

La mutation du gène du récepteur de la leptine entraîne chez l'homme une obésité massive associée à des anomalies hypothalamo-hypophysaires

La leptine, produite par le gène *ob* est une hormone sécrétée spécifiquement par le tissu adipeux qui interviendrait dans le contrôle de la masse grasse en modulant la prise alimentaire et la dépense d'énergie [1]. La leptine agit par l'intermédiaire d'un récepteur (Ob-R) à un seul domaine transmembranaire et membre de la super-famille des récepteurs des cytokines (*m/s n° 3, vol. 12, p. 386*) [2, 3]. Plusieurs formes d'Ob-R sont synthétisées à partir d'un seul gène (situé sur le chromosome 1) grâce à des épissages alternatifs multiples. Le gène *Ob-R* est exprimé de façon ubiquitaire mais la synthèse des différentes isoformes protéiques varie beaucoup d'un tissu à l'autre. Ob-Rb avec son long domaine transmembranaire représente la forme physiologiquement essentielle du récepteur responsable de la transmission du signal et est présente essentiellement dans l'hypothalamus. Dans les tissus périphériques, des formes d'Ob-R comportant un domaine intracellulaire court sont principalement rencontrées [2]. Un transcrite codant pour une forme soluble de récepteur (sans domaine transmembranaire) a été décrit chez les rongeurs mais jusqu'à ce jour l'existence de forme soluble d'Ob-R n'a pas été clairement démontrée chez l'homme. Le clonage positionnel des gènes des obésités murines récessives *ob/ob* et *db/db* ont permis d'identifier des mutations du gène de la leptine et de son récepteur responsables d'obésités massives et précoces associées à une hyperphagie et à une réduction des dépenses énergétiques. Ces rongeurs

ont également une infertilité due à un hypogonadisme hypogonadotrope, une hypercortisolémie et des altérations de l'homéostasie glucidique ainsi qu'une dyslipidémie. Le rôle de la leptine dans la régulation du poids chez l'homme est resté purement hypothétique jusqu'à l'identification d'une mutation homozygote au codon 133 (délétion d'un nucléotide G) du gène de la leptine qui synthétise alors une protéine tronquée inapte à être sécrétée [4]. Les deux cousins d'origine pakistanaise et issus d'une famille consanguine, porteurs de cette mutation souffraient d'une obésité sévère. Cependant, compte

tenu du très jeune âge de ces enfants, les effets de la leptine sur le déclenchement de la puberté et sur la fertilité n'ont pu être évalués. En revanche, leur croissance était normale (*m/s n° 10, vol. 13, p. 1201*). Nous avons pu étudier une famille consanguine de 9 enfants (famille HD) (*figure 1*) [5]. Le sujet index est une jeune patiente de 19 ans, atteinte d'une obésité massive (BMI = 65,5 kg/m²) développée dès les premiers mois de la vie (mais avec un poids de naissance normal) (*figure 2*), et associée à des troubles du comportement alimentaire (accès compulsifs irréprouvés) proches de ce qu'on

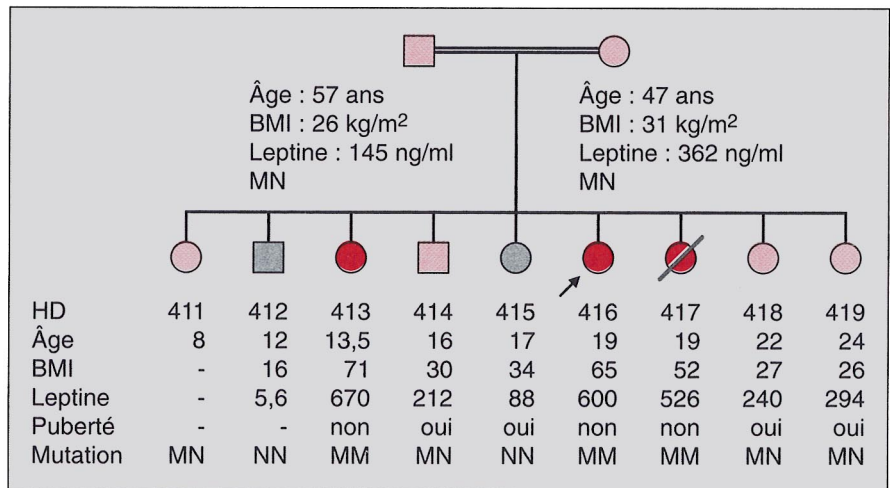


Figure 1. **Arbre généalogique de la famille HD.** NN porteur de la forme normale du récepteur de la leptine, MM homozygote pour la forme mutée du récepteur, MN hétérozygote pour la mutation. La plus jeune sœur de la famille âgée de 8 ans n'est pas obèse mais aucune autre information clinique n'a pu être obtenue. La flèche indique la patiente dont la courbe de croissance est présentée sur la figure 2.

rencontre lors des détériorations anatomiques hypothalamiques d'origine tumorale (par exemple, craniopharyngiome) ou dans certains syndromes génétiques d'obésité du type du syndrome de Willi-Prader. En revanche, cette patiente n'a pas de retard mental. Ses dépenses énergétiques étaient normales. Ce phénotype d'obésité extrême était aussi présent chez deux de ses sœurs (HD413, âgée de 14 ans avec un BMI de 71 kg/m², et HD417 décédée à 19 ans avec un BMI de 52,5 kg/m²). Ces trois jeunes filles présentaient des concentrations de leptine supérieures à 500 ng/ml, soit 6 à 10 fois plus que les valeurs habituellement retrouvées chez des sujets d'une corpulence voisine. Ainsi, pour une population d'obèses français dont l'indice de masse corporelle varie entre 40 et 80 kg/m², les leptinémies ne dépassent pas 180 ng/ml. Cette élévation inattendue des concentrations de leptine chez ces trois patientes a fait évoquer l'hypothèse d'une mutation du récepteur de la leptine, d'autant que la caractérisation génotypique de marqueurs polymorphes situés au locus d'*Ob-R* montrait une coségrégation entre un haplotype et l'obésité dans cette famille. Le criblage des 18 exons codants du gène *Ob-R* par la technique de SSCP a montré une conformation anormale de l'exon 16, présente à l'état homozygote chez le sujet index (HD 416), et à l'état hétérozygote chez sa mère. Le séquençage direct du produit de PCR correspondant identifiait une substitution d'une base g → a, située dans le site donneur d'épissage de l'exon 16 (à la jonction exon 16/intron 16) (figure 3A). Les trois sœurs obèses étaient homozygotes pour cette mutation. Leurs parents étaient donc hétérozygotes, ainsi que quatre autres enfants non affectés de la fratrie. Deux autres enfants présentaient la forme normale d'*Ob-R* (figure 1). Le *lodscore* entre cette mutation d'*Ob-R* et l'obésité était de 3,5 dans cette famille. Il ne s'agissait pas d'un simple polymorphisme, puisque cette mutation n'était pas détectée chez 402 individus français, massivement obèses ou ayant un poids normal. Pour étudier les conséquences

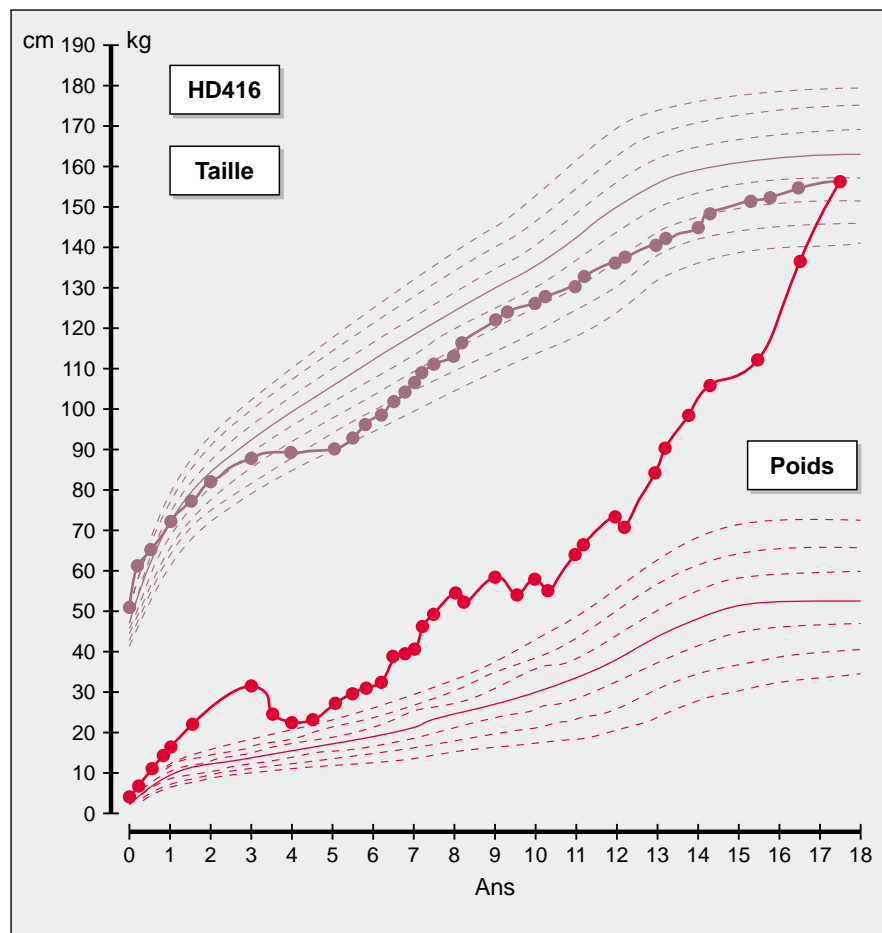


Figure 2. **Courbe de croissance du cas index de la famille HD.** En ordonnées: le poids en kg et la taille en cm; en abscisse: l'âge de la malade. Le premier infléchissement sur la courbe de poids est lié à la mise de la patiente à un régime hypocalorique qui a également aggravé le retard statural. Puis la remontée de la courbe de taille correspond à la mise en place d'un traitement par la GH.

de cette mutation sur la maturation de l'ARN messager, la région nucléotidique correspondant à l'exon 16 a été amplifiée à partir de l'ADN complémentaire de la famille. Chez les sujets hétérozygotes détectés par SSCP, on retrouvait un fragment complet de 275 pb (taille du fragment après amplification des 3 exons 15, 16 et 17) ainsi qu'un fragment plus court de 170 pb. Cet ARNm n'était pas retrouvé chez les sujets indemnes de mutation génique alors qu'il était le seul présent chez les homozygotes obèses. Le séquençage direct a confirmé l'existence d'une délétion complète de l'exon 16. Cette mutation conduit à la synthèse d'une pro-

téine de 831 acides aminés (appelée Ob-Rhd) contenant les 830 premiers acides aminés de la partie extracellulaire du récepteur et terminée par un résidu glutamine carboxy-terminal. L'exon 16 produisant spécifiquement la partie transmembranaire du récepteur, la forme tronquée du récepteur de la leptine Ob-Rhd ne possède donc ni les domaines transmembranaires, ni la partie intracellulaire du récepteur normal (figure 3B).

Des chromatographies du sérum des sujets de la famille HD ont été réalisées par Najiba Lahlou (Inserm U. 342, hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris) afin d'évaluer le profil de concentration de leptine circulante.

Chez les sujets homozygotes pour la mutation, mais aussi chez les hétérozygotes de la famille HD, 80 % de la leptine circule sous forme d'un complexe de haut poids moléculaire. Au contraire, chez des sujets normaux, et quel que soit leur poids, seuls 5 % à 20 % de la leptine circulent sous forme d'un complexe de taille similaire. D'ailleurs, la leptine marquée du complexe est facilement déplacée par la leptine recombinante; elle apparaît alors dans le pic de leptine libre, ce qui confirme bien la présence d'un facteur liant la leptine dans ce complexe. Compte tenu de sa taille élevée (environ 440 kDa), il pourrait être formé de dimères d'Ob-Rhd, peut-être associés à d'autres formes courtes circulantes du récepteur de la leptine.

Outre l'obésité massive et précoce, les trois jeunes filles présentent des anomalies endocriniennes multiples, d'origine hypothalamo-hypophysaire. L'association à une aménorrhée primaire et l'absence de glande mammaire et de pilosité ainsi que les résultats des tests hormonaux (FSH et LH bas, non stimulés par un test au LHRH) répétés évoquent sans ambiguïté un impubérisme complet par hypogonadisme hypogonadotrophique. Contrairement aux enfants obèses qui ont une croissance accélérée, leur courbe de croissance est restée en dessous de la courbe normale (moins 1 à 2 déviations standard). Les évaluations précises de l'axe somatotrope réalisées au cours de leur enfance par Yves Le Bouc et Sylvie Cabrol (Explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital d'enfants Armand-Trousseau) sont en faveur d'une insuffisance de sécrétion somatotrope. Les profils des tests au TRH montrent chez ces patientes une sécrétion ample de TSH restant en plateau, proche de ce qui est rencontré dans les insuffisances thyroïdiennes d'origine centrale. En revanche, l'axe corticotrope est normal. Sur le plan métabolique, leur glycémie est normale et l'insulinémie est élevée de manière comparable à celle des sujets de cette corpulence, et il n'y a pas de dyslipidémie.

Les membres hétérozygotes de la famille ne présentent pas ce phénotype d'obésité sévère associé à ces anomalies endocriniennes. Leur matura-

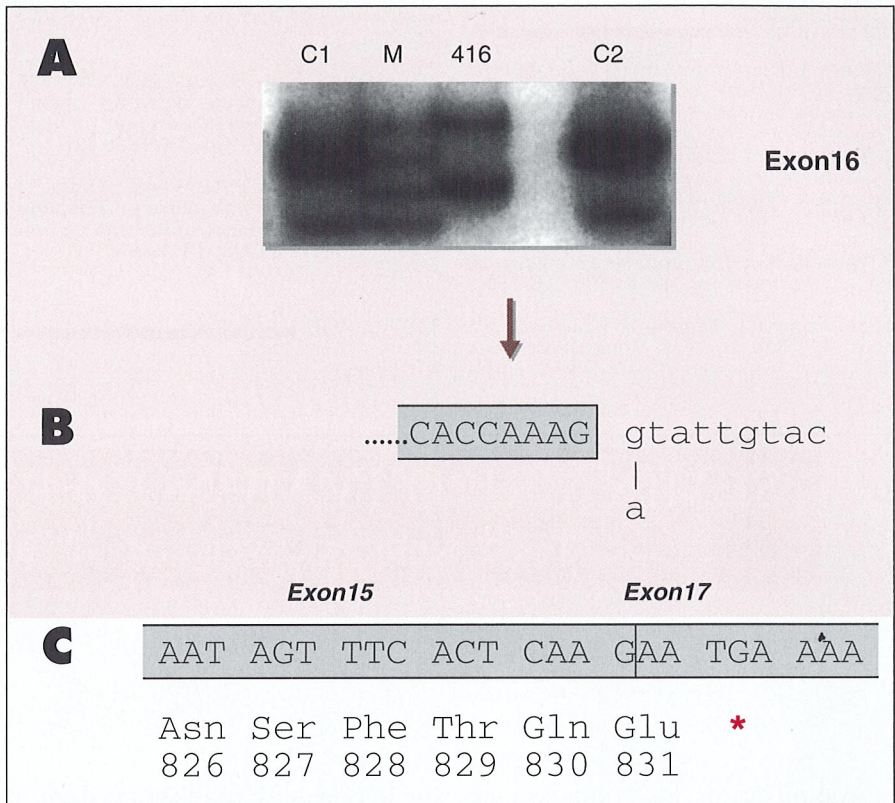


Figure 3. Mutation du récepteur de la leptine. **A.** Le criblage par SSCP retrouve un profil anormal à l'état homozygote chez le cas index (HD416) par comparaison avec deux témoins obèses (C1 et C2) non apparentés à la famille. La mère (M) est hétérozygote. **B.** La mutation d'Ob-R correspond à une substitution d'une base g → a, située dans le site donneur d'épissage de l'exon 16 (à la jonction exon 16/intron 16). **C.** Cette mutation d'Ob-R conduit à la perte de l'exon 16 et à la synthèse d'une protéine de 831 acides aminés (Ob-Rhd) contenant les 830 premiers acides aminés de la partie extracellulaire du récepteur. * = codon stop.

tion sexuelle est normale, ce qui suggère que leur unique allèle *Ob-R* normal est fonctionnellement suffisant. En revanche, les hétérozygotes ont des concentrations de leptine également très élevées (près de la moitié des valeurs des homozygotes, soit 10 fois plus que la normale). Il est possible que cette élévation de la leptine soit due à une capture de la leptine par le complexe circulant qui comporte le récepteur tronqué Ob-Rhd, entraînant une augmentation de la demi-vie de la leptine.

Il s'agit donc de la première description d'une mutation du récepteur humain de la leptine responsable de la synthèse d'une forme tronquée non ancrée à la membrane cellulaire. L'analyse phénotypique des sujets porteurs de cette mutation démontre

que la leptine n'intervient pas seulement dans la régulation nutritionnelle comme cela a été montré chez les enfants déficients en leptine [4, 6], mais aussi dans l'initiation de la puberté et une sécrétion inadéquate de GH complète le tableau clinique. Cette étude montre que chez l'homme l'intégrité du récepteur de la leptine est non seulement nécessaire au contrôle de la prise alimentaire et à la régulation du bilan d'énergie mais aussi de façon totale ou partielle au contrôle des fonctions gonadotropes, somatotropes et thyroïdiennes (*m/s n° 4, vol. 14, p. 496*). Il reste que les mutations du récepteur à la leptine sont probablement exceptionnelles chez l'homme, y compris parmi les sujets atteints d'obésité massive et précoce ■

RÉFÉRENCES

1. Kahn A. Une confirmation: le produit du gène *ob* est bien une hormone agissant comme un lipostat. *Med Sci* 1995; 11: 1463-4.
2. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, *et al.* Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 85: 1263-71.
3. Vaisse C. Leptine: après le récepteur, la voie de transduction. *Med Sci* 1997; 13: 99.
4. Montague CT, Farooqi S, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, *et al.* Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-7.
5. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, *et al.* A mutation in the human leptin receptor causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398-401.
6. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18: 213-5.

TIRÉS À PART

K. Clément.

Karine Clément
Christian Vaisse
Arnaud Basdevant
Bernard Guy-Grand
Philippe Froguel

Laboratoire et Service de médecine et de nutrition, Hôtel-Dieu, place du Parvis-Notre-Dame, 75004 Paris, France et Cnrs-EP10, Institut de biologie, Institut Pasteur de Lille, rue Calmette, 59000 Lille, France.