8 \times 10^{-5}$ ).

Following the genetic diagnosis of *POMC* deficiency, daily setmelanotide injections were administered to both patients and led to significant decrease in weight and feeling of hunger. Notable side effects have been melanocyte hyperstimulation, responsible for melanoaderma in both patients.

### **Familial description of siblings carrying a heterozygous pathogenic variant in *POMC***

In the family, we then investigated the phenotypes of the heterozygotes for P/LP *POMC* variants. Indeed, when the heterozygotes have severe, early-onset obesity, they may be eligible for setmelanotide treatment according to the current clinical trial (NCT05093634). Only one out of six heterozygotes of the family for P/LP *POMC* variants presented with obesity (**Figure 1**). However, Patient A's father only suffered from mild obesity Class I, which occurred during adulthood. Unfortunately, he passed away, and we were not able to collect further information or perform a genetic test. Patient A's mother who carried c.416dup p.(Tyr139\*) variant did not present with overweight (BMI of 20 kg/m<sup>2</sup>) at 61 years (**Figure 1**). Her hormonal profile was normal (data not shown). Patient A's brother who carried the c.-11C>A variant had a normal weight (BMI of 24 kg/m<sup>2</sup>) at 29 years old (**Figure 1**). His hormonal workup showed no pituitary deficiency (data not shown). No other heterozygotes for a P/LP *POMC* variant had overweight (BMI value between 20 and 24 kg/m<sup>2</sup>). We did not have the current BMI of one of the heterozygotes in the family, but she did not report history of obesity (Patient I.2; **Figure 1**). The median BMI value in the family was normal at  $24 \pm 4.2$  kg/m<sup>2</sup>. In conclusion, in this family with strong evidence of variants in *POMC* causing obesity, the heterozygote state was not associated with severe, childhood obesity or with pituitary dysfunction.

### **Effect of rare, heterozygous P/LP *POMC* variants on obesity**

To support further these negative findings, we then questioned the contribution of rare, heterozygous P/LP *POMC* variants to obesity in various cohorts. We first collected from the literature the data linked to obesity on heterozygotes for P/LP *POMC* variants. We noticed 16 heterozygous P/LP *POMC* variants in HGMD (**Table 2**), that were carried by 60 patients (including c.-11C>A variant) (**Supplementary Table 1**). Among these patients, only 14 had obesity (23%), 27 had overweight (45%) and 19 had normal weight (32%) (**Table 2**). Among the 11 adults with obesity, only two patients had Class III obesity, and three patients had Class II obesity. Among the three children with obesity, only one children had severe obesity (**Table 2**). Obesity was less severe and the onset was later in heterozygotes when compared to carriers of biallelic P/LP *POMC* variants (data not shown). No heterozygotes were reported with pituitary hormone deficiency or intellectual disability (data not shown). Therefore, even in the literature linked to obesity, carrying a heterozygous P/LP *POMC* variant does not lead to a dominant form of obesity.

We finally analyzed the 190K exome samples from UK Biobank. We identified 17 rare, heterozygous P/LP variants in *POMC* (**Supplementary Tables 1 and 2**). Among the heterozygotes for a rare, P/LP *POMC* variant, 39.2% had obesity while the obesity rate was 42.4% in non-heterozygotes. When adjusting for age, sex and ancestry the burden of rare, P/LP *POMC* variants did not have a significant effect on obesity risk ( $P=0.47$  with an odds ratio [OR] of 0.84, 95% confidence interval [CI]: 0.51-1.3; **Table 3**). Furthermore, we did not find a significant association between risk of overweight or obesity and the burden of rare, P/LP *POMC* variants (68.8% overweight or obesity in heterozygotes *versus* 67.0% overweight or obesity in non-heterozygotes;  $P=0.57$  with an OR of 1.1, 95% CI: 0.78-1.6; **Table 3**). In contrast, the burden of rare, heterozygous P/LP *POMC* variants was only significantly

associated with a slight increase of BMI (26.8 kg/m<sup>2</sup> in heterozygotes *versus* 26.7 kg/m<sup>2</sup> in non-heterozygotes;  $P=8.5\times 10^{-5}$  with an effect [ $\pi$ ] of  $0.070 \pm 0.018$ ; **Table 3**).

## Discussion

Our data seem to rule out that rare, heterozygous P/LP variants in *POMC* cause a dominant form of monogenic obesity, which was illustrated by the description of a large family with three different rare P/LP *POMC* variants and different heterozygotes from large databases (*i.e.* HGMD and UK Biobank).

In the literature linked to obesity, the putative association between obesity and heterozygous P/LP variants in *POMC* is highly debatable as based on case reports with heterogeneous criteria for pathogenicity evaluation. Indeed, in most cases, the patients described carried heterozygous variants of uncertain significance (VUS) or variants with a high MAF in GnomAD<sup>16-24</sup>. We have identified only a few reports suggesting a possible association between Class I obesity and heterozygous *POMC* in children<sup>16,22</sup>. Another study suggested a relationship between several heterozygous variants in *POMC* and severe obesity<sup>24</sup>. However, the classification of variants may be questionable by the fact that the authors classified the variants into three groups according to their functional effects (high / moderate / low functional impact) predicted by several software programs (PolyPhen-2, UMD-Predictor, Mutation Assessor, and Align GVGD)<sup>24</sup>. This classification can be challenged in view of the lack of reliability, due to the grouping of software programs and the establishment of a random threshold to define a damaging effect of the variants.

In our family, Patient A carries the heterozygous variant c.416dup p.(Tyr139\*). This variant had not previously been reported in the literature. Moreover, it was not found in UK Biobank. In contrast, the second cryptic c.-11C>A variant carried by Patient A has been identified in previous studies as pathogenic based on functional *in vitro* studies<sup>4,15</sup>. This variant was found

in heterozygotes suffering from obesity in one study <sup>24</sup>. However, its impact on obesity in the heterozygous state seems modest, given its presence in six individuals with normal weight in the HGMD database (**Table 2**). Of the 60 heterozygotes of the P/LP *POMC* variants reported in HGMD, only 14 had obesity (including 5 with severe obesity). In addition, these results are obviously confounded by the primary recruitment of index cases with biallelic, P/LP *POMC* variants within families with obesity. To assess the impact of these variants on BMI and obesity risk, we overcame this issue by studying exome data from UK biobank that is a large population study. The heterozygotes for a rare, P/LP *POMC* variant were not more likely to have obesity than the non-heterozygotes. However, we only found a very modest increase in BMI (0.1 unit of BMI) associated with these variants. This effect was comparable to the effect of a common single nucleotide polymorphism found by a genome-wide association study.

In conclusion, we have no evidence from both family study and the general population that carrying a single heterozygous P/LP variant in *POMC* is causing a dominant form of (severe) obesity or is associated with a higher risk of obesity. These results have implications in precision obesity medicine as the novel MC4R agonist setmelanotide is used with great efficacy in *POMC*-deficient patients (homozygotes or compound heterozygotes) <sup>8</sup>, as we also evidenced in Patients A and B. Given the absence of demonstrated association between rare heterozygous P/LP *POMC* variants and the development of obesity, the use of setmelanotide in patients with severe obesity which would only be based on the presence of a heterozygous, pathogenic *POMC* variant can be questioned. The present study is limited by the fact that our analysis was focused on P/LP variants only. Functional studies of all heterozygous *POMC* variants associated with a more in-depth phenotyping of each heterozygote would allow us to confirm the present data.

## **Acknowledgments**

The authors would like to thank the two patients and their families for their cooperation. We are specifically thankful to the LIGAN platform (Lille, France) for genetic investigation. We are also thankful to the genetic laboratory of Marseille (France) and Dijon (France). We would like to thank the Pediatric diabetology Department, American Hospital (University Hospital, Reims, France) for his participation.

## **Funding and Assistance**

This study was also supported by grants from the French National Research Agency (ANR-10-LABX-46 [European Genomics Institute for Diabetes] and ANR-10-EQPX-07-01 [LIGAN-PM]), and from the National Center for Precision Diabetic Medicine – PreciDIAB, which is jointly supported by the French National Agency for Research (ANR-18-IBHU-0001), by the European Union (FEDER) 20001891/NP0025517, by the Hauts-de-France Regional Council and by the European Metropolis of Lille (MEL 2019\_ESR\_11). A.Bon. is supported by the European Research Council (ERC OπO: 101043671). This research has been conducted using the UK Biobank Application #67575. We also thank “France Génomique” consortium (ANR-10-INBS-009).

## **Data Availability**

Identified data have been reported including figures, tables, and supplementary records. Some information is available upon request: Primer sequences, PCR conditions, and hormonal profile of two heterozygotes within the family. Data concerning heterozygotes for *POMC* compared to carriers of biallelic P/LP *POMC* variants are also available upon request.

## **Conflict of Interest**

Authors declare that they have no competing interests.

## **Ethics declaration**

All procedures followed were following the ethical standards of the committee responsible for human experimentation (institutional and national) and the 1975 Declaration of Helsinki, as revised in 2000. Informed consent for genetic testing was required from all individuals reported.

This report does not qualify for submission to an IRB or REC.

### **Author Contributions and Guarantor Statement**

Conceptualization: A.Bon., L.L.C., B.D., P.F;

Data Curation: A.Bon., L.L.C., M.B., M.D., M.V., A.Bad., A.D.;

Formal analysis: M.V., B.T., A.Bad., A.S., A.D., M.B., M.D., J.L.B., C.T.R., F.T.MT, A.L.B, A.Bon.;

Funding acquisition: A.Bon., P.F.;

Investigation: A.Bon., L.L.C, B.D., B.G.C., C.P., C.T.R., K.C., J.M.P., J.L.B.;

Methodology: A.Bon., M.V., B.T., A.Bad., A.S., M.B., M.D., J.L.B., C.T.R.;

Project Administration: A.Bon.;

Resources: A.Bon., P.F.;

Supervision: A.Bon., P.F., B.D.;

Original draft: A.Bon., L.L.C;

Review and Editing: L.L.C, B.D., C.P., M.V., B.T., A.D., A.Bad., M.B., M.D, K.C., J.M.P, F.T.M.T, A.L.B, C.T.R, A.S., B.G.C, J.LB, P.F, A. Bon.;

**Table 1. Clinico-biological characteristics of Patients A and B from one family.**

		<b>PATIENT A</b>		<b>PATIENT B</b>	
<b>Sex</b>		Female		Male	
<b>Compound heterozygous POMC variants</b>	<b>(NC_000002.12)</b>	25164783G>T	25161469dup	25164689G>T	25161469dup
	<b>(NM_001035256.3)</b>	c.-11C>A	c.416dup	c.84C>A	c.416dup
	<b>(NP_001030333.1)</b>	p.(?)	p.(Tyr139*)	p.(Cys28*)	p.(Tyr139*)
<b>ACMG criteria</b>		Likely pathogenic (PS3, PM2, PP4, PP5)	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
<b>Age of obesity onset</b>		>+3SD at 9 months		>+3SD at 15 months	
<b>BMI before MC4R agonist administration</b>		43 kg/m <sup>2</sup>		42 kg/m <sup>2</sup>	
<b>Hypocortisolism</b>		Yes (at first week of life)		Yes (at first week of life)	
<b>Neonatal Hypoglycemia</b>		Yes (at first week of life)		Yes (at first week of life)	
<b>Icterus</b>		Yes (at first week of life)		Unknown	
<b>Hypothyroidism</b>		Yes (at one year)		Yes (between 3 and 6 months)	
<b>Growth hormone deficiency</b>		Yes (at 8 years)		Yes (between 3 and 6 months)	
<b>Hypogonadism</b>		Yes (no puberty)		Yes (no puberty)	
<b>Red Hair</b>		No		No	
<b>Skin color</b>		Pale		Pale	
<b>Others features</b>		Drug-resistant epilepsy		Severe convulsions complicated hypoglycemia	

**Table 2. Obesity status of patients carrying a heterozygous, P/LP *POMC* variant from HGMD.**

<i>POMC</i> variant (NM_001035256.3)	<i>POMC</i> variant (NP_001030333.1)	Location (NC_000002.12)	ACMG criteria	<i>N</i> <sub>Ob</sub> ( <i>N</i> <sub>SevereOb</sub> )	<i>N</i> <sub>Owt</sub>	<i>N</i> <sub>Nwt</sub>	Ref
c.-11C>A	p.(?)	25164783G>T	PS3, PM2, PP4, PP5	0 (0)	0	6	4,25–27
c.44C>G	p.(Ala15Gly)	25164729G>C	PS3, PM2, PP1, PP5	1 (0)	5	0	28
c.83G>T	p.(Cys28Phe)	25164690C>A	PS3, PM2, PP3, PP5	1 (1)	2	0	29
c.109C>T	p.(Leu37Phe)	25164664G>A	PS3, PM2, PP3, PP5	2 (0)	2	0	29,30
c.151A>T	p.(Lys51*)	25161734T>A	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	0	25
c.206del	p.(Pro69Leufs*2)	25161680del	PVS1, PM2, PP4, PP5	6 (3)	8	2	31–33
c.223dup	p.(Arg75Profs*44)	25161666dup	PVS1, PM2, PP4, PP5	1 (0)	1	5	34
c.231C>A	p.(Tyr77*)	25161654G>T	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	1	35
c.256C>T	p.(Arg86*)	25161629G>A	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	1	36
c.296del	p.(Gly99Alafs*59)	25161590del	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	0	25
c.313G>T	p.(Glu105*)	25161572C>A	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	0	4,25
c.400_401insGG	p.(Glu134Glyfs*25)	25161485_25161486insC	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	1	0	25
c.430T>C	p.(Phe144Leu)	25161455A>G	PS3, PM1, PP3, PP5	2 (0)	1	2	18,37
c.433C>T	p.(Arg145Cys)	25161452G>A	PS3, PM1, PM2, PP3, PP4, PP5	0 (0)	2	1	27
c.433del	p.(Arg145Alafs*13)	25161453del	PVS1, PM2, PP4, PP5	0 (0)	0	1	4,25
c.605_616delAGGCCGACCTGGinsGGGCCAGGCCGACGTGT	p.(Gln202_Glu206delinsArgAlaGlnAlaAspVal*)	25161280-25161269delins18	PVS1, PM2, PP5	1 (1)	0	0	32
<b>TOTAL</b>				<b>14 (5)</b>	<b>27</b>	<b>19</b>	

*N*<sub>Nwt</sub>, number of heterozygotes with normal weight (*i.e.* with BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>); *N*<sub>Ob</sub>, number of heterozygotes with obesity (*i.e.* with BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup> in adults and standardised BMI [SDS] ≥ 2 or a BMI ≥ 95th percentile in children); *N*<sub>Owt</sub>, number of heterozygotes with overweight (*i.e.*



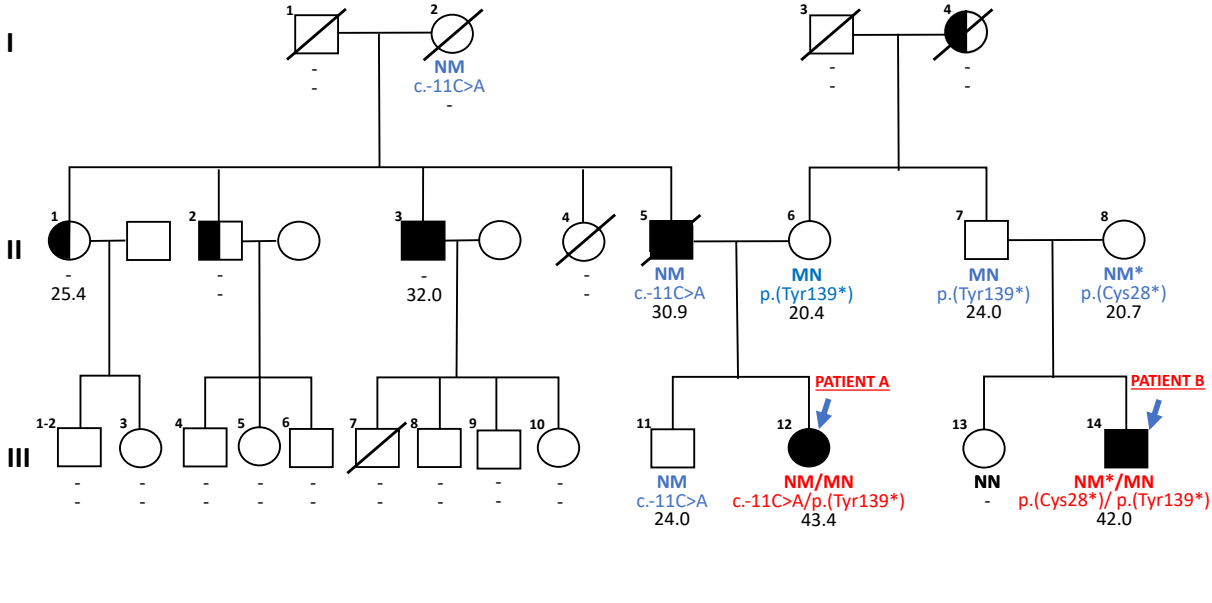
with BMI between 25 and 30 kg/m<sup>2</sup>);  $N_{SevereOb}$ , number of heterozygotes with severe obesity (*i.e.* with BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> in adults and SDS  $\geq 3$  or BMI  $\geq 120\%$  of the 95th percentile or BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> in children); **Ref**, references.

**Table 3. Association of rare, heterozygous, pathogenic *POMC* variants with adiposity, in UK Biobank.**

Trait	<i>N</i>	% or median [IQR] of the trait in heterozygotes	% or median [IQR] of the trait in non-heterozygotes	OR [CI]	Effect ± SE	<i>P</i> -value
BMI	187,727	26.8 [24.5-29.2]	26.7 [24.1-29.8]	-	0.070 ± 0.018	8.5×10 <sup>-5</sup>
CC OWT	187,222	68.8	67.0	1.1 [0.78-1.6]	-	0.57
CC OB	107,219	39.2	42.4	0.84 [0.51-1.3]	-	0.47

Association analyses were performed using the MiST method adjusted for age, sex, and ancestry. BMI was logarithmically before analysis. *BMI*, body mass index; *CC OB*, case-control analysis for obesity (participants with obesity *versus* participants with normal weight); *CC OWT*, case-control analysis for overweight or obesity (participants with overweight or obesity *versus* participants with normal weight); *CI*, confidence interval; *IQR*, interquartile range; *OR*, odds ratio; *SE*, standard error.

**Figure 1. Pedigree with three rare, pathogenic *POMC* variants, including Patient A and Patient B with a compound heterozygous *POMC* variant.**



Pedigree of the family shows the weight status of each member, as well as genetic status. Under each member, we have shown the genetic status when it is known, then the BMI of the individual. Circles represent female participants and squares male participants. A slash through the symbol indicates that the family member is deceased. Black symbols represent patients with obesity. The half-filled indicates individuals with overweight. Patient III.12 was Patient A and Patient III.14 was Patient B.

*NM*, heterozygous variant c.-11 C>A; *MN*, heterozygous variant c.416dup p.(Tyr139\*); *NM\**, heterozygous variant c.84C>A p.(Cys28\*); *NM/MN* or *NM\*/MN*, compound heterozygous variant; *NN*, non-carriers; -, unavailable data.

## References

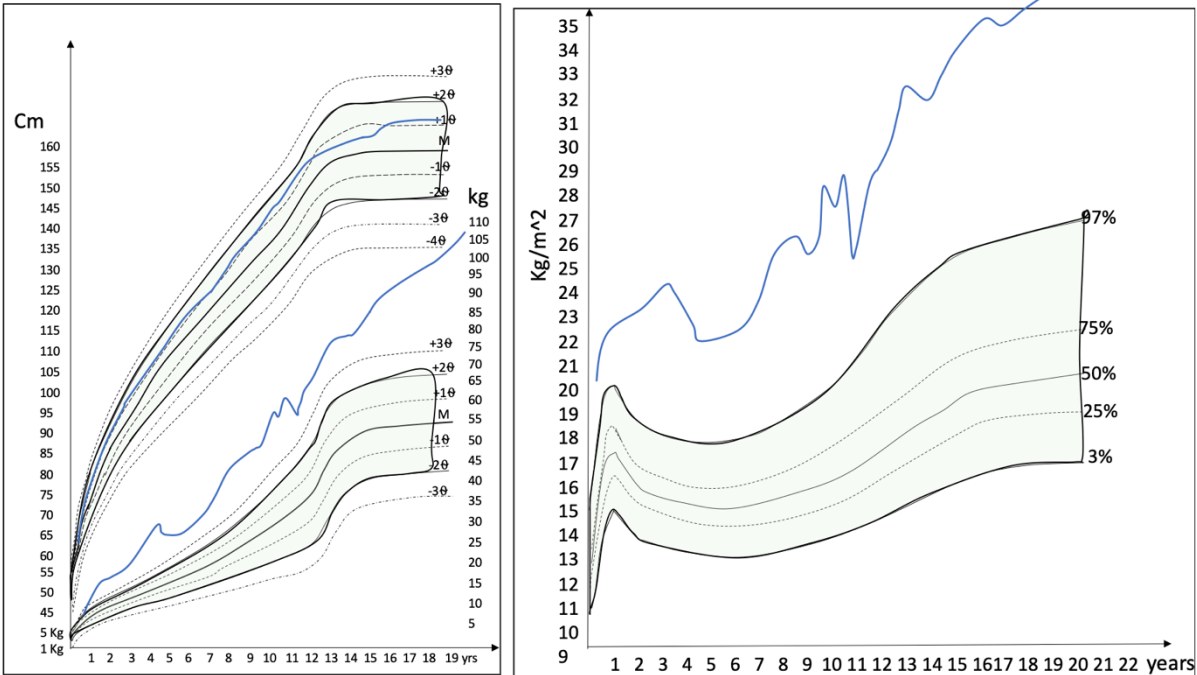
1. Loos RJF, Yeo GSH. The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nat Rev Genet.* 2022;23(2):120-133. doi:10.1038/s41576-021-00414-z
2. Farooqi S, O’Rahilly S. Genetics of obesity in humans. *Endocr Rev.* 2006;27(7):710-718. doi:10.1210/er.2006-0040
3. Clément K, van den Akker E, Argente J, et al. Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency: single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(12):960-970. doi:10.1016/S2213-8587(20)30364-8
4. Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Grüters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet.* 1998;19(2):155-157. doi:10.1038/509
5. Biebermann H, Kühnen P, Kleinau G, Krude H. The neuroendocrine circuitry controlled by POMC, MSH, and AGRP. *Handb Exp Pharmacol.* 2012;(209):47-75. doi:10.1007/978-3-642-24716-3\_3
6. Gregoric N, Groselj U, Bratina N, et al. Two Cases With an Early Presented Proopiomelanocortin Deficiency-A Long-Term Follow-Up and Systematic Literature Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:689387. doi:10.3389/fendo.2021.689387
7. Kühnen P, Clément K, Wiegand S, et al. Proopiomelanocortin Deficiency Treated with a Melanocortin-4 Receptor Agonist. *N Engl J Med.* 2016;375(3):240-246. doi:10.1056/NEJMoa1512693
8. Markham A. Setmelanotide: First Approval. *Drugs.* 2021;81(3):397-403. doi:10.1007/s40265-021-01470-9
9. Jullien N, Romanet P, Philippon M, et al. Heterozygous LHX3 mutations may lead to a mild phenotype of combined pituitary hormone deficiency. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(2):216-225. doi:10.1038/s41431-018-0264-6
10. Pulichino AM, Vallette-Kasic S, Couture C, et al. Human and mouse TPIT gene mutations cause early onset pituitary ACTH deficiency. *Genes Dev.* 2003;17(6):711-716. doi:10.1101/gad.1065603
11. Garret P, Bris C, Procaccio V, et al. Deciphering exome sequencing data: Bringing mitochondrial DNA variants to light. *Hum Mutat.* 2019;40(12):2430-2443. doi:10.1002/humu.23885
12. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
13. Sun J, Zheng Y, Hsu L. A unified mixed-effects model for rare-variant association in sequencing studies. *Genet Epidemiol.* 2013;37(4):334-344. doi:10.1002/gepi.21717
14. Baron M, Maillet J, Huyvaert M, et al. Loss-of-function mutations in MRAP2 are pathogenic in hyperphagic obesity with hyperglycemia and hypertension. *Nat Med.* 2019;25(11):1733-1738. doi:10.1038/s41591-019-0622-0
15. Aslan IR, Ranadive SA, Valle I, Kollipara S, Noble JA, Vaisse C. The melanocortin system and insulin resistance in humans: insights from a patient with complete POMC deficiency and type 1 diabetes mellitus. *Int J Obes (Lond).* 2014;38(1):148-151. doi:10.1038/ijo.2013.53
16. Nalbantoğlu Ö, Hazan F, Acar S, Gürsoy S, Özkan B. Screening of non-syndromic early-onset child and adolescent obese patients in terms of LEP, LEPR, MC4R and POMC gene variants by next-generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2022;35(8):1041-1050. doi:10.1515/jpem-2022-0027

17. da Fonseca ACP, Abreu GM, Zembruski VM, et al. Study of LEP, MRAP2 and POMC genes as potential causes of severe obesity in Brazilian patients. *Eat Weight Disord.* 2021;26(5):1399-1408. doi:10.1007/s40519-020-00946-z
18. Philippe J, Stijnen P, Meyre D, et al. A nonsense loss-of-function mutation in PCSK1 contributes to dominantly inherited human obesity. *Int J Obes (Lond).* 2015;39(2):295-302. doi:10.1038/ijo.2014.96
19. Nordang GBN, Busk ØL, Tveten K, et al. Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 and POMC in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls. *Mol Genet Metab.* 2017;121(1):51-56. doi:10.1016/j.ymgme.2017.03.007
20. AbouHashem N, Zaied RE, Al-Shafai K, Nofal M, Syed N, Al-Shafai M. The Spectrum of Genetic Variants Associated with the Development of Monogenic Obesity in Qatar. *Obes Facts.* 2022;15(3):357-365. doi:10.1159/000521851
21. Campos A, Cifuentes L, Hashem A, et al. Effects of Heterozygous Variants in the Leptin-Melanocortin Pathway on Roux-en-Y Gastric Bypass Outcomes: a 15-Year Case-Control Study. *Obes Surg.* 2022;32(8):2632-2640. doi:10.1007/s11695-022-06122-9
22. Šket R, Kotnik P, Bizjan BJ, et al. Heterozygous Genetic Variants in Autosomal Recessive Genes of the Leptin-Melanocortin Signalling Pathway Are Associated With the Development of Childhood Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:832911. doi:10.3389/fendo.2022.832911
23. Shabana null, Shahid SU, Hasnain S. Identification of genetic basis of obesity and mechanistic link of genes and lipids in Pakistani population. *Biosci Rep.* 2018;38(4):BSR20180281. doi:10.1042/BSR20180281
24. Courbage S, Poitou C, Le Beyec-Le Bihan J, et al. Implication of heterozygous variants in genes of the leptin-melanocortin pathway in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* Published online June 7, 2021:dgab404. doi:10.1210/clinem/dgab404
25. Krude H, Biebermann H, Schnabel D, et al. Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4-10. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4633-4640. doi:10.1210/jc.2003-030502
26. Krude H, Grüters A. Implications of proopiomelanocortin (POMC) mutations in humans: the POMC deficiency syndrome. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11(1):15-22. doi:10.1016/s1043-2760(99)00213-1
27. Samuels ME, Gallo-Payet N, Pinard S, et al. Bioinactive ACTH causing glucocorticoid deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(2):736-742. doi:10.1210/jc.2012-3199
28. Mencarelli M, Zulian A, Canello R, et al. A novel missense mutation in the signal peptide of the human POMC gene: a possible additional link between early-onset type 2 diabetes and obesity. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(12):1290-1294. doi:10.1038/ejhg.2012.103
29. Creemers JWM, Lee YS, Oliver RL, et al. Mutations in the amino-terminal region of proopiomelanocortin (POMC) in patients with early-onset obesity impair POMC sorting to the regulated secretory pathway. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4494-4499. doi:10.1210/jc.2008-0954
30. Lee YS, Challis BG, Thompson DA, et al. A POMC variant implicates beta-melanocyte-stimulating hormone in the control of human energy balance. *Cell Metab.* 2006;3(2):135-140. doi:10.1016/j.cmet.2006.01.006
31. Çetinkaya S, Güran T, Kurnaz E, et al. A Patient with Proopiomelanocortin Deficiency: An Increasingly Important Diagnosis to Make. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018;10(1):68-73. doi:10.4274/jcrpe.4638
32. Kleinendorst L, Massink MPG, Cooman MI, et al. Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. *J Med Genet.* 2018;55(9):578-586.

doi:10.1136/jmedgenet-2018-105315

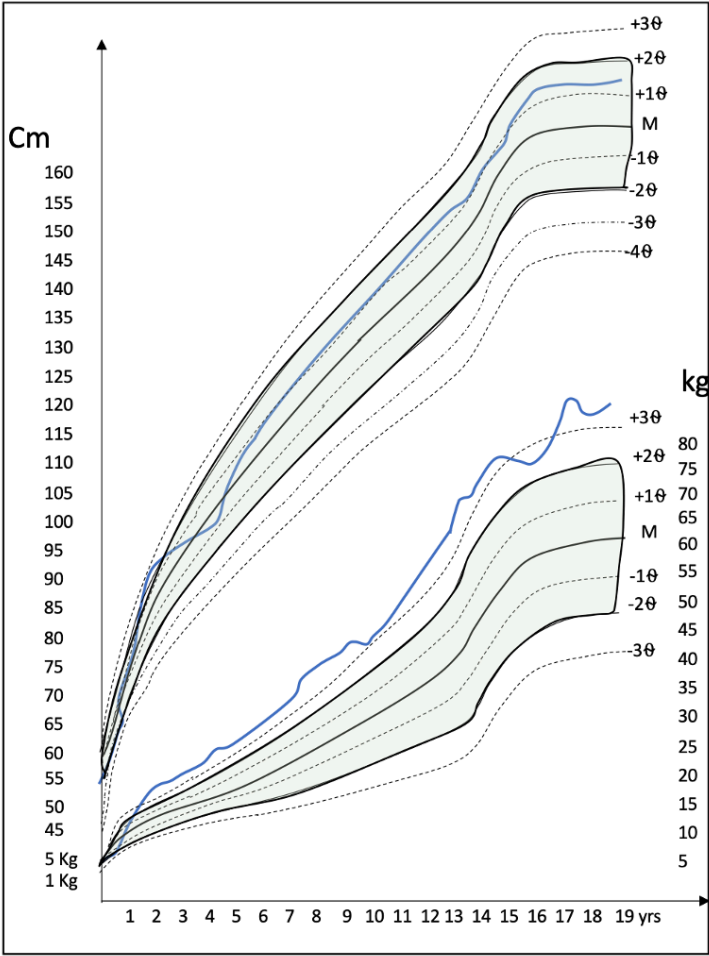
33. Farooqi IS, Drop S, Clements A, et al. Heterozygosity for a POMC-null mutation and increased obesity risk in humans. *Diabetes*. 2006;55(9):2549-2553. doi:10.2337/db06-0214
34. Clément K, Dubern B, Mencarelli M, et al. Unexpected endocrine features and normal pigmentation in a young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(12):4955-4962. doi:10.1210/jc.2008-1164
35. Mendiratta MS, Yang Y, Balazs AE, et al. Early onset obesity and adrenal insufficiency associated with a homozygous POMC mutation. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2011;2011(1):5. doi:10.1186/1687-9856-2011-5
36. Hung CN, Poon WT, Lee CY, Law CY, Chan AYW. A case of early-onset obesity, hypocortisolism, and skin pigmentation problem due to a novel homozygous mutation in the proopiomelanocortin (POMC) gene in an Indian boy. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25(1-2):175-179. doi:10.1515/jpem-2011-0437
37. Dubern B, Lubrano-Berthelier C, Mencarelli M, et al. Mutational analysis of the proopiomelanocortin gene in French obese children led to the identification of a novel deleterious heterozygous mutation located in the alpha-melanocyte stimulating hormone domain. *Pediatr Res*. 2008;63(2):211-216. doi:10.1203/PDR.0b013e31815ed62b

**Supplementary Figure 1. Growth chart for Patient A.**



We described the height and weight growth chart (in the left part) and BMI evolution (in the right part). The blue line represents the different curves of Patient A. The green area corresponds to the normal values of weight, size, and BMI in the general population. Her birth weight was 3.170kg (64<sup>th</sup> percentile), her size was 50 cm (80<sup>th</sup> percentile), and she had an average head circumference of 35 cm (72<sup>th</sup> percentile). The weight growth chart revealed a weight > +3 standard deviation (SD) at nine months. The height growth curve showed average height until four years of age, then  $\geq$  +1 SD until around eight years old, then in median values from eighteen years old to finally reach 163 cm.

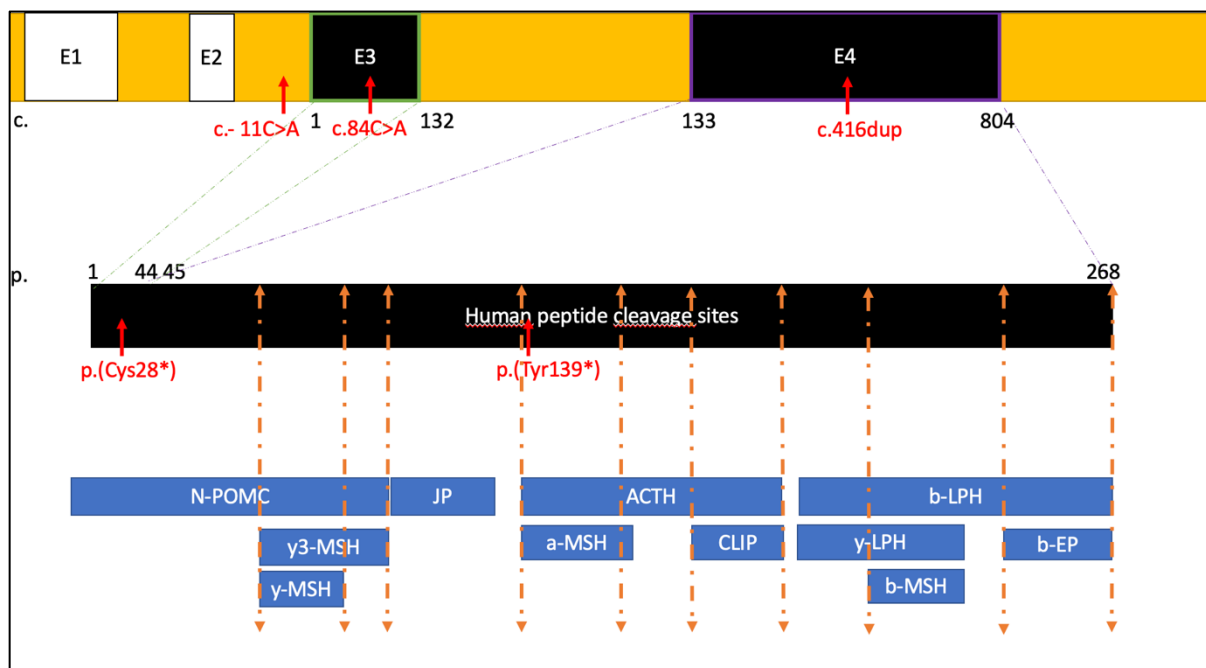
**Supplementary Figure 2. Growth chart for Patient B.**



The blue line represents the weight and size curves of Patient B. The green area corresponds to the normal values of weight, size, and BMI in the general population. We described the height and weight growth chart c and the evolution of the BMI for Patient B. The birth weight was 4 kg (+2 SD) with a 52 cm (+1 SD) height. The weight growth flow chart revealed a weight increase  $>+3$  SD at 15 months.



**Supplementary Figure 3. Location of the heterozygous, pathogenic *POMC* variants found in the family.**



We have represented here the *POMC* gene and its protein. We have described the different steps of cleavage of the *POMC* protein (orange arrows) into its different biopeptides (in blue). Coding exons are represented in black. We showed the three heterozygous variants of *POMC* in red described in this family: c.416dup p.(Tyr139\*) (exon 4), c.84C>A p.(Cys28\*) (exon 3) and c.-11C>A (proximal promotor).

**Supplementary Table 1. Variant information for the *POMC* variants.**

Variant (NM_001035256.3)	Variants (NP_001030333.1)	Location (NC_000002.12)	Minor Allele Count (GnomAD; v2.1.1)	Predictive Scores			ACMG
				SIFT	PolyPhen-2 (HumDiv)	Mutation Taster	
c.-11C>A	p.(?)	25164783G>T	8	-	-	-	Likely pathogenic (PS3, PM2, PP4, PP5)
c.44C>G	p.(Ala15Gly)	25164729G>C	2	Tolerated	Benign (score: 0.247)	Deleterious	Likely pathogenic (PS3, PM2, PP1, PP5)
c.83G>T	p.(Cys28Phe)	25164690C>A	4	Deleterious	Probably damaging (score: 1)	Deleterious	Likely pathogenic (PS3, PM2, PP3, PP5)
c.84C>A	P.(Cys28*)	25164689G>T	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.109C>T	p.(Leu37Phe)	25164664G>A	5	Deleterious	Probably damaging (score: 1)	Deleterious	Likely pathogenic (PS3, PM2, PP3, PP5)
c.151A>T	p.(Lys51*)	25161734T>A	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.133-2A>G	p.(?)	25161754T>C	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.206del	p.(Pro69Leufs*2)	25161680del	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.211del	p.(Thr71Pfs*87)	25161674del	-	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.223dup	p.(Arg75Profs*44)	25161666dup	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.231C>A	p.(Tyr77*)	25161654G>T	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.251G>A	p.(Trp84*)	25161634C>T	1	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.252G>A	p.(Trp84*)	25161633C>T	1	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.256C>T	p.(Arg86*)	25161629G>A	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.260del	p.(Phe87Serfs*71)	25161626del	-	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)

c.296del	p.(Gly99Alafs*59)	25161590del	1	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.313G>T	p.(Glu105*)	25161572C>A	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.400_401insGG	p.(Glu134Glyfs*25)	25161485_25161486 insCC	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.416dup	p.(Tyr139*)	25161469dup	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.430T>C	p.(Phe144Leu)	25161455A>G	45	Deleterious	Probably damaging (score: 0.997)	Deleterious	Likely pathogenic (PS3, PM1, PP3, PP5)
c.433C>T	p.(Arg145Cys)	25161452G>A	5	Deleterious	Probably damaging (score: 0.99)	Deleterious	Likely pathogenic (PS3, PM1, PM2, PP3, PP4, PP5)
c.433del	p.(Arg145Alafs*13)	25161453del	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP4, PP5)
c.475_478dup	p.(Tyr160Cysfs*4)	25161407_25161410 dup	-	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.478dup	p.(Tyr160Leufs*3)	25161407dup	-	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.499G>T	p.(Glu167*)	25161386C>A	3	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.573del	p.(Asp192Thrfs*50)	25161315del	7	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.605_616delAGG CCGACCTGGinsG GGCCCAGGCCGA CGTGT	p.(Gln202_Glu206 delinsArgAlaGlnAla AspVal*)	25161280- 25161269delins18	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP5)
c.639_640insTTCT	p.(Glu214Phefs*2)	25161245_25161246 insAGAA	1	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.679del	p.(Arg227Alafs*15)	25161207del	2	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.726del	p.(Ser243Profs*9)	25161160del	9	-	-	-	Likely pathogenic (PVS1, PM2)
c.730G>T	p.(Glu244*)	25161155C>A	-	-	-	-	Pathogenic (PVS1, PM2, PP5)

**Supplementary Table 2. P/LP *POMC* variants found in UK Biobank.**

Variants (NM_001035256.3)	Variants (NP_001030333.1)	Location (NC_000002.12)	MAF UK Biobank	MAF gnomAD	ACMG criteria
c.-11C>A	p.(?)	25164783G>T	3.74×10 <sup>-5</sup>	2.80×10 <sup>-5</sup>	PS3, PM2, PP4, PP5
c.83G>T	p.(Cys28Phe)	25164690C>A	2.99×10 <sup>-5</sup>	7.96×10 <sup>-6</sup>	PS3, PM2, PP3, PP5
c.109C>T	p.(Leu37Phe)	25164664G>A	2.99×10 <sup>-5</sup>	1.99×10 <sup>-5</sup>	PS3, PM2, PP3, PP5
c.133-2A>G	p.(?)	25161754T>C	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2, PP4, PP5
c.211del	p.(Thr71Pfs*87)	25161674del	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2
c.251G>A	p.(Trp84*)	25161634C>T	2.49×10 <sup>-6</sup>	6.62×10 <sup>-6</sup>	PVS1, PM2, PP4, PP5
c.252G>A	p.(Trp84*)	25161633C>T	1.50×10 <sup>-5</sup>	6.63×10 <sup>-6</sup>	PVS1, PM2
c.260del	p.(Phe87Serfs*71)	25161626del	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2
c.430T>C	p.(Phe144Leu)	25161455A>G	1.67×10 <sup>-4</sup>	1.82×10 <sup>-4</sup>	PS3, PM1, PP3, PP5
c.475_478dup	p.(Tyr160Cysfs*4)	25161407_25161410dup	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2
c.478dup	p.(Tyr160Leufs*3)	25161407dup	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2
c.499G>T	p.(Glu167*)	25161386C>A	1.74×10 <sup>-5</sup>	8.54×10 <sup>-6</sup>	PVS1, PM2
c.573del	p.(Asp192Thrfs*50)	25161315del	9.97×10 <sup>-6</sup>	3.02×10 <sup>-5</sup>	PVS1, PM2
c.639_640insTCT	p.(Glu214Phefs*2)	25161245_25161246insAGAA	1.99×10 <sup>-5</sup>	4.03×10 <sup>-6</sup>	PVS1, PM2
c.679del	p.(Arg227Alafs*15)	25161207del	2.49×10 <sup>-6</sup>	3.99×10 <sup>-6</sup>	PVS1, PM2
c.726del	p.(Ser243Profs*9)	25161160del	1.74×10 <sup>-5</sup>	3.59×10 <sup>-5</sup>	PVS1, PM2
c.730G>T	p.(Glu244*)	25161155C>A	2.49×10 <sup>-6</sup>	-	PVS1, PM2, PP5

*MAF*, minor allele frequency in the UK Biobank and GnomAD; -, not present in GnomAD.

1 **Dominant *ZMPSTE24* deficiency and hypertriglyceridemia: unveiling a novel possible**  
2 **cause of mild partial lipodystrophy?**

3 Lauriane Le Collen<sup>1,2,3,4</sup>, Camille Desgrouas<sup>5</sup>, Céline Lukas Croisier<sup>2</sup>, Martine Vaxillaire<sup>1,4</sup>,  
4 Brunot Creugnet<sup>6</sup>, Aurélie Dechaume<sup>1,4</sup>, Alaa Badreddine<sup>1,4</sup>, Mehdi Derhourhi<sup>1,4</sup>, Alexandre  
5 Lourdelle<sup>7</sup>, Brigitte Delemer<sup>2,8</sup>, Nathalie Bonello-Palot<sup>5</sup>, Philippe Froguel<sup>1,4,9</sup>, Catherine  
6 Badens<sup>5</sup>, Amélie Bonnefond<sup>1,4,9</sup>

7 <sup>1</sup>Inserm/CNRS UMR 1283/8199, Pasteur Institute of Lille, EGID, Lille, France;

8 <sup>2</sup>Department of Endocrinology Diabetology, University Hospital Center of Reims, Reims, France;

9 <sup>3</sup>Department of Clinical Genetic, University Hospital Center of Reims, Reims, France;

10 <sup>4</sup>University of Lille, Lille University Hospital, Lille, France;

11 <sup>5</sup>Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France;

12 <sup>6</sup>Diabetologist, Nouméa, France;

13 <sup>7</sup> Pediatric diabetology Department, American Memorial Hospital, University hospital, Reims, France;

14 <sup>8</sup>CRESTIC EA 3804, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Moulin de La Housse, BP 1039, 51687, Reims, France;

15 <sup>9</sup>Department of Metabolism, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London, UK;

16

17 Correspondance to: Lauriane Le Collen ([lle-collen@chu-reims.fr](mailto:lle-collen@chu-reims.fr)) and Amélie Bonnefond  
18 ([amelie.bonnefond@inserm.fr](mailto:amelie.bonnefond@inserm.fr)).

19 Inserm UMR1283, CNRS UMR8199, European Genomic Institute for Diabetes, Université de Lille, Institut  
20 Pasteur de Lille, Lille University Hospital, 59045 Lille Cedex, France

21 *Word count (main manuscript): 2846*

22

23 **Abstract**

24 **Purpose.** Previous research has identified heterozygous *ZMPSTE24* variants in a single patient  
25 with severe metabolic syndrome-related partial lipodystrophy. We investigate the involvement  
26 of heterozygous *ZMPSTE24* variants in the development of Familial Partial Lipodystrophy  
27 (FPLD) and its associated complications, including Metabolic Syndrome (MS).

28 **Methods:** We employed whole-exome sequencing to investigate the genetic aspects of a  
29 Wallisian family with MS. To gauge the deleterious effects, we applied various functional  
30 techniques to fibroblast cells from the index case, including siRNA transfection,  
31 immunofluorescence, Beta-Galactosidase Assay, and Cellular BrdU Labelling. To assess the  
32 effect of heterozygous variants on FPLD complications, notably Metabolic Syndrome (MS),  
33 we analyzed two databases: the Human Gene Mutation Database (HGMD), encompassing all  
34 deleterious variants ( $n=36$ ), and the UK Biobank (UKB), comprising 16 variants.

35 **Results:** We identified a heterozygous *ZMPSTE24* missense variant (NM\_00587.5:  
36 p.Leu438Phe) in a 40-year-old Wallisian woman presenting with a FPLD morphotype and MS,  
37 which was also present in two of her siblings. Functional assays confirmed the variant's  
38 deleterious nature, potentially impacting the lamin A binding site. We reported dyslipidemia,  
39 hepatic steatosis, and FPLD in heterozygotes within the HGMD database. Analysis of the UKB  
40 dataset revealed that these heterozygous, deleterious variants are associated with  
41 hypertriglyceridemia ( $p=0.039$ ;  $OR=2.287[0.14-1.55]$ ) but not with MS ( $p=0.315$ ;  $OR=1.77[-$   
42  $0.12-1.25]$ ).

43 **Conclusions:** We highlight that heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants are associated  
44 with hypertriglyceridemia, suggesting a potential mild FPLD. Additionally, the discovery of a  
45 potential founder mutation in Wallis and Futuna underscores the need for further research with  
46 a larger cohort.

47 **Keywords:** Metabolic syndrome, hypertriglyceridemia, partial lipodystrophy, *ZMPSTE24*.

## 48 **Introduction**

49 Lipodystrophy syndromes, rare diseases characterized by adipose tissue loss, can result in  
50 insulin resistance and metabolic complications like diabetes, hypertriglyceridemia, non-  
51 alcoholic fatty liver disease (NAFLD), hypertension and atherosclerosis<sup>1,2</sup>. Genetic  
52 lipodystrophy syndromes are categorized by the degree of fat loss, spanning from Familial  
53 Partial Lipodystrophy (FPLD) to Congenital Generalized Lipodystrophy, which affects adipose  
54 tissue throughout most of the body<sup>3</sup>. In both generalized lipodystrophy and FPLD, metabolic  
55 syndromes, notably including hypertriglyceridemia, are clearly evident<sup>3-5</sup>. FPLD, the most  
56 prevalent genetic form, is primarily caused by a specific variant in *LMNA* (#151660), encoding  
57 lamin A/C. It is frequently underdiagnosed and underestimated, impacting a minimum of 1 in  
58 20,000 individuals<sup>6</sup>. *ZMPSTE24* encodes a unique metalloprotease that transforms prelamin A  
59 into lamin A by removing a farnesyl group and cleaving the terminal amino acids.  
60 Dysfunctional metalloprotease production, caused by biallelic *ZMPSTE24* variants, leads to  
61 prelamin A accumulation and total lipodystrophy in Mandibuloacral Dysplasias (MAD) type B  
62 (#608612)<sup>7-9</sup>. Recent discussions have raised the question of whether heterozygous *ZMPSTE24*  
63 variants might play a role in a subtype of partial lipodystrophy associated with severe metabolic  
64 syndrome, as observed in Wallis Island<sup>2,10</sup>. Notably, genetic lipodystrophy is more prevalent in  
65 isolated regions like La Reunion, where a specific *LMNA* pathogenic variant causing FPLD has  
66 been identified due to a founder effect<sup>5,11-13</sup>.

67 Initially, our study centered on a Wallis Island family affected by metabolic disorders. We  
68 examined the deleterious effect of a missense variant in *ZMPSTE24* among this family suffering  
69 from Metabolic Syndrome (MS) and discussed its potential role in the lipodystrophy phenotype.  
70 To comprehensively address this research question, we performed functional assessments and  
71 examined a substantial database encompassing a large population.

## 72 **Materials and Methods**

73 **Study participants.** Initially, we collected clinical data from the medical records of a large  
74 Wallisian family, with a focus on gender, diabetes and its treatment, hypertriglyceridemia, Body  
75 Mass Index (BMI), adipose tissue distribution, and cardiovascular history. In accordance with  
76 French laws, we obtained consent from both patients and their relatives.

77 To complement our research, we conducted a thorough literature review and collected clinical  
78 and biological data from the Human Gene Mutation Database (HGMD Pro 2022 v4) for  
79 individuals carrying heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants.

80 Subsequently, we extracted Metabolic Syndrome-associated data, encompassing abdominal  
81 obesity, hyperglycemia, elevated triglycerides, and reduced HDL levels, from heterozygous  
82 carriers of deleterious *ZMPSTE24* variants within the UK Biobank. This dataset was utilized to  
83 evaluate the prevalence of metabolic syndrome within this cohort. Additionally, we collected  
84 information on overweight or obesity status, cardiovascular disorders, and hepatic steatosis.  
85 This database comprised 200,585 participants and was conducted through research application  
86 #67575.

87 In accordance with guidelines established by the Centers for Disease Control and Prevention,  
88 obesity is characterized by a Body Mass Index (BMI) equal to or exceeding 30 kg/m<sup>2</sup>, whereas  
89 overweight is defined by a BMI ranging from 25 kg/m<sup>2</sup> to 30 kg/m<sup>2</sup> for adults. We applied  
90 Metabolic Syndrome (MS) criteria to define abdominal obesity, hypertriglyceridemia, low-  
91 HDL, and high blood pressure<sup>14</sup>. MS is characterized by abdominal obesity accompanied by  
92 two or more of the following: hypertriglyceridemia, low HDL cholesterol, hyperglycemia, and  
93 high systolic and/or diastolic blood pressure<sup>14</sup>. Abdominal obesity in males corresponded to a  
94 waist circumference  $\geq 94$  cm (except  $\geq 90$  cm for individuals of South-East Asian, Japanese,  
95 and ethnic South and Central American origin), and in females, a waist circumference  $\geq 80$   
96 cm<sup>14</sup>. Hyperglycemia was categorized into Diabetes and Pre-Diabetes<sup>14</sup>. Diabetes was indicated



97 by HbA1c  $\geq 48$  mmol/L or a random glucose measurement  $\geq 11.1$  mmol/L<sup>15</sup>. The American  
98 Diabetes Association (ADA) categorizes pre-diabetes with HbA1c levels ranging from 39 to 46  
99 mmol/mol or fasting plasma glucose (FPG) levels between 5.6 mmol/l and 6.9 mmol/l<sup>15</sup>. High  
100 Triglycerides were defined by a triglyceride value  $\geq 1.70$  mmol/L<sup>14</sup>. Low HDL-cholesterol  
101 levels were defined as  $< 1.03$  mmol/l for men or  $< 1.29$  mmol/l for women<sup>14</sup>. High blood  
102 pressure was characterized by systolic blood pressure  $\geq 130$  mmHg or diastolic blood pressure  
103  $\geq 85$  mmHg<sup>14</sup>.

104 **Exome sequencing and analysis of siblings.** We used Exome Sequencing for In-depth  
105 Analysis with Human Core Exome Kit (Twist Bioscience) and Illumina NovaSeq6000 System.  
106 Reads were aligned to the human genome (GRCh38). The index case's initial analysis involved  
107 70 genes responsible for monogenic diabetes, 124 genes for obesity and 99 genes for  
108 lipodystrophy and lipid disorders (Supplementary Table 1). Sanger sequencing targeted the  
109 p.Leu438Phe variant in *ZMPSTE24* (NM\_00587.5) across the extended family, including  
110 siblings, parents, sister, and son. Primer sequences and PCR conditions available upon request.

111 **Functional analysis.** The functional analysis were conducted as previously described,  
112 encompassing cellular culture and transfection, immunofluorescence imaging and analysis,  
113 senescence-associated beta-galactosidase assay, and cellular BrdU labeling<sup>2,10</sup>. Further details  
114 can be found in the **Supplementary Data**.

115 **Predicting consequences of *ZMPSTE24* variant p.Leu438Phe using computational**  
116 **models.** PyMOL software was employed for modeling. We generated a crystal structure model  
117 of human nuclear membrane zinc metalloprotease *ZMPSTE24*, featuring a leucine residue at  
118 position 438, in conjunction with a synthetic CSIM tetrapeptide derived from the C-terminus  
119 of prelamin A (PDB: 2YPT). The PDB database houses crystallography structures, and '2YPT'  
120 denotes the specific 3D structure identifier for *ZMPSTE24* incorporating the C-terminal  
121 segment of lamin A. CSIM represents the C-terminal farnesylation motif. The link to view the

122 structure can be accessed at: <https://www.rcsb.org/3d-view/2YPT>. Supplementary data can be  
123 provided upon request.

124 **Detection of deleterious *ZMPSTE24* variants.** Exome data in pVCF format (field #23156)  
125 were used to identify all deleterious *ZMPSTE24* variants in the Human Gene Mutation Database  
126 (HGMD) and in In UK Biobank, including pathogenic variants based on American College of  
127 Medical Genetics and Genomics (ACMG) criteria<sup>16</sup>.

128 In UK Biobank, we demonstrated heterozygosity, with a coverage of over 16 reads and a GQ  
129 quality score exceeding 40.

130 **Statistical analyses for association studies in UK Biobank.** We employed the MiST method  
131 to comprehensively evaluate the impact of deleterious *ZMPSTE24* variants on multiple traits,  
132 as detailed in a previous study<sup>17,18</sup>. These traits encompassed overweight, obesity, abdominal  
133 obesity, hyperglycemia, hypertriglyceridemia, low HDL-cholesterol, and high blood pressure.  
134 Heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants were treated as a singular cluster for analysis.  
135 The MiST method computes two score statistics:  $S(\pi)$  for the mean effect ( $\pi$ ) of the variant  
136 cluster and  $S(\tau)$  for the heterogeneous effect ( $\tau$ ) within the cluster. The collective p-value is  
137 derived by merging individual p-values,  $P\pi$  and  $P\tau$ , through Fisher's procedure.

138 These analyses were meticulously adjusted for age, sex, and ancestry, represented by the first  
139 five genetic principal components available in field #22009.

140 Given the non-normal distribution of the Metabolic Syndrome (MS) data, log-transformation  
141 was applied prior to analyses.

142

143 **Results**

144 **Penetrance of Metabolic Syndrome in a Wallis Family with deleterious *ZMPSTE24***  
145 **variant: clinical and functional insights.**

146 We present a female patient (referred to as the proband, Patient III.1; **Figure 1**) and her siblings  
147 from a nonconsanguineous family. Nearly all of them experienced obesity and non -  
148 autoimmune diabetes (**Figure 1**). The index case patient, a 40-year-old woman (Patient III.1;  
149 **Figure 1**), was diagnosed with diabetes at 35, along with central obesity, hypertriglyceridemia,  
150 and hepatic steatosis. Initially, she was treated with metformin and a glucagon-like peptide-1  
151 receptor agonist (GLP1 RA), but later required basal insulin due to poor glycemic control. Her  
152 dyslipidemia is treated with a statin. Unfortunately, the patient did not undergo these  
153 cardiovascular examinations, and currently, only the coronary calcium score is known,  
154 indicating a low risk of coronary artery disease. At 40 years old, a physical examination  
155 unveiled potential partial lipodystrophy signs, alongside indications of insulin resistance, which  
156 had been present since the age of 15. Her 9-year-old son (Patient IV.1; **Figure 1 and Table 1**),  
157 experienced obesity, but showed no signs of insulin resistance. The first sister (Patient III.2;  
158 **Figure 1**) developed obesity around the age of 30 and underwent a sleeve gastrectomy with a  
159 BMI of 61 kg/m<sup>2</sup>. Her lowest weight, or nadir, was 80 kg, resulting in a BMI of 28 kg/m<sup>2</sup>. At  
160 40 years old, her current BMI is 36 kg/m<sup>2</sup>. She did not exhibit hypertension, dyslipidemia, or  
161 gestational diabetes. Another sister (Patient III.6; **Figure 1 and Table 1**), showcased profound  
162 central obesity and was diagnosed with diabetes at 27. Additionally, she displayed signs of  
163 insulin resistance, along with acanthosis nigricans. Her father (Patient II.13; **Figure 1 and Table**  
164 **1**), displayed central obesity and was diagnosed with diabetes at 59. His diabetes has not been  
165 effectively managed with oral diabetic medications and GLP1 RA. In the meantime, her mother  
166 (Patient II.14; **Figure 1 and Table 1**), had diabetes and was undergoing treatment with insulin,  
167 a Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor (SGLT2I), and GLP1 RA, all while dealing with

168 obesity. She also has dyslipidemia, which is managed with both ezetimibe and a statin.

169 At the age of 40, Patient III.1 was found to carry a heterozygous variant in *ZMPSTE24*  
170 (NM\_00587.5: c.1312C>T / p.Leu438Phe) through whole-exome sequencing. We identified  
171 also a missense variant of unknown significance in *LRP6* (NM\_002336.2: c.3107A>G /  
172 p.Asn1036Ser). We did not identify any other notable variants in genes responsible for  
173 monogenic diabetes or obesity, lipodystrophy and lipid disorders (**Supplementary Table 1**).

174 Sanger sequencing subsequently confirmed the presence of the same *ZMPSTE24* variant,  
175 encoding p.Leu438Phe, in both her father and one of her sisters. Regrettably, genetic testing  
176 couldn't be conducted for all family members.

177 This variant had previously been reported as a disease-causing mutation in Human Gene  
178 Mutation Database (HGMD). We employed a combination of functional tests, as previously  
179 used by Dutour *et al.* and Galant *et al.*, to further substantiate the deleterious impact<sup>2,10</sup>. Cellular  
180 senescence was assessed by measuring beta-galactosidase levels, showing a consistent trend in  
181 unrelated patients, including Patient A (identified in 2011) and Patient B (Patient III.1; **Figure**  
182 **1**) (**Figure 2A**)<sup>10,19</sup>. Importantly, their cells exhibited significantly higher senescence levels  
183 compared to adult control cells, and their cell replication capacity was notably reduced in both  
184 cases (**Figure 2B**). Using siRNAs targeting prelamin A, we validated the deleterious impact of  
185 the *ZMPSTE24* variant p.Leu438Phe, as shown by a significant reduction in prelamin A  
186 accumulation in both Patient A and Patient B (**Figure 2C**), resulting in marked improvement  
187 in nuclear abnormalities compared to control cells (**Figure 2D**).

188 Furthermore, deleterious effect was also supported by *in silico* software programs (SIFT,  
189 PolyPhen, CADD, REVEL). This variant is located within the peptidase M48 and CAAX prenyl  
190 protease 1 protein domains, involved in a lamin A binding site, in a relatively conserved region.  
191 No pathogenic variants were identified in its proximity. However, this variant displayed a  
192 noteworthy frequency in the Genome Aggregation Database (GnomAD) based on the latest

193 estimates for East Asia (5 per 1000).

194 We conducted a comprehensive *in silico* analysis of the p.Leu438Phe missense variant in  
195 *ZMPSTE24* to elucidate its deleterious mechanism. Our analysis identified five possible  
196 configurations for the mutated Phe438 residue, each with probabilities related to interactions  
197 between the *ZMPSTE24* enzyme and its substrate, which is essential for hydrophobic binding  
198 to the C-terminus of prelamin A (**Figure 3**). Among the less likely of the four options, the  
199 variant alters these interactions, potentially disrupting prelamin A's C-terminal binding, thereby  
200 affecting the substrate's enzyme affinity or shifting the peptide within the enzyme's site,  
201 potentially hindering proper processing.

202 Unfortunately, we faced difficulties in collecting and following up on data for assessing all  
203 Metabolic Syndrome criteria in every family member. Consequently, the exhaustive  
204 observation of complete co-segregation with the metabolic syndrome was not feasible.  
205 However, all three carriers displayed a phenotype consistent with partial lipodystrophy, marked  
206 notably by metabolic syndrome and insulin resistance signs.

207

### 208 ***ZMPSTE24* variants and Metabolic Syndrome criteria: insights from Human Gene** 209 **Mutation Database and UK Biobank Data.**

210 We investigated complications related to Familial Partial Lipodystrophy (FPLD) to identify  
211 potential cases. We analyzed two databases to investigate the role of heterozygous *ZMPSTE24*  
212 variants in the development of partial lipodystrophy alongside Metabolic Syndrome (MS). We  
213 identified 36 deleterious *ZMPSTE24* variants (including the Leu438Phe variant) in the HGMD  
214 database (**Supplementary Table 2**). Notably, the clinical features of these variants were  
215 predominantly identified in a homozygous state. Only a few cases of heterozygosity have been  
216 described so far. Heterozygous carriers of both c.1204-5\_1210del and c.1312C>T /  
217 p.Leu438Phe variants were found to have a higher susceptibility to develop lipid

218 disorders<sup>10,19,20</sup>. Additionally, the heterozygous p.Leu438Phe variant was identified in two  
219 twins with Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)<sup>21</sup>.

220 We aimed to investigate the impact of deleterious *ZMPSTE24* variants on FPLD complications,  
221 including the onset of Metabolic Syndrome, within the general population, using the UK  
222 Biobank dataset (**Supplementary Table 3**). Among 200,585 exome samples, we identified 34  
223 individuals carrying 16 deleterious *ZMPSTE24* variants.

224 Out of the 34 carriers, 9 had obesity (26%), 12 were overweight (35%), 13 had a normal weight  
225 (38%), 20 had abdominal obesity (59%), 9 had hyperglycemia (26%), 22 had  
226 hypertriglyceridemia (59%), seven had low HDL cholesterol levels (21%), and 25 had high  
227 blood pressure (74%) (**Figure 4**). Overall, 16 carriers (47%) exhibited Metabolic Syndrome  
228 (MS) (**Figure 4**). Additionally, eight suffered from cardiac disorders (including heart attack,  
229 atherosclerotic cardiopathy, and arrhythmia), and two had steatotic liver (*data not shown*).

230 Initial analysis revealed a putative association of heterozygous *ZMPSTE24* variants with  
231 elevated triglyceride levels (36% vs. 59% in non-carriers vs. carriers) and the presence of  
232 metabolic syndrome (32% vs. 47% in non-carriers vs. carriers) (**Figure 4**). Subsequently, we  
233 conducted a thorough investigation into the relationship between Metabolic Syndrome and the  
234 reported deleterious *ZMPSTE24* variant from UK Biobank data. Applying the MiST method  
235 and adjusting for age, sex, BMI, ethnicity, and ancestry, our study unveiled associations  
236 between heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants and several criteria. Finally, we did not  
237 identify susceptibility to the onset of MS in heterozygotes ( $p=0.315$ ,  $OR=1.764[-0.121-1.247]$ ).

238 However, we confirm our earlier hypothesis with a significant association between  
239 heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants and hypertriglyceridemia, indicating their  
240 potential role in the initiation of later occurrences ( $p=0.039$ ,  $OR=2.287[0.135-1.547]$ ).

241 Metabolic Syndrome and hypertriglyceridemia were slightly more prevalent among carriers of  
242 null deleterious variants compared to those with missense variants (*data not shown*). No

243 significant results were observed for the following criteria: arterial hypertension (systolic and  
244 diastolic), diabetes, LDL and HDL cholesterol, waist circumference, and BMI (*data not shown*).

245

## 246 **Discussion**

247 Our study thoroughly examines the potential role of heterozygous, deleterious *ZMPSTE24*  
248 variants on Familial Partial Lipodystrophy (FPLD) complications, encompassing a large Wallis  
249 family and documented carriers in HGMD and the UK Biobank. The findings indicate an  
250 association between these variants and hypertriglyceridemia but not with the development of  
251 Metabolic Syndrome (MS).

252 In this family, we identified an individual with MS carrying a heterozygous, deleterious  
253 *ZMPSTE24* variant (NM\_00587.5: c.1312C>T / p.Leu438Phe), displaying a morphotype  
254 characteristic of Familial Partial Lipodystrophy (FPLD), with adipose tissue distribution  
255 affecting the facial and truncal regions, consistent with a previously reported heterozygote<sup>10,19</sup>.  
256 The prelamin A accumulation and cellular effects triggered by this variant are typically  
257 observed in *ZMPSTE24* deficiency cases, as seen in Mandibuloacral Dysplasia type B  
258 syndrome, characterized by total lipotrophy and Metabolic Syndrome<sup>7-9,22</sup>.

259 We explored the mechanism behind the p.Leu438Phe variant's potential contribution to  
260 laminopathy. Previous study identified similar mutation in the zinc metalloprotease domain of  
261 *ZMPSTE24*, reducing enzyme activity and causing varying levels of laminopathy<sup>23</sup>.  
262 Understanding why this variant affects prelamin A processing in heterozygous individuals,  
263 where the wild-type allele should compensate, raises questions<sup>24</sup>. It may involve an undetected  
264 variant deactivating the wild-type *ZMPSTE24* allele<sup>24</sup>. It could potentially be due to the larger  
265 Phe residue altering prelamin A's orientation, hindering proper cleavage, and causing the  
266 accumulation of farnesylated prelamin A. This highlights the variant's potential dominance and  
267 its impact on cleavage activity despite its binding site location.

268 Expanding our research to a larger dataset from HGMD and the UK Biobank, we found that  
269 heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variants are associated with incomplete penetrance of  
270 hypertriglyceridemia. However, a comprehensive understanding of the role of *ZMPSTE24* in  
271 causing hypertriglyceridemia is currently lacking. Despite not finding a significant association  
272 between heterozygous variants and MS incidence, it raises questions given the notable  
273 frequency of MS among non-carriers, which may introduce bias into our study. Furthermore,  
274 these variants have been observed in patients with dyslipidemia or non-alcoholic fatty liver  
275 disease (NAFLD) <sup>10,19–21</sup>.

276 Due to our family's origin in Wallis, as well as the patient previously presented by Galant *et al.*,  
277 we have raised the hypothesis of a founder effect. These findings highlight a high prevalence  
278 of MS and related conditions in Wallis and Futuna, while questions persist regarding genetic  
279 factors<sup>25</sup>. Furthermore, the prevalence of the p.Leu438Phe variant in East Asian populations  
280 and its potential founder effect in Wallis remain uncertain. Recent research has shed light on  
281 the influence of Pacific populations on gene natural selection, especially those related to lipid  
282 metabolism<sup>26</sup>. Nevertheless, these insights may not directly apply to Wallis due to its exclusion  
283 from the study<sup>26</sup>. In conclusion, understanding dietary adaptations linked to various genetic  
284 variants could provide valuable insights into the growing prevalence of metabolic disorders in  
285 the Pacific Islands<sup>26,27</sup>. Further studies are necessary to determine if heterozygous variants in  
286 *ZMPSTE24* might be one of the genetic factors responsible for the high prevalence of MS and  
287 hypertriglyceridemia in the Pacific Islands.

288 The primary limitations of this study include the inability to collect specific phenotypic data for  
289 FPLD in all carriers within the family, particularly concerning cardiovascular aspects,  
290 hypertriglyceridemia, and the onset of insulin resistance. Furthermore, FPLD diagnosis was not  
291 feasible due to the absence of detailed clinical features in the extensive database; only  
292 complications could be identified if they were known. Another limitation is the presence of a



293 Variant of Uncertain Significance in *LRP6*, which might potentially contribute to MS in this  
294 family<sup>28-30</sup>. Additionally, transcriptomic data could have provided valuable insights into how  
295 heterozygous variants in *ZMPSTE24* impact cellular function by elucidating gene expression  
296 patterns and underlying mechanisms.

297 In summary, this study underscores the role of heterozygous, deleterious variants in *ZMPSTE24*  
298 in the development of hypertriglyceridemia, a major complication of FPLD. This indicates that  
299 the heterozygous, deleterious variant could be responsible for a milder form of FPLD. Larger-  
300 scale analyses are needed to validate this finding and investigate the potential founder effect on  
301 Wallis Island.

302

### 303 **Acknowledgments**

304 The authors would like to thank the index case and her family for their cooperation. We are also  
305 thankful to the genetic laboratory of Marseille (France) for functional studies.

306

### 307 **Funding and Assistance**

308 This study was also supported by grants from the French National Research Agency (ANR-10-  
309 LABX-46 [European Genomics Institute for Diabetes] and ANR-10-EQPX-07-01 [LIGAN-  
310 PM]), and from the National Center for Precision Diabetic Medicine – PreciDIAB, which is  
311 jointly supported by the French National Agency for Research (ANR-18-IBHU-0001), by the  
312 European Union (FEDER) 20001891/NP0025517, by the Hauts-de-France Regional Council  
313 and by the European Metropolis of Lille (MEL 2019\_ESR\_11). A.Bon. is supported by the  
314 European Research Council (ERC OπO: 101043671).

315

### 316 **Conflict of Interest**

317 Authors declare that they have no competing interests.

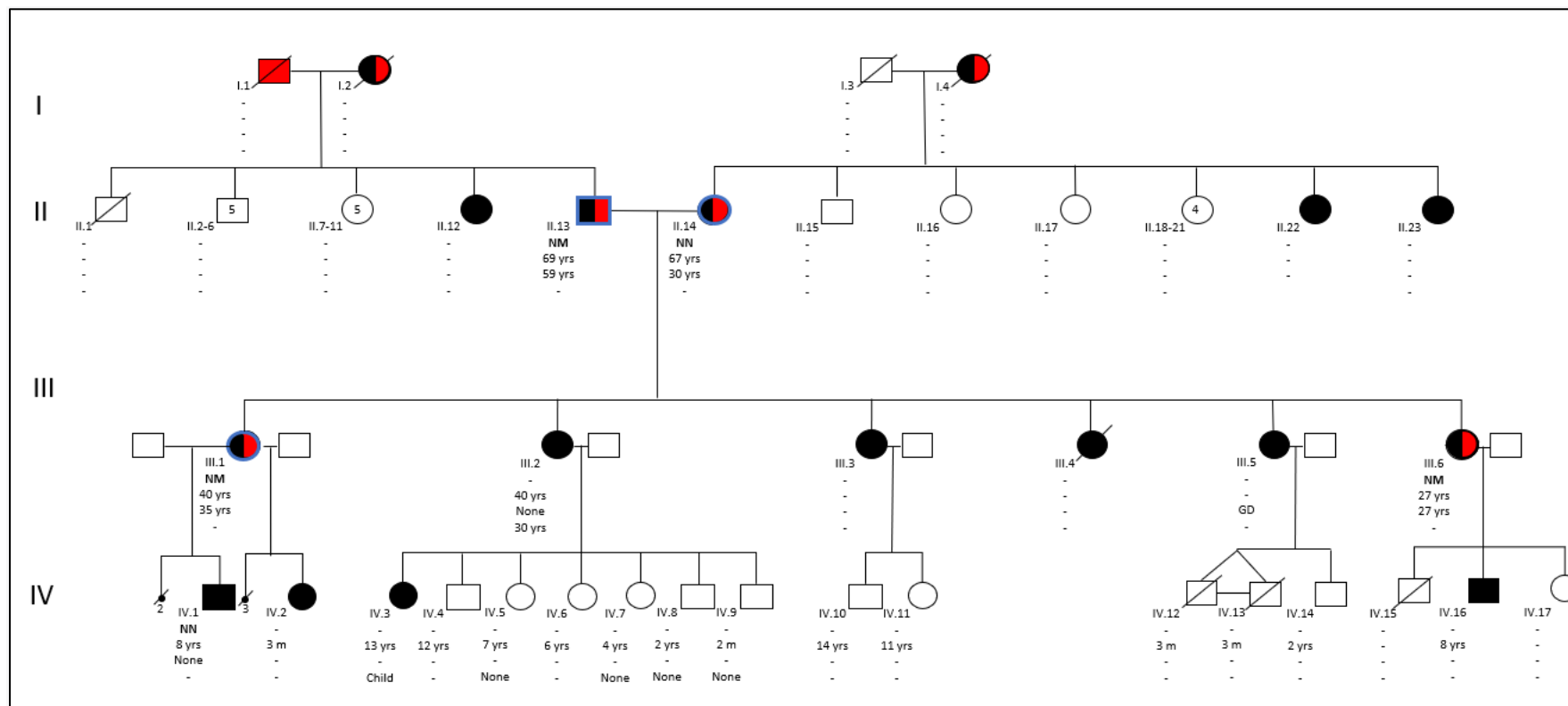
318 **Data Availability**

319 Some or all datasets analyzed during the current study are not publicly available but are  
320 available from the corresponding author on reasonable request.

321

322 **Figure 1. Pedigree of a family with metabolic disorders and segregation of a heterozygous, deleterious *ZMPSTE24* variant**

323



324

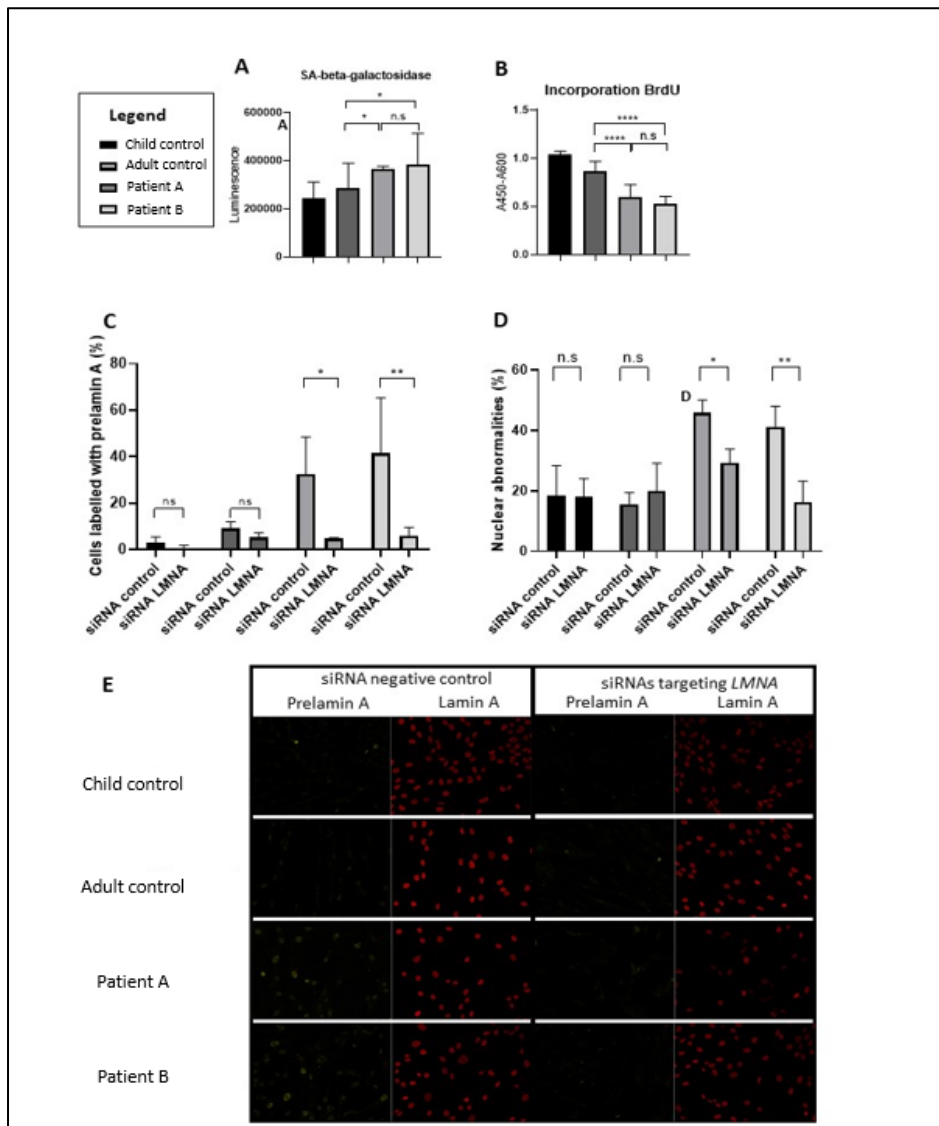
325

326 The family pedigree illustrates the status of Metabolic Syndrome (MS)-related traits. Under each family member, their genetic status is indicated,

327 followed by their current age. Below, we have listed the age of diabetes onset and, if known or present, the age of obesity onset. Female participants

328 are represented by circles, and male participants by squares. Miscarriages are represented by a filled-in black circle with a diagonal line through it.  
329 A diagonal line through the symbol indicates deceased family members. Black symbols denote patients with obesity (BMI  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup> in adults,  
330 and for children, BMI  $\geq$  95th percentile as per Centers for Disease Control and Prevention standards). Individuals with diabetes are indicated in  
331 red, while those with Metabolic Syndrome are surrounded by blue. A red arrow points to the index case (Patient III.1).  
332 *NM*, heterozygous, deleterious variant in *ZMPSTE24* (NM\_00587.5: c.1312C>T / p.Leu438Phe); *NN*, non-carriers; -, unavailable data; *None*, no  
333 reports of obesity or diabetes or pre diabetes; *yrs*, years; *m*, months; *GD*, Gestational diabetes.

334 **Figure 2. Cellular phenotype of unrelated patients carrying the p.Leu438Phe variant in**  
 335 ***ZMPSTE24*.**



336  
 337 **A.** The graph presents luminescence signal values proportionate to senescence measurements  
 338 on the Glomax® platform. **B.** The graph depicts absorbance readings corresponding to BrdU  
 339 incorporation during DNA synthesis in proliferating cells, measured using Glomax®. T-tests  
 340 were executed to compare senescence (**A**) and replication capacity (**B**) between patients' cells  
 341 and controls. **C.** The graph illustrates the percentage of cells labeled with prelamin A post  
 342 transfection with siRNAs targeting prelamin A (siRNA LMNA) or a negative control (siRNA  
 343 control). These measurements were captured from nuclei images using an Apotome.2 system

344 (20x magnification). **D.** The graph exhibits the percentage of nuclear abnormalities subsequent  
345 to siRNA transfection targeting prelamin A (siRNA LMNA) or a negative control (siRNA  
346 control). These observations were based on nuclei images obtained with an Apotome.2 system  
347 (63x magnification).

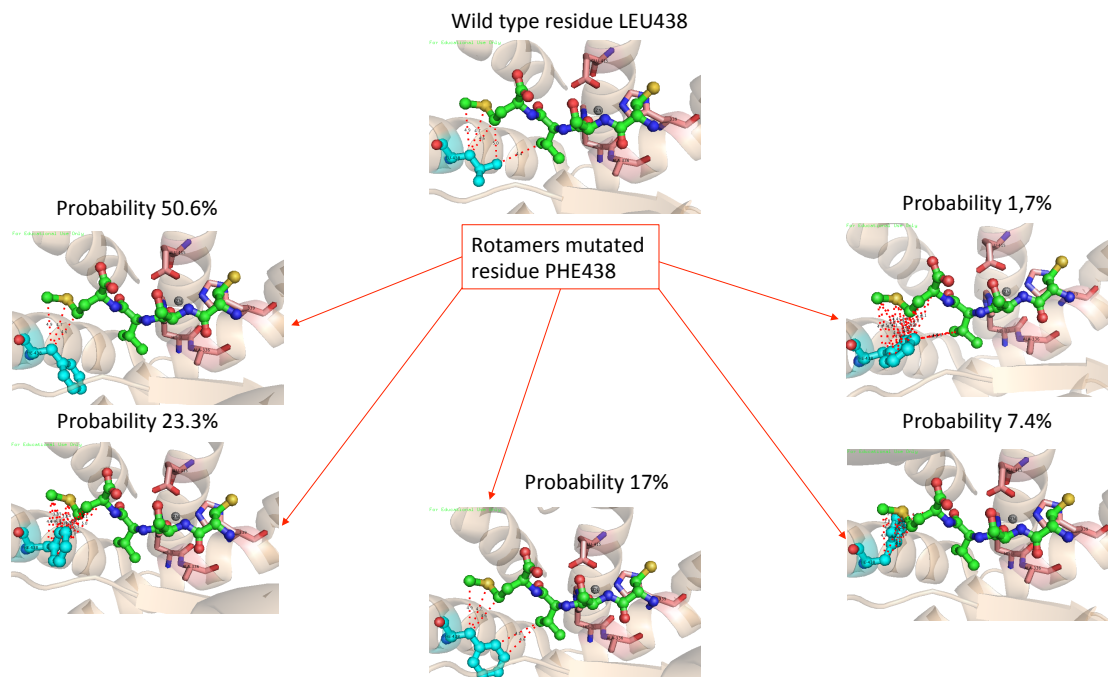
348 Statistical analysis of the impact of siRNA treatments and cell lines on nuclear anomalies (D)  
349 and prelamin A labeling (C) was conducted using two-way ANOVA tests, followed by multiple  
350 comparisons.

351 Patient A was previously documented by Galant *et al.*<sup>10</sup>, while Patient B served as the index  
352 case for this new family (**Figure 1**; Patient III.1). The four graphs depict means  $\pm$  standard error  
353 (SE) derived from three independent experiments, \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$ .

354

355 **Figure 3: In silico modeling of the impact of ZMPSTE24 variant p.Leu438Phe**

356



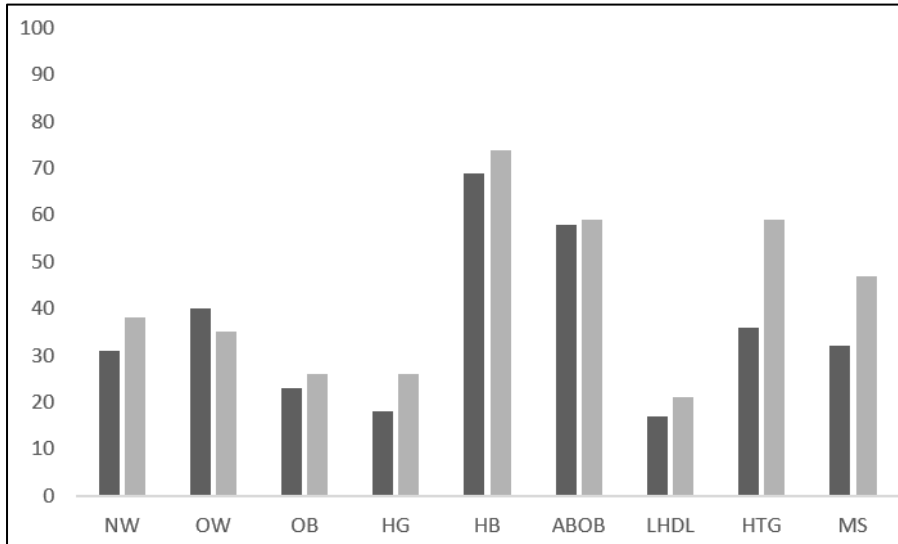
357

358 Close-up view of the crystal structure of human nuclear membrane zinc metalloprotease  
359 ZMPSTE24 (in beige) with a leucine residue at position 438 shown in light blue, in complex  
360 with a synthetic CSIM tetrapeptide derived from the C-terminus of prelamin A in green (PDB:  
361 2YPT). The catalytic site is composed of four amino acids represented in pink in this figure  
362 (His335, Ala336, His339, Glu415). This figure depicts various possible rotamers of the mutated  
363 residue Phe438 and their associated probabilities, generated using PyMOL software. The  
364 dashed red lines represent Van der Waals interactions between the enzyme ZMPSTE24 and its  
365 substrate, the C-terminus of prelamin A.

366

367 **Figure 4. Clinical characteristics of patients with heterozygous, deleterious *ZMPSTE24***  
 368 **variants: insights from the UK Biobank**

369



370

371 Non-carriers are depicted in black, whereas carriers are indicated in light gray.

372 *NW*, Normal weight; *OW*, Overweight; *OB*, Obesity; *ABOB*, Obesity; *HP*, High blood

373 pressure; *LHDL*, Low Hdl; *HTG*, Hypertriglyceridemia; *MS*, Metabolic Syndrome.

374



375 **Table 1. Clinical and biological characteristics of individuals II.13, II.14, III.1, III.6 and IV.1 from a non-consanguineous family**

376

Patients	II.13	II.14	III.1	III.6	IV.1
<b>Sex</b>	Male	Female	Female	Female	Male
<b>Heterozygous variant in ZMPSTE24 (NM_00587.5)</b>	c.1312C>T; p.Leu438Phe	NN	c.1312C>T; p.Leu438Phe	c.1312C>T; p.Leu438Phe	NN
<b>Diabetes Management</b>	Metformin, OHA, GLP1 RA	Insulin, SGLT2I, GLP1 RA	Metformin, insulin, GLP1 RA	Metformin	None
<b>Age at diabetes diagnosis (years)</b>	59	30	35	27	NA
<b>Current BMI</b>	32.4 kg/m <sup>2</sup> at 69 yrs	34.9 kg/m <sup>2</sup> at 67 yrs	37 kg/m <sup>2</sup> at 40 yrs	48 kg/m <sup>2</sup> at 27 yrs	30 kg/m <sup>2</sup> at 9 yrs
<b>Current Hba1c (mmol/L)</b>	58 at 68 yrs	98 at 65 yrs	119 at 40 yrs	50 at 27 yrs	37 at 9 yrs
<b>Current waist circumference (cm)</b>	112	111	115	123	NA
<b>Insulin resistance: fasting insulin level (N: 3-25 μU/mL) and clinical features</b>	10.5	7.6	Acanthosis nigricans	Acanthosis nigricans	None
<b>Dyslipidemia</b>	High LDL, low HDL, no high TG	High LDL, no high TG	High TG, high LDL, low HDL	NA	NA
<b>Relevant clinical features</b>	None	High blood pressure and Heart disorders	Proteinuria, sleep apnea syndrome, and hepatic steatosis	None	None

377

378 *NN*, non-carriers; *OHA*, Oral hypoglycemic agent; *GLP1 RA*, glucagon-like peptide-1 receptor receptor agonist; *SGLT2I*, Sodium-glucose

379 cotransporter 2 inhibitors; *TG*, triglyceride; *NA*, not applicable.

380

381 **References**

- 382 1. Garg A. Clinical review#: Lipodystrophies: genetic and acquired body fat disorders. *J*  
383 *Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(11):3313-3325. doi:10.1210/jc.2011-1159
- 384 2. Dutour A, Roll P, Gaborit B, et al. High prevalence of laminopathies among patients with  
385 metabolic syndrome. *Hum Mol Genet.* 2011;20(19):3779-3786. doi:10.1093/hmg/ddr294
- 386 3. Patni N, Garg A. Lipodystrophy for the Diabetologist-What to Look For. *Curr Diab Rep.*  
387 2022;22(9):461-470. doi:10.1007/s11892-022-01485-w
- 388 4. Sollier C, Vatier C, Capel E, et al. Lipodystrophic syndromes: From diagnosis to  
389 treatment. *Ann Endocrinol (Paris).* 2020;81(1):51-60. doi:10.1016/j.ando.2019.10.003
- 390 5. Mosbah H, Donadille B, Vatier C, et al. Dunnigan lipodystrophy syndrome: French  
391 National Diagnosis and Care Protocol (PNDS; Protocole National de Diagnostic et de  
392 Soins). *Orphanet J Rare Dis.* 2022;17(Suppl 1):170. doi:10.1186/s13023-022-02308-7
- 393 6. Mosbah H, Vatier C, Boccara F, et al. Looking at New Unexpected Disease Targets in  
394 LMNA-Linked Lipodystrophies in the Light of Complex Cardiovascular Phenotypes:  
395 Implications for Clinical Practice. *Cells.* 2020;9(3):765. doi:10.3390/cells9030765
- 396 7. Hitzert MM, van der Crabben SN, Baldewsingh G, et al. Mandibuloacral dysplasia type B  
397 (MADB): a cohort of eight patients from Suriname with a homozygous founder mutation  
398 in ZMPSTE24 (FACE1), clinical diagnostic criteria and management guidelines.  
399 *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):294. doi:10.1186/s13023-019-1269-0
- 400 8. Cenni V, D'Apice MR, Garagnani P, et al. Mandibuloacral dysplasia: A premature ageing  
401 disease with aspects of physiological ageing. *Ageing Research Reviews.* 2018;42:1-13.  
402 doi:10.1016/j.arr.2017.12.001
- 403 9. Agarwal AK, Fryns JP, Auchus RJ, Garg A. Zinc metalloproteinase, ZMPSTE24, is  
404 mutated in mandibuloacral dysplasia. *Hum Mol Genet.* 2003;12(16):1995-2001.  
405 doi:10.1093/hmg/ddg213
- 406 10. Galant D, Gaborit B, Desgrouas C, et al. A Heterozygous ZMPSTE24 Mutation  
407 Associated with Severe Metabolic Syndrome, Ectopic Fat Accumulation, and Dilated  
408 Cardiomyopathy. *Cells.* 2016;5(2):21. doi:10.3390/cells5020021
- 409 11. Treiber G, Flaus Furmaniuk A, Guilleux A, et al. A recurrent familial partial  
410 lipodystrophy due to a monoallelic or biallelic LMNA founder variant highlights the  
411 multifaceted cardiac manifestations of metabolic laminopathies. *Eur J Endocrinol.*  
412 2021;185(4):453-462. doi:10.1530/EJE-21-0282
- 413 12. Treiber G, Guilleux A, Huynh K, et al. Lipoatrophic diabetes in familial partial  
414 lipodystrophy type 2: From insulin resistance to diabetes. *Diabetes Metab.*  
415 2023;49(2):101409. doi:10.1016/j.diabet.2022.101409
- 416 13. Le Dour C, Schneebeli S, Bakiri F, et al. A homozygous mutation of prelamin-A  
417 preventing its farnesylation and maturation leads to a severe lipodystrophic phenotype:  
418 new insights into the pathogenicity of nonfarnesylated prelamin-A. *J Clin Endocrinol*  
419 *Metab.* 2011;96(5):E856-862. doi:10.1210/jc.2010-2234

- 420 14. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and  
421 controversies. *BMC Med.* 2011;9:48. doi:10.1186/1741-7015-9-48
- 422 15. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of  
423 Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care.* 2019;42(Suppl 1):S13-S28.  
424 doi:10.2337/dc19-S002
- 425 16. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of  
426 sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical  
427 Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.*  
428 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30
- 429 17. Sun J, Zheng Y, Hsu L. A unified mixed-effects model for rare-variant association in  
430 sequencing studies. *Genet Epidemiol.* 2013;37(4):334-344. doi:10.1002/gepi.21717
- 431 18. Baron M, Maillet J, Huyvaert M, et al. Loss-of-function mutations in MRAP2 are  
432 pathogenic in hyperphagic obesity with hyperglycemia and hypertension. *Nat Med.*  
433 2019;25(11):1733-1738. doi:10.1038/s41591-019-0622-0
- 434 19. Dutour A, Roll P, Gaborit B, et al. High prevalence of laminopathies among patients with  
435 metabolic syndrome. *Hum Mol Genet.* 2011;20(19):3779-3786. doi:10.1093/hmg/ddr294
- 436 20. Dron JS, Wang J, McIntyre AD, et al. Six years' experience with LipidSeq: clinical and  
437 research learnings from a hybrid, targeted sequencing panel for dyslipidemias. *BMC Med*  
438 *Genomics.* 2020;13(1):23. doi:10.1186/s12920-020-0669-2
- 439 21. Brady GF, Kwan R, Ulintz PJ, et al. Nuclear lamina genetic variants, including a  
440 truncated LAP2, in twins and siblings with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.*  
441 2018;67(5):1710-1725. doi:10.1002/hep.29522
- 442 22. Simha V, Agarwal AK, Oral EA, Fryns JP, Garg A. Genetic and phenotypic heterogeneity  
443 in patients with mandibuloacral dysplasia-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol*  
444 *Metab.* 2003;88(6):2821-2824. doi:10.1210/jc.2002-021575
- 445 23. Quigley A, Dong YY, Pike ACW, et al. The structural basis of ZMPSTE24-dependent  
446 laminopathies. *Science.* 2013;339(6127):1604-1607. doi:10.1126/science.1231513
- 447 24. Spear ED, Hsu ET, Nie L, Carpenter EP, Hrycyna CA, Michaelis S. ZMPSTE24 missense  
448 mutations that cause progeroid diseases decrease prelamin A cleavage activity and/or  
449 protein stability. *Dis Model Mech.* 2018;11(7):dmm033670. doi:10.1242/dmm.033670
- 450 25. *Wallis & Futuna Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies non*  
451 *transmissibles STEPS 2019.* Accessed July 18, 2022.  
452 [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/data-](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/data-reporting/wallis-and-futuna/wallis_futuna_steps_2019_report_print.pdf?sfvrsn=f0e5d71b_1&download=true)  
453 [reporting/wallis-and-](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/data-reporting/wallis-and-futuna/wallis_futuna_steps_2019_report_print.pdf?sfvrsn=f0e5d71b_1&download=true)  
454 [futuna/wallis\\_futuna\\_steps\\_2019\\_report\\_print.pdf?sfvrsn=f0e5d71b\\_1&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/ncds/ncd-surveillance/data-reporting/wallis-and-futuna/wallis_futuna_steps_2019_report_print.pdf?sfvrsn=f0e5d71b_1&download=true)
- 455 26. Choin J, Mendoza-Revilla J, Arauna LR, et al. Genomic insights into population history  
456 and biological adaptation in Oceania. *Nature.* 2021;592(7855):583-589.  
457 doi:10.1038/s41586-021-03236-5

- 458 27. Gosling AL, Buckley HR, Matisoo-Smith E, Merriman TR. Pacific Populations,  
459 Metabolic Disease and “Just-So Stories”: A Critique of the “Thrifty Genotype”  
460 Hypothesis in Oceania. *Ann Hum Genet.* 2015;79(6):470-480. doi:10.1111/ahg.12132
- 461 28. Guo J, Li Y, Ren YH, et al. Mutant LRP6 Impairs Endothelial Cell Functions Associated  
462 with Familial Normolipidemic Coronary Artery Disease. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7):1173.  
463 doi:10.3390/ijms17071173
- 464 29. Singh R, Smith E, Fathzadeh M, et al. Rare nonconservative LRP6 mutations are  
465 associated with metabolic syndrome. *Hum Mutat.* 2013;34(9):1221-1225.  
466 doi:10.1002/humu.22360
- 467 30. Xu Y, Gong W, Peng J, et al. Functional analysis LRP6 novel mutations in patients with  
468 coronary artery disease. *PLoS One.* 2014;9(1):e84345. doi:10.1371/journal.pone.0084345
- 469
- 470

1 **Supplementary Table 1. List of genes that were analyzed in the index patient**

<b>Monogenic Diabetes</b>	
<b>Gene</b>	<b>Transcrit</b>
ABCC8	NM_000352.6
ADIPOQ	NM_004797.4
AIRE	NM_000383.4
AKT2	NM_001626.6
APPL1	NM_012096.3
BLK	NM_001715.3
BLM	NM_000057.4
CD274	NM_014143.4
CDKN1C	NM_000076.2
CEL	NM_001807.6
CELA2A	NM_033440.3
CISD2	NM_001008388.5
CNOT1	NM_001265612.2
DNAJC3	NM_006260.5
DYRK1B	NM_004714.3
EIF2AK3	NM_004836.7
EIF2B1	NM_001414.4
EPHX1	NM_000120.4
FOXA2	NM_021784.5
FOXP3	NM_014009.4
GATA4	NM_002052.5
GATA6	NM_005257.6
GCK	NM_000162.5
GLIS3	NM_152629.4
HNF1A	NM_000545.8
HNF1B	NM_000458.4
HNF4A	NM_175914.4
IER3IP1	NM_016097.5
IL2RA	NM_000417.3
INS	NM_000207.3
INSR	NM_000208.4
IRS1	NM_005544.3
KCNJ11	NM_000525.4
KCNK16	NM_001135105.2
KLF11	NM_003597.5
LRBA	NM_006726.4
LRP6	NM_002336.3
MAFA	NM_201589.4
MIA3	NM_198551.4
MNX1	NM_005515.4
MRAP2	NM_138409.4
NEUROD1	NM_002500.5
NEUROG3	NM_020999.4
NKX2-2	NM_002509.4
ONECUT1	NM_004498.4
PAX4	NM_001366110.1
PAX6	NM_000280.5
PCBD1	NM_000281.4
PCYT1A	NM_005017.4
PDX1	NM_000209.4
PPARG	NM_015869.5
PPP1R15B	NM_032833.5
PTF1A	NM_178161.3
RFX6	NM_173560.4
SLC19A2	NM_006996.3

SLC2A2	NM_000340.2
STAT1	NM_007315.4
STAT3	NM_139276.3
STAT5B	NM_012448.4
TRMT10A	NM_152292.5
WFS1	NM_006005.3
YIPF5	NM_001024947.4
ZFP57	NM_001109809.5
ZMPSTE24	NM_005857.5
ZNF808	NM_001039886.4
MANF	NM_006010.6
<b>Monogenic Obesity</b>	
<b>Gene</b>	<b>Transcript</b>
ACACB	NM_001093.4
ADCY3	NM_004036.5
AFF2	NM_002025.4
AFF4	NM_014423.4
ALMS1	NM_001378454.1
ANOS1	NM_000216.4
ARL6	NM_177976.3
ATRX	NM_000489.6
BBIP1	NM_001195306.2
BBS1	NM_024649.5
BBS10	NM_024685.4
BBS12	NM_152618.3
BBS2	NM_031885.5
BBS4	NM_033028.5
BBS5	NM_152384.3
BBS7	NM_176824.3
BBS9	NM_198428.3
BDNF	NM_170735.6
BRWD3	NM_153252.5
CDKL5	NM_003159.3
CELA2A	NM_033440.3
CEP19	NM_032898.5
CEP290	NM_025114.4
CHD2	NM_001271.4
CHD7	NM_017780.4
CPE	NM_001873.4
CREBBP	NM_004380.3
CUL4B	NM_003588.4
DEAF1	NM_021008.4
DNMT3A	NM_175629.2
DYRK1B	NM_004714.3
EHMT1	NM_024757.5
EIF2S3	NM_001415.4
EP300	NM_001429.4
FBN3	NM_032447.5
FGFR1	NM_023110.3
FMR1	NM_002024.6
GHR	NM_000163.5
GNAS	NM_000516.7
GPD1	NM_005276.4
HDAC4	NM_006037.4
HDAC8	NM_018486.3
IFT172	NM_015662.3
IFT27	NM_006860.5

INPP5E	NM_019892.6
IQSEC2	NM_001111125.3
IRS2	NM_003749.3
ISL1	NM_002202.3
KCTD13	NM_178863.5
KDM6A	NM_021140.4
KIDINS220	NM_020738.4
KMT2A	NM_001197104.2
KMT2D	NM_003482.4
KSR2	NM_173598.6
LAS1L	NM_031206.7
LEP	NM_000230.3
LEPR	NM_002303.6
LZTFL1	NM_020347.4
MAGEL2	NM_019066.5
MC3R	NM_019888.3
MC4R	NM_005912.3
MECP2	NM_004992.4
MEGF8	NM_001410.3
MKKS	NM_018848.3
MKS1	NM_017777.4
MRAP2	NM_138409.4
MYT1L	NM_015025.4
NCOA1	NM_003743.5
NIPBL	NM_133433.4
NPHP1	NM_000272.5
NRG4	NM_138573.4
NRP1	NM_003873.7
NRP2	NM_201266.2
NTRK2	NM_006180.6
P4HTM	NM_177938.2
PCSK1	NM_000439.5
PGM2L1	NM_173582.6
PHF6	NM_032458.3
PHIP	NM_017934.7
PLXNA1	NM_032242.3
PLXNA2	NM_025179.4
PLXNA3	NM_017514.5
PLXNA4	NM_020911.2
POMC	NM_001035256.3
PPARG	NM_015869.5
PRMT7	NM_019023.5
PROK2	NM_001126128.2
PROKR2	NM_144773.4
RAB23	NM_183227.3
RAD21	NM_006265.3
RAI1	NM_030665.4
RPGRIP1L	NM_015272.5
RPS6KA3	NM_004586.3
SDCCAG8	NM_006642.5
SEMA3A	NM_006080.3
SEMA3B	NM_004636.4
SEMA3C	NM_006379.5
SEMA3D	NM_152754.3
SEMA3E	NM_012431.3
SEMA3F	NM_004186.5
SEMA3G	NM_020163.3
SETD5	NM_001080517.3
SH2B1	NM_001145795.2

SIM1	NM_005068.3
SMC1A	NM_006306.4
SMC3	NM_005445.4
SOX10	NM_006941.4
SPEN	NM_015001.3
STX16	NM_001001433.3
TBC1D4	NM_014832.5
TBX1	NM_080647.1
TBX3	NM_005996.4
THRA	NM_199334.5
TRAPPC9	NM_031466.8
TRIM32	NM_012210.4
TRIP12	NM_004238.3
TRPC5	NM_012471.3
TTC8	NM_198309.3
TUB	NM_003320.5
UBE2A	NM_003336.4
UBE3A	NM_130838.4
UCP3	NM_003356.4
VPS13B	NM_017890.5
WDPCP	NM_015910.7
<b>Lipodystrophy and insulin resistance</b>	
ADIPOQ	NM_004797.4
AGPAT2	NM_006412.4
AKT2	NM_001626.6
BANF1	NM_001143985.1
BLM	NM_000057.4
BSCL2	NM_032667.6
CAV1	NM_001753.5
CAVIN1	NM_012232.6
CIDEA	NM_022094.3
DYRK1B	NM_004714.3
GPD1	NM_005276.4
INSR	NM_000208.4
IRS1	NM_005544.3
IRS2	NM_003749.3
KCNJ6	NM_002240.5
LIPE	NM_005357.4
LMNA	NM_170707.4
PCYT1A	NM_005017.4
PIK3R1	NM_181523.3
PLIN1	NM_002666.5
POC1A	NM_015426.5
POLD1	NM_002691.4
PPARG	NM_015869.5
PSMB8	NM_148919.4
TBC1D4	NM_014832.5
WRN	NM_000553.6
ZMPSTE24	NM_005857.5
<b>Lipid disorders</b>	
ABCA1	NM_005502.4
ABCG1	NM_207174.1
ABCG5	NM_022436.3
ABCG8	NM_022437.3
ABHD5	NM_016006.6
ACAD9	NM_014049.5
ACADL	NM_001608.4
ACADM	NM_000016.6
ACADS	NM_000017.4

ACADVL	NM_000018.4
ACLY	NM_001096.3
ANGPTL3	NM_014495.4
ANGPTL4	NM_139314.3
ANGPTL8	NM_018687.7
APOA1	NM_000039.3
APOA4	NM_000482.4
APOA5	NM_052968.5
APOB	NM_000384.3
APOC2	NM_000483.5
APOC3	NM_000040.3
APOE	NM_000041.4
CAVIN1	NM_012232.6
CELA2A	NM_033440.3
CETP	NM_000078.3
CPT2	NM_000098.3
CREB3L3	NM_032607.3
CYP27A1	NM_000784.4
CYP2D6	NM_000106.6
CYP7A1	NM_000780.4
DHCR24	NM_014762.4
DYRK1B	NM_004714.3
GCKR	NM_001486.4
GK	NM_000167.6
GPD1	NM_005276.4
GPIHBP1	NM_178172.6
HMGCR	NM_000859.3
LCAT	NM_000229.2
LDLR	NM_000527.5
LDLRAP1	NM_015627.3
LIPA	NM_000235.4
LIPC	NM_000236.3

LIPE	NM_005357.4
LIPG	NM_006033.4
LIPI	NM_198996.4
LMF1	NM_022773.4
LMNA	NM_170707.4
LMNB2	NM_032737.4
LPL	NM_000237.3
LRP6	NM_002336.3
NPC1	NM_000271.5
NPC1L1	NM_013389.3
PCSK9	NM_174936.4
PCYT1A	NM_005017.4
PIK3R1	NM_181523.3
PLIN1	NM_002666.5
PNPLA5	NM_138814.4
POC1A	NM_015426.5
POLD1	NM_002691.4
PPARG	NM_015869.5
SAR1B	NM_001033503.3
SCARB1	NM_005505.5
SLC10A2	NM_000452.3
SMPD1	NM_000543.5
SORT1	NM_002959.7
SREBF1	NM_004176.5
SREBF2	NM_004599.4
STAP1	NM_012108.4
TMEM199	NM_152464.3
TRIB1	NM_025195.4
WRN	NM_000553.6
ZHX3	NM_015035.4
ZMPSTE24	NM_005857.5

2

3

4 **Supplementary Table 2. ZMPSTE24 deleterious variants identified in Human Gene**

5 **Mutation Database (HGMD)**

<b>NM_005857.5</b>	<b>NP_005848.2</b>
c.28_29insA	p.Leu10TyrfsTer37
c.50del	p.Lys17SerfsTer21
c.54dup	p.Ile19TyrfsTer28
c.107dup	p.Leu37ProfsTer10
c.121C>T	p.Gln41Ter
c.202C>T	p.Arg68Ter
c.207_208del	p.Tyr70SerfsTer4
c.208dup	p.Tyr70LeufsTer5
c.209_210del	p.Tyr70SerfsTer4
c.271-1446_628-127del5428	p.Leu91_Leu209PhefsTer
c.281T>C	p.Leu94Pro
c.296del	p.Pro99LeufsTer38
c.475-2A>G	-
c.584_585del	p.Tyr195PhefsTer22
c.591dup	p.Ile198TyrfsTer20
c.627+1G>C	-
c.628-2A>G	-
c.691G>T	p.Glu231Ter
c.709G>T	p.Glu237Ter
c.715G>T	p.Glu239Ter
c.743C>T	p.Pro248Leu
c.794A>G	p.Asn265Ser
c.826C>T	p.Arg276Ter
c.838_841del	p.Phe280ThrfsTer4
c.954+2T>A	-
c.1018T>C	p.Trp340Arg
c.1020G>A	p.Trp340Ter
c.1085dup	p.Leu362PhefsTer19
c.1105C>T	p.Arg369Ter
c.1196A>G	p.Tyr399Cys
c.1204-5_1210del	-
c.1204-4_1216del	-
c.1249C>T	p.Gln417Ter
c.1274T>C	p.Leu425Pro
c.1312C>T	p.Leu438Phe
c.1349G>A	p.Trp450Ter

6



7 **Supplementary Table 3. ZMPSTE24 deleterious variants identified in UK Biobank**

<b>NM_005857.5</b>	<b>NP_005848.2</b>	<b>Number of heterozygotes</b>
c.1A>G	p.Met1?	1
c.50del	p.Lys17SerfsTer21	2
c.54dup	p.Ile19TyrfsTer28	8
c.193G>T	p.Glu65Ter	1
c.386T>A	p.Leu129Ter	2
c.524_525del	p.Gln175LeufsTer15	1
c.591dup	p.Ile198TyrfsTer20	4
c.807dup	p.Gly270TrpfsTer12	1
c.826C>T	p.Arg276Ter	3
c.1019G>A	p.Trp340Ter	1
c.1085T>A	p.Leu362Ter	1
c.1105C>T	p.Arg369Ter	1
c.1133_1137del	p.Phe378Ter	1
c.1291_1292del	p.Leu431IlefsTer8	1
c.1312C>T	p.Leu438Phe	5
c.1327_1328del	p.Leu443GlyfsTer6	1
<b>N<sub>variant</sub> = 16</b>		<b>N<sub>Carrier</sub> = 34</b>

8

## 9 **Supplementary Materials and Methods**

10 ***Cell Culture and Transfection.*** Dermal primary fibroblast cultures were derived from patients'  
11 skin biopsies. Fibroblasts from two non-obese, non-diabetic controls were sourced from the  
12 Coriell Institute (Camden, N.J, USA). Strain AG07095 originated from a 2-year-old boy (young  
13 control), and AG10052 from a 33-year-old woman (adult control). The fibroblasts were  
14 nurtured in DMEM medium (Biowest, France) supplemented with 15% fetal bovine serum  
15 (Eurobio, Courtaboeuf, France), 1% L-glutamine 200 mM (Life Technologies, Thermo Fisher  
16 Technologies), and 1% Penicillin-Streptomycin-Amphotericin (PAA Laboratory), in 25 cm<sup>2</sup>  
17 culture flasks (SPL Life Sciences, Korea), maintained under controlled atmospheric conditions  
18 (10% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, and 85% N<sub>2</sub>) at 37 °C with 95% humidity. All experiments were conducted  
19 in triplicate at passage 16.

20 For siRNA transfection, fibroblasts were seeded on coverslips (Lab-tek, SPL Life Sciences,  
21 Gyeonggi-do, Korea) at a density of 3.10<sup>4</sup> cells/well. INTERFERin® siRNA Transfection  
22 Reagent (Polyplus Transfection, Illkirch, France) was employed to transfect 25 nM of either  
23 siRNA negative control (SR-CL005-005, Eurogentec, Fremont, CA, USA) or two siRNAs  
24 targeting LMNA mRNA. The first one specifically targets the 3'UTR region (data not shown).  
25 The efficiency of the siRNAs was analyzed 48 h post-transfection using immunofluorescence.

26 ***Immunofluorescence Imaging and Analysis.*** To quantify nuclear shape anomalies and  
27 prelamin A expression levels, immunofluorescence experiments were conducted on cells  
28 cultured on coverslips (Labtek, SPL Life Sciences, Gyeonggi-do, Korea). Permeabilization was  
29 accomplished using a 0.5% Triton® X-100 (Sigma®, Ronkonkoma, NY, USA) solution at  
30 room temperature for 10 minutes. Saturation was achieved with 1% BSA (Thermo Fisher  
31 Scientific, Waltham, MA, USA) in PBS for 30 minutes at room temperature.

32 Primary mouse monoclonal antibody anti-lamin A/C, diluted at 1/1000 (sc376248, Santa Cruz  
33 Biotechnology, Inc, Dallas, TX, USA), and goat polyclonal antibody anti-prelamin A, diluted

34 at 1/200 (sc6214, Santa Cruz Biotechnology, Inc, Dallas, TX, USA), were incubated for 1.5  
35 hours at 37°C. After two PBS washes containing 0.1% Tween, slides were incubated with  
36 donkey anti-mouse IgG (H+L) cross-adsorbed secondary antibody, Alexa Fluor 594, diluted at  
37 1/2000 (A-110003), and donkey anti-goat IgG (H+L) cross-adsorbed secondary antibody,  
38 Alexa Fluor 488, diluted at 1/2000 (A- A32814, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)  
39 for 1 hour at 37°C.

40 Subsequently, specimens were washed twice in PBS and post-fixed for 10 minutes in 4% PFA  
41 before mounting slides with ProLong™ Diamond Antifade Mountant containing DAPI  
42 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Cell phenotypes were regularly monitored by  
43 at least two independent investigators through visual inspection of fixed specimens, utilizing  
44 an ApoTome.2 imaging system comprising a Zeiss Axio Imager Z2 equipped with a Zeiss Axio  
45 Cam MR R3, controlled by Zen software (Carl Zeiss, Jena, Germany). Approximately 100-300  
46 nuclei were examined for each condition, with criteria for nuclear anomalies including aberrant  
47 nuclear lamin A/C staining patterns, enlarged nuclei, and irregular nuclear shapes.

48 ***Senescence-Associated Beta-Galactosidase Assay.*** Senescence-associated beta-galactosidase  
49 activity was assessed using the Beta-Glo® Assay System (Promega Corporation, USA).  
50 Experiments were executed following the manufacturer's guidelines in 96-well white-walled  
51 plates (VWR, International SAS, Strasbourg, France).

52 In each well, a volume of 100 µL of culture containing 10,000 cells was dispensed in  
53 quadruplicate. After 48 hours, the culture medium was changed to DMEM without red phenol  
54 (Gibco®, Cell Culture, Invitrogen Corporation, San Diego, CA, USA), supplemented with 10%  
55 fetal bovine serum (Eurobio, Courtaboeuf, France), 1% L-glutamine 20 mM (Life  
56 Technologies, Thermo Fisher Technologies), and 1% Penicillin-Streptomycin-Amphotericin  
57 (PAA Laboratory), to mitigate potential interferences affecting the luminescent signal.

58 Subsequently, 100  $\mu\text{L}$  of Beta-Glo<sup>®</sup> reagent per well was added 30 minutes prior to measuring  
59 luminescence on the Glomax<sup>®</sup> luminometer (Promega Corporation).

60 The experiments were conducted three times on quadruplicate samples of both control and  
61 patient fibroblasts at passage 16.

62 ***Cellular BrdU Labeling.*** Cell proliferation was evaluated using the Cell Proliferation ELISA,  
63 BrdU (colorimetric) Kit (Roche Applied Science). A total of 10,000 fibroblasts were seeded in  
64 each well, with a final volume of 100  $\mu\text{L}$ , and incubated for 24 hours in a humidified atmosphere  
65 at 37 °C. Subsequently, 10  $\mu\text{L}$  of BrdU was added to each well, and cells were further incubated  
66 for an additional 24-hour period. The manufacturer's protocol was adhered to, and 5 minutes  
67 after substrate addition, 25  $\mu\text{L}$  of 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> were introduced to each well for absorbance  
68 reading at 450 nm (reference wavelength: 600 nm) using the Glomax<sup>®</sup> reader (Promega  
69 Corporation). The experiments were conducted three times with quadruplicate samples at  
70 passage 16.

71 ***Statistical Analysis.*** A T-test was employed to determine the statistical significance of  
72 senescence among various cell lines (controls and patients). A two-way ANOVA test was  
73 applied for the statistical analysis of the impact of siRNA treatments and cell lines on nuclear  
74 anomalies and prelamin A labeling. The significance threshold was defined as  $p < 0.05$ .  
75 Statistical analyses and graphical representations were carried out using GraphPad Prism 8.0.2  
76 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).