

Génétique du diabète de type 2 et de l'obésité : où en sommes-nous ? Que pouvons-nous en attendre ?

Genetics of type 2 diabetes and obesity: Where are we? What can we expect?

A. Bonnefond^{1, 2}, P. Froguel^{1, 2, 3}

¹ CNRS-UMR 8199, Institut Pasteur de Lille.

² Université Lille Nord de France.

³ Department of genomics of common disease, School of public health, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London, UK.

Résumé

Le diabète de type 2 (DT2) et l'obésité sont des maladies multifactorielles à forte composante génétique. Le séquençage du génome humain et les cartes des variations de l'ADN ont récemment permis de très grands progrès dans la compréhension des bases génétiques de ces maladies. Les connaissances physiopathologiques du DT2 et de l'obésité ont été révolutionnées par les avancées génétiques. Cette revue fait le point sur ces progrès et présente les perspectives de médecine personnalisée ouvertes par le séquençage complet du génome de patients diabétiques ou obèses.

Mots-clés : Diabète de type 2 – obésité – génétique – étude d'association pangénomique – séquençage de nouvelle génération.

Summary

Type 2 diabetes (T2D) and obesity are multifactorial disorders with a strong genetic basis. The sequencing of the human genome and the Hapmap project of frequent DNA variation have made possible dramatic progress in the understanding of the molecular determinants of both afflictions. Indeed, Genome Wide Association studies (GWAS) have identified dozens of loci contributing to the risk of these conditions. Next Generation Sequencing (NGS) will certainly identify rare functional genetic variants causing extreme diabetes and obesity phenotypes and/or strongly increasing disease risk opening new avenues in metabolic personalized medicine.

Key-words: Type 2 diabetes – obesity – genetics – genome-wide association study – next-generation sequencing.

Correspondance :

Amélie Bonnefond

CNRS-UMR 8199 et Institut Pasteur de Lille

Génomique et maladies métaboliques

1, rue du professeur Calmette

BP 245

59019 Lille cedex

amelie.bonnefond@good.ibl.fr

© 2011 - Elsevier Masson SAS - Tous droits réservés.

Diabète de type 2 et obésité : quelle composante génétique ?

Les prévalences croissantes du diabète de type 2 (DT2) et de l'obésité sont étroitement corrélées aux co-morbidités associées, comme les maladies cardiovasculaires, la rétinopathie et la néphropathie diabétiques, et certains cancers. Le diabète a aujourd'hui atteint

des proportions épidémiques : 240 millions d'individus sont atteints de diabète dans le monde, et le diabète fait autant de victimes que le sida (3,8 millions de décès dus au diabète estimés dans le monde, en 2007) [1]. Il en est de même pour l'obésité : l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé, qu'en 2008, 1,5 milliards d'adultes âgés de plus de 20 ans étaient en surpoids et plus de 200 millions d'hommes et 300 millions de femmes étaient obèses (indice de

Génétique

masse corporelle, IMC, ≥ 30 kg/m²) [2]. En 2010, approximativement 43 millions d'enfants âgés de moins de 5 ans étaient en surpoids [2].

D'un point de vue sociétal global, les changements des facteurs environnementaux, tels que la sédentarité ou la mauvaise nutrition, qui incarnent l'occidentalisation de nos sociétés, ont conduit à l'explosion des prévalences de l'obésité et du DT2. Cependant, la particularité des épidémies de DT2 et d'obésité est la persistance de variations individuelles de risque au sein d'une population partageant le même environnement. En effet, des études, basées en majorité sur des cohortes de jumeaux dizygotés et monozygotés, ont montré qu'au sein d'une même population, le DT2 et l'obésité étaient génétiquement déterminés, avec une héritabilité estimée entre 30 et 70 % [3-7]. Au vu de ces estimations d'héritabilité, l'investigation génétique peut être un outil fructueux pour disséquer les mécanismes moléculaires impliqués dans les physiopathologies de l'obésité (régulations défectueuses de l'homéostasie énergétique et de l'appétit, insulino-résistance) et du DT2 (régulation défectueuse de la sécrétion d'insuline, insulino-résistance). Jusqu'à présent, une multitude d'approches a été utilisée afin d'identifier les gènes de susceptibilité au DT2 et à l'obésité, incluant, en premier lieu, les études gène-candidat et les études familiales de liaison génétique, puis les études d'association pangénomique et, enfin, depuis peu, les études de séquençage de nouvelle génération à très haut débit [8, 9], avec plus ou moins de succès. C'est ce que nous allons aborder tout au long de cette revue.

Avant les années 2000 et le séquençage complet du génome humain

Les approches gène-candidat et les études de liaisons génétiques, avant les années 2000 et le séquençage complet du génome humain, ont surtout été fructueuses dans les formes monogéniques (c'est-à-dire associées au dysfonctionnement d'un gène particulier) de DT2 et d'obésité. L'obésité monogénique ne sera pas abordée dans cette revue, car

elle est développée par Christine Poitou *et al.* dans ce même dossier thématique [10]. Les formes monogéniques de DT2 incluent principalement :

- le diabète néonatal ou le diabète de la jeune enfance (DN) qui, comme son nom l'indique, survient dans les premiers mois de vie ;
- le diabète de type MODY (*Maturity-onset diabetes of the young*) qui est une forme de DT2 familiale à transmission autosomale dominante et à survenue précoce (classiquement avant l'âge de 25-30 ans).

Le DN est une maladie métabolique très rare (~ 1/300 000 naissances), mais potentiellement dévastatrice, entraînant, chez les patients atteints, des niveaux plasmatiques d'insuline très bas, voire indétectables.

La prévalence du MODY, quant à elle, est estimée être entre 2 et 5 % des DT2. Le MODY n'est pas une simple entité, mais représente une pathologie hétérogène au regard d'un large spectre de caractéristiques génétiques, métaboliques et cliniques [9].

L'approche gène-candidat

• **Concernant les formes monogéniques de DT2, et plus particulièrement le DN**, l'approche gène-candidat fut très efficace. À vrai dire, au regard des limitations technologiques, pratiquement aucune autre approche n'était envisageable car il n'existe pas de cas familiaux de DN, ce qui rend impossible les études de liaison familiale (voir *infra*). En effet, la majorité des mutations causales répertoriées à ce jour sont, soit *de novo*, soit non totalement pénétrantes.

L'approche gène-candidat dans le DN fut avant tout focalisée sur des gènes impliqués dans le transport du glucose, le développement et la fonction de la cellule β -pancréatique, particulièrement la sécrétion insulinaire. Après la sélection d'un gène, les parties codantes (ou exons) sont séquencées à partir de l'ADN de chaque patient. Si une mutation putativement fonctionnelle (c'est-à-dire une mutation faux sens, non sens, ou décalante) est identifiée, elle est ensuite testée dans une population de sujets non diabétiques. Si la mutation n'est pas retrouvée chez les sujets témoins, le séquençage du gène est envisagé

dans d'autres cohortes de DN non élucidé, voire de MODY, et des analyses fonctionnelles de la mutation sont engagées. L'approche gène-candidat a permis d'identifier les deux gènes principaux impliqués dans le DN, codant les sous-unités du canal potassium sensible à l'ATP (*figure 1*) [9] :

- *ABCC8* (codant SUR1) ;
- *KCNJ11* (codant KIR6.2).

Cette découverte fut cruciale concernant le traitement des patients mutés. En effet, la grande majorité des patients portant une mutation dans *ABCC8* ou *KCNJ11* peuvent passer avec succès d'une insulinothérapie, qui est un traitement lourd et difficilement contrôlable (avec de forts risques d'hypoglycémie), à une simple prise orale de comprimés de sulfonylurées, un ligand du canal potassium sensible à l'ATP qui stimule sa fermeture.

• **Dans les formes polygéniques de DT2 et d'obésité**, l'approche gène-candidat fut moins efficace, ceci étant sûrement lié à la plus grande complexité génétique de ces maladies, qui dépendent d'une forte composante environnementale et de variants non forcément codants ni très pénétrants (c'est-à-dire qui n'entraînent pas toujours l'apparition de la maladie). Après sélection d'un gène potentiellement candidat (par exemple à partir de l'extrapolation humaine d'études animales), une étude d'association compare les fréquences de chaque polymorphisme nucléotidique commun (SNP, pour *single nucleotide polymorphism* ; avec fréquence de l'allèle mineur [MAF] ≥ 5 %) au locus du gène chez les cas *versus* les sujets contrôles, et détermine si l'un des SNPs testés est significativement surreprésenté chez les personnes atteintes de DT2 ou d'obésité.

• **DT2 commun** : moins de dix loci ou gènes identifiés par cette approche ont été associés de façon convaincante au DT2 commun (c'est-à-dire dont l'association a été significativement répliquée dans plusieurs études, et plus particulièrement dans les études d'association pangénomique) (*figure 2*) [8, 11, 12].

• **Obésité polygénique** : seuls trois gènes identifiés par l'approche candidat ont ensuite été répliqués de façon convaincante par les études d'association pangénomique [12] :

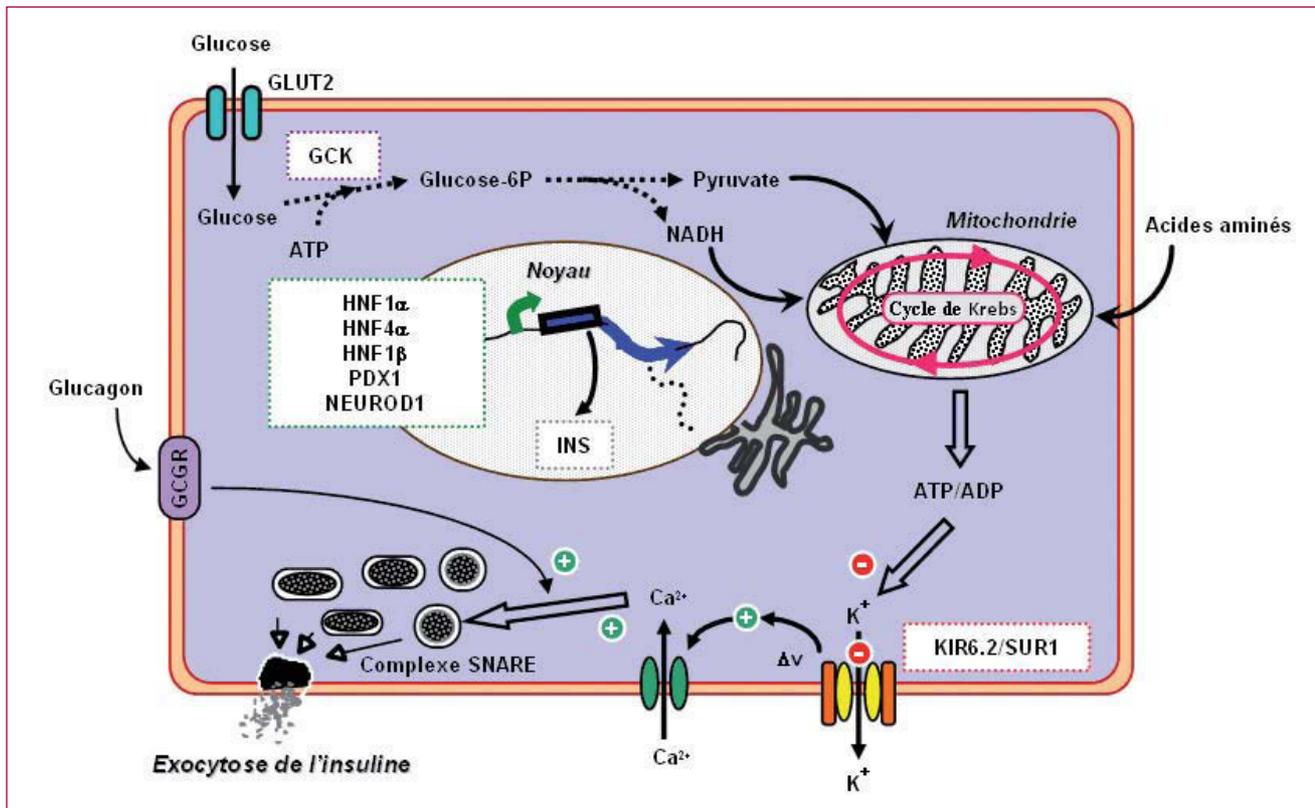


Figure 1 : Gènes impliqués dans le diabète monogénique : rôle clé dans la cellule β -pancréatique.

- *ADRB3* codant le récepteur adrénergique $\beta 3$ [13] ;
- *PCSK1* codant la prohormone convertase 1/3 [14] ;
- *CNR1* codant le récepteur 1 des endocannabinoïdes [15].

Il est important de noter que les SNPs fréquents situés au locus de ces gènes et trouvés associés à un risque de DT2 ou d'obésité ont un effet très faible (*odds ratio* [OR] < 1,50 ; c'est-à-dire que les porteurs d'un allèle à risque situé dans ces gènes ont moins de 50 % de risque en plus de devenir diabétiques de type 2 ou obèses), ce qui se démarque complètement des mutations impliquées dans les formes monogéniques de DT2 ou d'obésité (montrant des OR supérieurs à 50).

Les études de liaisons génétiques

À partir des années 1990, les généticiens se sont intéressés aux analyses de liaison génétique, basées sur des rapports de recombinaisons génétiques et leur ségrégation dans des familles dites multiplexes (présentant plusieurs mem-

bres affectés sur plusieurs générations). La recombinaison génétique, qui a lieu naturellement lors d'une méiose (avec son lot de *crossing over*), permet de fragmenter le génome en blocs de recombinaison de taille variable. La méthode la plus répandue est de procéder à une exploration à l'échelle du génome entier par des marqueurs moléculaires polymorphes (comme des microsatellites ou des SNPs).

Au sein d'une famille montrant un DT2 ou une obésité qui se transmet de génération en génération, il est possible d'établir l'occurrence génétique de la maladie, en calculant une probabilité de co-ségrégation (LOD-score) entre le phénotype et les blocs de recombinaison de tous les membres de la famille. Si une liaison est établie avec un LOD-score élevé (> 3), il est alors possible de combiner les limites des blocs de recombinaison de chaque individu afin de déterminer l'étendue génétique du locus de liaison et de sélectionner, puis séquencer, les gènes-candidats du locus. L'analyse de

liaison génétique convient parfaitement à la découverte de mutations à effets forts, dans des grands arbres généalogiques.

- Dans le diabète MODY, cette approche a permis d'identifier les deux premiers gènes de susceptibilité au MODY (figure 1) :

- *GCK* (MODY-2) ;
- *HNF1A* (MODY-3).

Les MODY-2 et MODY-3 sont les formes les plus fréquentes de MODY élucidées : entre 20 et 60 % pour les deux sous-types de MODY, selon les cohortes [9, 16].

À la suite de la découverte de l'implication de *HNF1A* dans la déclaration d'un MODY fréquent, les généticiens ont pris conscience de l'importance que pouvait avoir les facteurs de transcription dans la déclaration d'un MODY et ont donc testé tous les facteurs de transcription de la famille des HNF et d'autres, tenant un rôle clé dans le développement et le fonctionnement de la cellule β -pancréatique. C'est par cette approche de gène-candidat, consécutive aux études

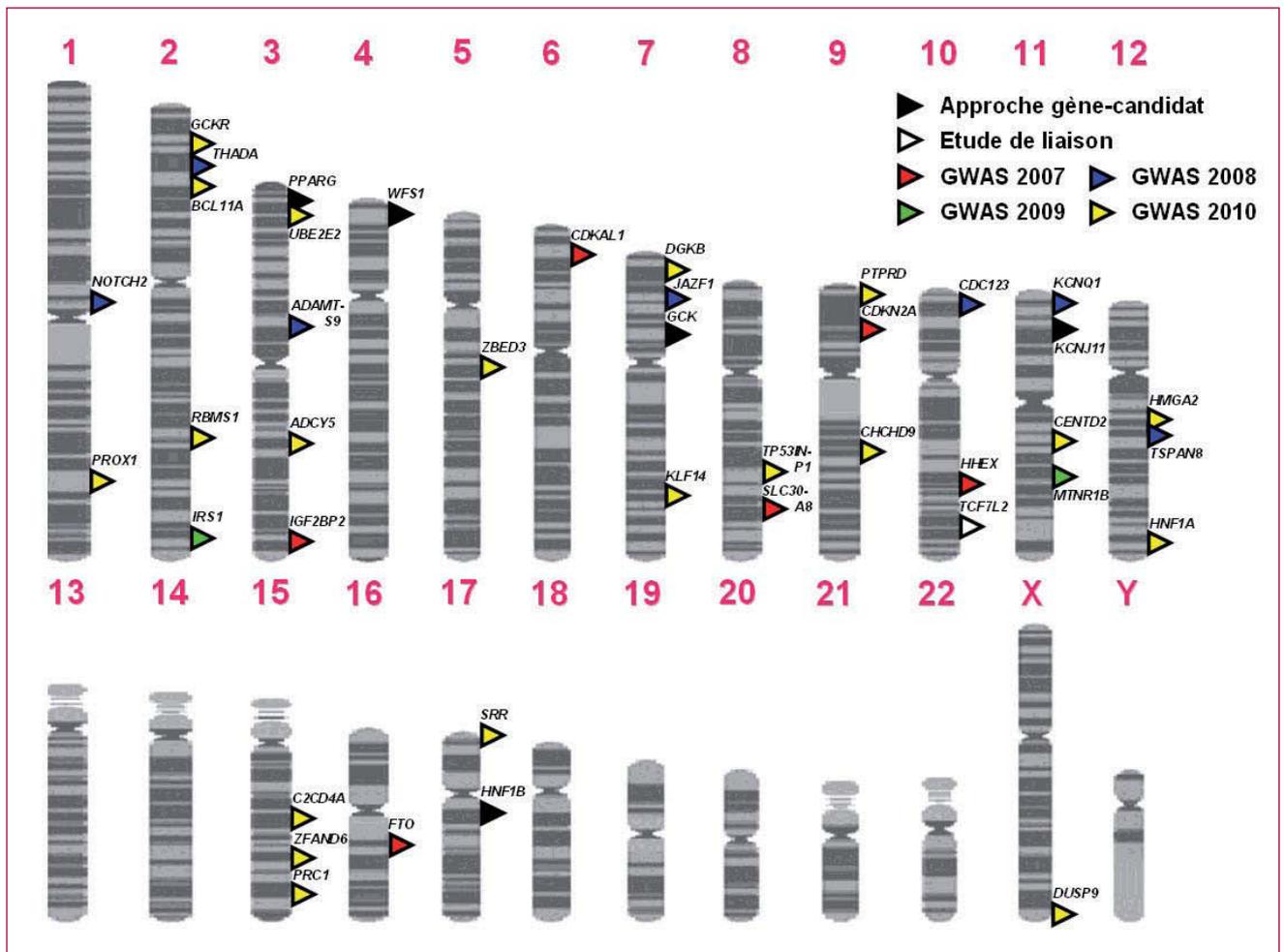


Figure 2 : Identification des gènes de susceptibilité au DT2 via diverses approches.

de liaison, qu'ont été découverts quatre nouveaux gènes de susceptibilité au MODY (figure 1) :

- *HNF4A* (MODY-1) ;
- *PDX1* (MODY-4) ;
- *HNF1B* (MODY-5) ;
- *NEUROD1* (MODY-6).

Ces quatre sous-types de MODY sont tous rares et assez sévères.

Des mutations codantes à l'état homozygote dans les gènes *PDX1*, *GCK* et *NEUROD1* ont été identifiées chez des patients atteints de DN. Par ailleurs, dans le DN, l'approche de liaison génétique a permis d'identifier le gène codant l'insuline (*INS*) qui est fréquemment muté chez les patients atteints de DN (~ 10 %) (figure 1) [9].

• **Concernant le DT2 polygénique**, l'étude de liaison génétique a permis

d'identifier un seul gène de susceptibilité au DT2 (qui a été confirmé par les études d'association pangénomique), mais non des moindres : *TCF7L2*, qui représente à ce jour le locus qui implique le plus gros effet sur le risque de survenue d'un DT2 (OR ~ 1,45) (figure 2) [9].

• **Concernant l'obésité**, malgré nombre d'études, aucune n'a été vraiment fructueuse dans l'identification de nouveaux gènes de susceptibilité [12].

Changement de la donne dans les années 2000

Des changements sont apparus, dans les années 2000, avec le séquençage du génome entier, les puces à ADN et les études d'association pangénomique.

L'approche « génome entier »

L'approche « génome entier » (qui est non biaisée par des *a priori* sur la relevance de gènes dits candidats) date des années 1980, lors de la construction de cartes de liaison du génome humain. Sans hypothèse physiopathologique, il ne s'agit pas d'une approche « au hasard », mais d'une exploration systématique du génome. Cette méthode utilisait initialement les marqueurs moléculaires *Restriction fragment length polymorphisms* (RFLP) et ses premières applications portaient sur les maladies mendéliennes [17]. Cependant, les généticiens ont rapidement choisi d'utiliser également cette approche dans des maladies à transmission plus complexe. Il fut alors proposé de cartographier les déséquilibres de liaison (LD,

pour *linkage disequilibrium*), en considérant qu'une mutation partagée par des patients atteints d'une même maladie, dans une même population (c'est-à-dire incluant des sujets qui ont des ancêtres communs), est entourée d'allèles proches et partagés qui constituent le bloc d'haplotype du chromosome ancestral sur lequel la mutation est apparue en premier [17].

Le séquençage

Depuis 2003, le séquençage (mouvement) du génome humain et le projet international HapMap ont permis de générer des cartes fines du génome humain divisé en des milliers de groupes de SNPs fréquents ($MAF \geq 5\%$) hautement corrélés (c'est-à-dire montrant un fort LD), chaque groupe étant représenté par un SNP « porte-drapeau » (ou *tagSNP*).

L'objectif principal du projet HapMap était de comparer les séquences génétiques de différents individus, issus de diverses populations (européenne [CEU], asiatique [CHB, JPT], africaine [YRI]...) afin de relever les régions chromosomiques où des variations génétiques sont partagées ; tout ceci dans le domaine public. La phase II du projet avait démontré que la variabilité des SNPs détectés avec une $MAF \geq 5\%$ pouvait être résumée en ~ 550 000 blocs de LD (avec une corrélation $r^2 \geq 0,8$) chez les individus originaires d'Europe ou d'Asie, et à ~ 1 100 000 blocs de LD chez les individus originaires d'Afrique [18]. Chaque bloc de LD est représenté par un *tagSNP*. En génotypant tous les *tagSNPs* d'un échantillon d'ADN humain, il était alors possible de connaître plus de 80 % des SNPs présents (avec une $MAF \geq 5\%$) à travers le génome de l'individu testé [18].

Les puces à ADN et les associations pangénomiques

Simultanément à ce bel effort de la communauté scientifique visant à disséquer le génome humain en blocs de LD, une véritable révolution technologique a eu lieu dans le génotypage des SNPs [19]. En moins de 10 ans, les avancées technologiques ont permis de passer du test d'un seul SNP au génotypage simultané de centaines de milliers de SNPs (plus

de 2 millions aujourd'hui) par individu, en utilisant des puces à ADN.

Par les études d'association pangénomique (ou GWAS, pour *genome-wide association studies*), les généticiens ont mis ces puces à ADN à profit afin d'identifier des différences de fréquence allélique des SNPs présents sur les puces (*tagSNPs* dans la technologie Illumina) entre des cas (c'est-à-dire des patients atteints de DT2, ou atteints d'obésité) *versus* des contrôles (normoglycémiques ou normopondéraux, respectivement). La logique des GWAS repose sur l'adage suivant : « *une maladie commune est liée à des variants fréquents de l'ADN* » ; ce qui sous-entend que les causes génétiques des maladies fréquentes (telles que le DT2 ou l'obésité) sont dues en grande majorité à plusieurs SNPs, dont chacun d'entre eux est présent chez plus de 5 % de la population étudiée, et répartis à plusieurs endroits du génome. Une différence de fréquence significative entre allèles du même SNP entre cas et témoins indique que la région correspondante du génome contient des variants génomiques fonctionnels qui influencent le risque de maladie. Les GWAS ont incarné un grand pas en avant par rapport aux études de liaison familiale, car elles peuvent être à l'échelle de milliers d'individus issus d'une population, testés pour des centaines de milliers de SNPs à la fois.

Le catalogue international des GWAS

Au 21 juillet 2011, le catalogue international des GWAS a répertorié 4 786 SNPs associés à un large spectre de phénotypes, et issus de 951 publications [20]. Le seuil d'association utilisé pour chaque signal d'association répertorié ($p\text{-value} \leq 5 \times 10^{-8}$) correspond au seuil de Bonferroni. En effet, lorsqu'une association significative est identifiée entre un SNP et la maladie testée, une $p\text{-value} < 0,05$ (seuil habituellement utilisé en statistique dans les études de biologie) ne suffit pas. La correction de Bonferroni est une protection contre les tests multiples de significativité statistique basés sur le même échantillon de données, pouvant accorder une significativité apparente, mais non réelle.

Il est important de noter que chaque locus/gène rapporté par les GWAS implique l'association d'un seul SNP (compris dans un bloc de LD) avec le risque de survenue d'un DT2 ou d'une obésité. Les généticiens rapportent le gène le plus proche du SNP. Parfois, des études d'expression eQTL (*quantitative trait loci*), basées sur l'analyse croisée du génome et du transcriptome (dans des tissus spécifiques) *via* des puces à ADN, permettent de savoir si le SNP associé régule bien l'expression du gène rapporté. Mais la plupart du temps, comme les SNPs associés sont situés dans des régions non codantes et ont des effets très faibles, il est impossible de savoir s'ils sont bel et bien corrélés au gène le plus proche, et non à un gène situé plus loin sur le chromosome (voire sur un autre chromosome). Passer du signal d'association dans un locus donné aux mécanismes moléculaires sous-jacents et, *in fine*, vers la physiopathologie et de nouvelles opportunités thérapeutiques, demeure un véritable défi.

À ce jour, plusieurs stratégies impliquant les GWAS ont été utilisées dans l'identification des loci/gènes de susceptibilité au DT2 et à l'obésité.

- **L'étude GWAS cas-contrôles classique**, qui compare la fréquence allélique des SNPs (présents sur les puces à ADN) entre des cas *versus* des contrôles.
- **L'étude GWAS basée sur la variation génétique de traits quantitatifs reliés à la maladie étudiée** (par exemple : la glycémie à jeun ou l'hémoglobine glyquée [HbA_{1c}] pour le DT2 ; l'IMC ou le taux de masse grasse pour l'obésité). Par conséquent, les généticiens sont passés d'un modèle statistique binaire cas-contrôles à un modèle linéaire, basé sur l'ensemble de la distribution d'un trait quantitatif au sein d'une population générale. Ainsi, même si la technique était la même (c'est-à-dire basée sur des puces à ADN), l'approche analytique en a été tout autre (*figure 3*).
- **Les méta-analyses de GWAS**, qui sont réalisées par des consortia internationaux et qui regroupent plusieurs dizaines d'études GWAS à travers le monde ; le but étant d'obtenir une puissance statistique la plus optimale possible afin d'identifier de nouveaux loci/gènes de susceptibilité :

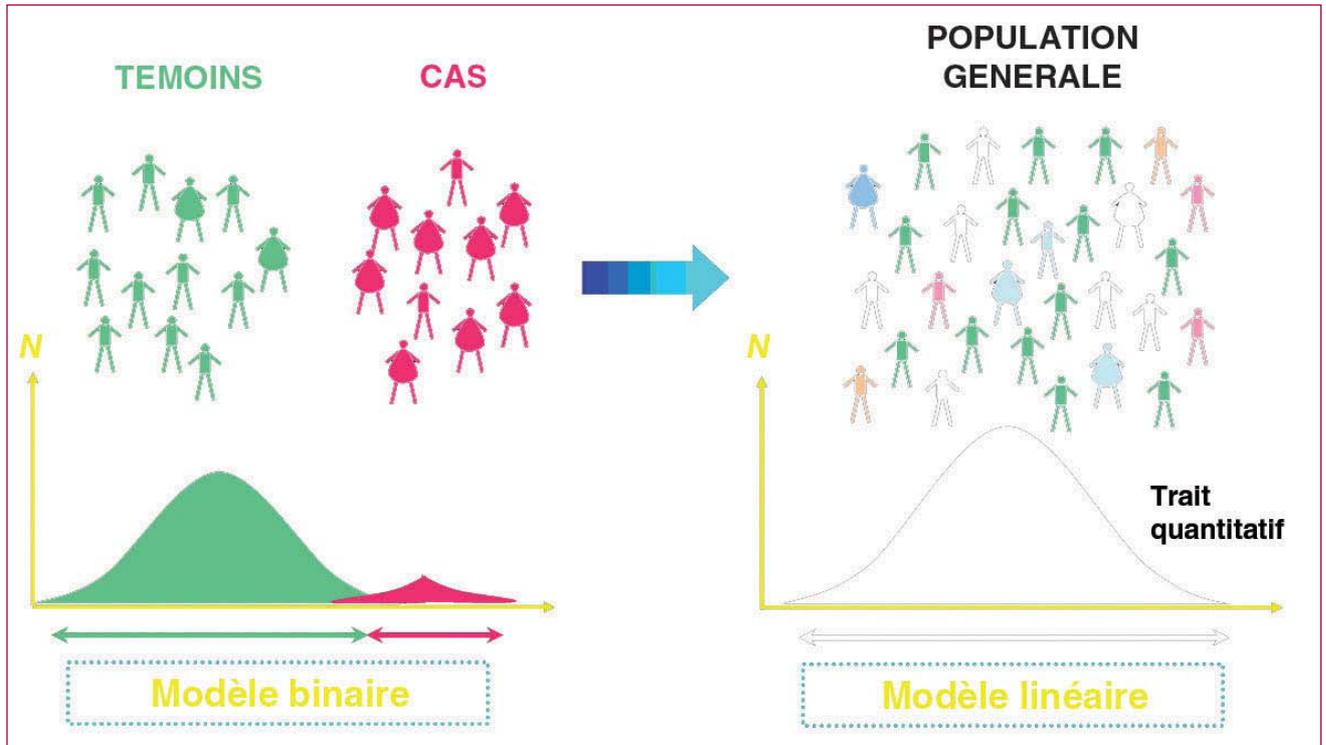


Figure 3 : Passage du modèle binaire au modèle linéaire dans les études GWAS.

– le consortium DIAGRAM+ (*DIAbetes Genetics Replication And Meta-analysis consortium*) s'occupe de regrouper les études GWAS cas-contrôles dans le DT2 ;

– le consortium MAGIC (*Meta-Analysis of Glucose and Insulin related traits Consortium*) s'occupe de regrouper les études GWAS basées sur la variation génétique de traits quantitatifs associés au DT2 (dont la plupart sont des traits reliés aux niveaux de glycémie et d'insulinémie à jeun ou après une hyperglycémie provoquée par voie orale) ;

– le consortium GIANT (*Genomewide Investigation of ANthropometric measures*) s'occupe de regrouper les études GWAS basées sur la variation génétique de paramètres anthropométriques incluant l'IMC, le taux de masse grasse, de masse maigre ou encore de masse osseuse.

GWAS et méta-analyse de GWAS dans le DT2 et les traits associés

À ce jour, les GWAS et les méta-analyses de GWAS (cas-contrôles et traits quantitatifs reliés au DT2) ont per-

mis d'identifier plus de 30 loci/gènes de susceptibilité au DT2 en moins de 4 ans [9, 11] (figure 2).

Concernant les GWAS de traits quantitatifs reliés au DT2, nos études, ainsi que celles rapportées par le consortium MAGIC, ont montré que, paradoxalement, il n'y avait qu'un chevauchement partiel entre les loci/gènes associés aux paramètres reliés au DT2 (glycémie/insulinémie à jeun, glycémie/insulinémie 2 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale, HbA_{1c}...) et les loci/gènes associés au risque de survenue d'un DT2 (figure 4).

En effet, en 2008, nous avons commencé à percevoir ce phénomène en analysant la génétique de la variabilité de la glycémie à jeun à partir de puces à ADN issues de 654 participants normoglycémiques (afin d'éviter les biais entraînés par les traitements hypoglycémisants) inclus dans la cohorte générale française Données Épidémiologiques sur le Syndrome d'Insulino-Résistance (DESIR). Une association fortement significative a été identifiée entre l'allèle mineur du SNP rs560887 situé dans le gène *G6PC2* et

une diminution de la glycémie à jeun. Cette association a été répliquée chez 8 699 participants européens normoglycémiques. De façon surprenante, aucune association entre le SNP et le risque de DT2 n'a été identifiée malgré un large génotypage effectué ($N_{\text{cas}} = 2\,972$; $N_{\text{contrôles}} = 4\,073$) [21].

Par la suite, le consortium MAGIC et sa méta-analyse de 21 GWAS ($N_{\text{total}} = 46\,186$ participants non diabétiques), suivie d'une réplique des 25 premiers *hits* d'association chez 76 558 participants supplémentaires, a permis d'identifier 16 loci associés à la glycémie à jeun et l'HOMA (*Homeostasis model assessment*)-B (indice d'évaluation de la fonction de la cellule β , à jeun) et deux loci associés à l'insulinémie à jeun et à l'HOMA-IR (indice d'évaluation de l'insulinorésistance, à jeun) [22]. Seulement sept de ces 18 loci contribuaient de façon significative au risque de survenue d'un DT2 (en prenant en compte la correction de Bonferroni) (figure 4). Cela suggère qu'une partie seulement des loci associés à la glycémie à jeun – dans une gamme physiologiquement normale

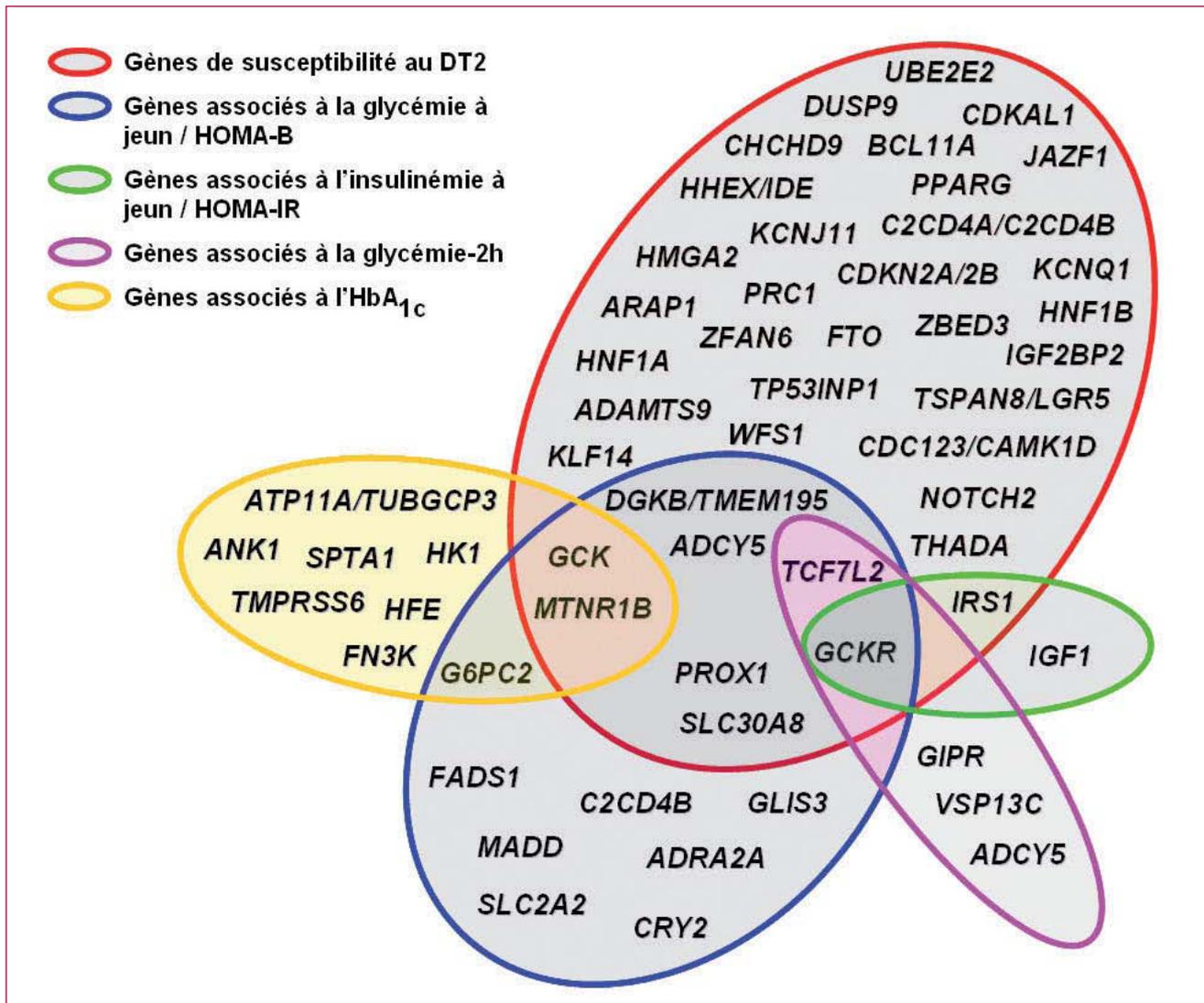


Figure 4 : Gènes de susceptibilité au DT2 et aux traits associés. HOMA : Homeostasis model assessment.

– est également associée à la glycémie à jeun à des niveaux pathologiques définissant un état diabétique. Autrement dit, l'augmentation faible (d'après l'effet des SNPs identifiés) de la glycémie à jeun ne constitue pas forcément une caractéristique physiopathologique suffisante pour le développement d'un futur DT2. Inversement, le consortium DIAGRAM+, avec l'aide des données générées par le consortium MAGIC, a récemment montré que l'amplitude des effets des gènes de susceptibilité au DT2 sur le risque de survenue de la maladie et sur l'augmentation de la glycémie à jeun n'était pas corrélée [23]. Cependant, la grande

majorité de ces gènes ont avant tout un effet sur la sécrétion insulinaire, plutôt que sur la sensibilité à l'insuline. Concernant la génétique de la glycémie et de l'insulinémie mesurées 2 heures (2h) après une hyperglycémie provoquée par voie orale (glycémie-2h et insulinémie-2h, respectivement), le consortium MAGIC a permis la méta-analyse de neuf GWAS incluant 15 234 participants non diabétiques européens, suivie d'une réplique de 29 SNPs chez 30 620 sujets non diabétiques. Ce travail a permis de révéler cinq loci significativement associés à la glycémie-2h, dont trois loci étaient également associés au DT2 [24] (figure 4).

Ainsi, malgré ces travaux planétaires gigantesques, la corrélation entre les gènes modulant la glycémie à jeun, la glycémie-2h, les indices physiologiques associés et, *in fine*, le risque de DT2, reste insuffisamment cohérente. Il manque une vision d'ensemble de ces mécanismes complexes. Mais, quoi qu'il en soit, l'utilisation des GWAS pour les traits glycémiques a permis d'identifier de nouveaux gènes à risque dans le DT2 et d'ouvrir de nouvelles voies d'investigation moléculaire.

– **L'étude génétique de l'HbA_{1c} par les GWAS** a, quant à elle, expliqué certaines limites plus ou moins connues dans l'uti-

Génétique

lisation de cet indice. L'HbA_{1c} résulte de la glycation de la chaîne β des molécules d'hémoglobine transportant le dioxygène au sein des globules rouges. L'HbA_{1c} est devenue l'indice le plus utilisé pour évaluer, chez les patients diabétiques, l'efficacité des traitements antidiabétiques sur le contrôle glycémique à long terme, car le taux d'HbA_{1c} reflète la concentration plasmatique moyenne du glucose tout au long de la vie d'un érythrocyte (c'est-à-dire environ 3 mois chez un homme). Par ailleurs, l'Association américaine du diabète (*American diabetes association*, ADA) incite la profession médicale à utiliser de façon systématique le taux d'HbA_{1c} pour diagnostiquer un DT2 (HbA_{1c} ≥ 6,5 %).

Une première étude GWAS a mis en évidence un nouveau locus significativement associé à la variabilité de l'HbA_{1c} : *HK1* codant l'hexokinase 1, qui permet d'engager le glucose dans la voie de la glycolyse au niveau du cytoplasme cellulaire [25]. Dans cette étude, aucun autre trait métabolique n'avait été étudié à partir des signaux d'association, ni même une étude cas-contrôles dans le DT2. *HK1* est exprimé dans la grande majorité des cellules et des tissus dépendant de la capture de glucose pour leurs besoins énergétiques et métaboliques. Ainsi, l'on pouvait aisément penser que l'association du locus *HK1* avec l'HbA_{1c} était très probablement expliquée par la voie glucidique. Cependant, des mutations non synonymes et des délétions dans le site actif de *HK1* entraînaient des anémies hémolytiques très sévères, sans apparemment conduire à un diabète. Les souris *Downeast Anemia* ayant une insuffisance au niveau d'*HK1* montrent le même phénotype d'anémie hémolytique sévère [26].

Dans notre laboratoire, l'association entre l'allèle mineur du SNP rs7072268 au locus du gène *HK1* et une augmentation de l'HbA_{1c} a été confirmée chez 6 953 sujets européens non diabétiques.

Puis, comme il était connu qu'une anémie pouvait influencer l'HbA_{1c} [26], nous avons supposé que le SNP rs7072286 pouvait contribuer à la variabilité des traits associés aux érythrocytes et donc, indirectement, à celle de l'HbA_{1c}, indépendamment de la concentration

ambiante de glucose. Nous avons donc testé l'association du SNP rs7072268 avec les traits glycémiques et insulinémiques, à jeun, et durant une hyperglycémie provoquée par voie orale, mais aucune association significative n'a été identifiée. En outre, le SNP n'était pas non plus associé à une augmentation du risque de DT2. En revanche, nous avons identifié une association significative entre l'allèle mineur du SNP rs7072268 et une diminution de l'hémoglobine et du taux d'hématocrite [26]. L'effet significatif du locus *HK1* sur ces deux traits érythrocytaires a dernièrement été confirmé par une méta-analyse de GWAS réalisée par le consortium CHARGE [27].

Ainsi, nos données suggéraient que les variants d'*HK1* augmentaient l'HbA_{1c} via leurs effets anémiques, ce qui peut avoir des implications importantes dans le diagnostic du DT2. Au regard de la fonction clé de *HK1* dans le métabolisme cellulaire du glucose, il était assez surprenant que des variants communs de *HK1* associés à une augmentation de l'HbA_{1c} ne contribuaient pas à la variabilité d'autres marqueurs du contrôle glycémique, mais en revanche aient un effet pro-anémique. Par conséquent, comme nombre de gènes ont des effets pléiotropes, les GWAS peuvent certes détecter des associations réelles, comme au niveau du locus *HK1*, mais peuvent conduire à des conclusions physiologiques fausses concernant la causalité de ces associations. De façon systématique, il faudrait donc que les données issues de GWAS soient analysées simultanément pour plusieurs traits *a priori* corrélés.

– **Méta-analyse de GWAS de l'HbA_{1c}** : le consortium MAGIC a ensuite réalisé une méta-analyse de GWAS de l'HbA_{1c}, plus puissante que l'étude GWAS initiale du même trait car elle a rassemblé 46 368 participants européens non diabétiques, issus de 31 cohortes. Cette méta-analyse a permis d'identifier 10 loci associés significativement à l'HbA_{1c}, dont seulement trois loci (*GCK*, *MTNR1B*, *G6PC2*) étaient également associés à une augmentation de la glycémie à jeun et/ou du risque de survenue d'un DT2 (*figure 4*) [28]. L'ajout de la glycémie à jeun dans la régression linéaire testant l'effet des SNPs sur l'HbA_{1c} a

nettement diminué la contribution de *GCK*, *MTNR1B* et *G6PC2* à la variabilité de l'HbA_{1c}, ce qui confirme que l'impact de ces loci sur l'HbA_{1c} est avant tout conduit par la voie glucidique.

Ce résultat n'a pas été observé pour les sept autres loci, suggérant une absence de médiation de ces loci par la glycémie ambiante. Cinq de ces sept loci (*HFE*, *TMPRSS6*, *STPA1*, *ANK1* et *HK1*) étaient associés à des traits reliés aux érythrocytes (hémoglobine, volume globulaire moyen, niveau de fer ou concentration en transferrine) [28].

La même étude, munie pourtant d'une très grande puissance statistique concernant l'HbA_{1c}, n'explique que 5 % environ de l'héritabilité de l'HbA_{1c}. Cependant, en utilisant seulement les sept loci non associés à la voie glucidique, la différence de 0,19 % de l'HbA_{1c} observée entre les porteurs de moins de deux allèles à risque et les porteurs de plus de 12 allèles à risque est pertinente d'un point de vue clinique ; elle pose donc la question de l'utilisation de l'HbA_{1c} dans le diagnostic du DT2. En effet, en prenant en compte cette différence (basée sur seulement sept loci, soit moins de 5 % de l'héritabilité de l'HbA_{1c}) à l'échelle de la population générale et en prenant le seuil d'HbA_{1c} ≥ 6,5 % pour diagnostiquer un DT2, environ 2 % de la population auraient un faux diagnostic de DT2.

En conclusion, on savait, d'un point de vue empirique, que la variabilité de l'HbA_{1c} ne dépendait pas seulement de la glycémie ambiante. Ces études génétiques ont permis de mieux quantifier la part d'ombre de ce trait : à la fois dans sa composante génétique, mais également dans sa composante érythrocytaire, indépendante de la glycémie. Cependant, il reste encore beaucoup d'investigations à conduire, car 95 % de la part génétique influençant ce trait restent à être découverts !

GWAS et méta-analyse de GWAS dans l'obésité et les traits associés

En parallèle du DT2, depuis 2007, plusieurs vagues de GWAS et de méta-analyses de GWAS ont permis d'identifier une trentaine de loci/gènes de susceptibilité à l'obésité (*figure 5*). La majorité de ces études portaient sur la variabilité génétique de l'IMC [12]. En effet, les gènes associés à la variance de l'IMC dans la

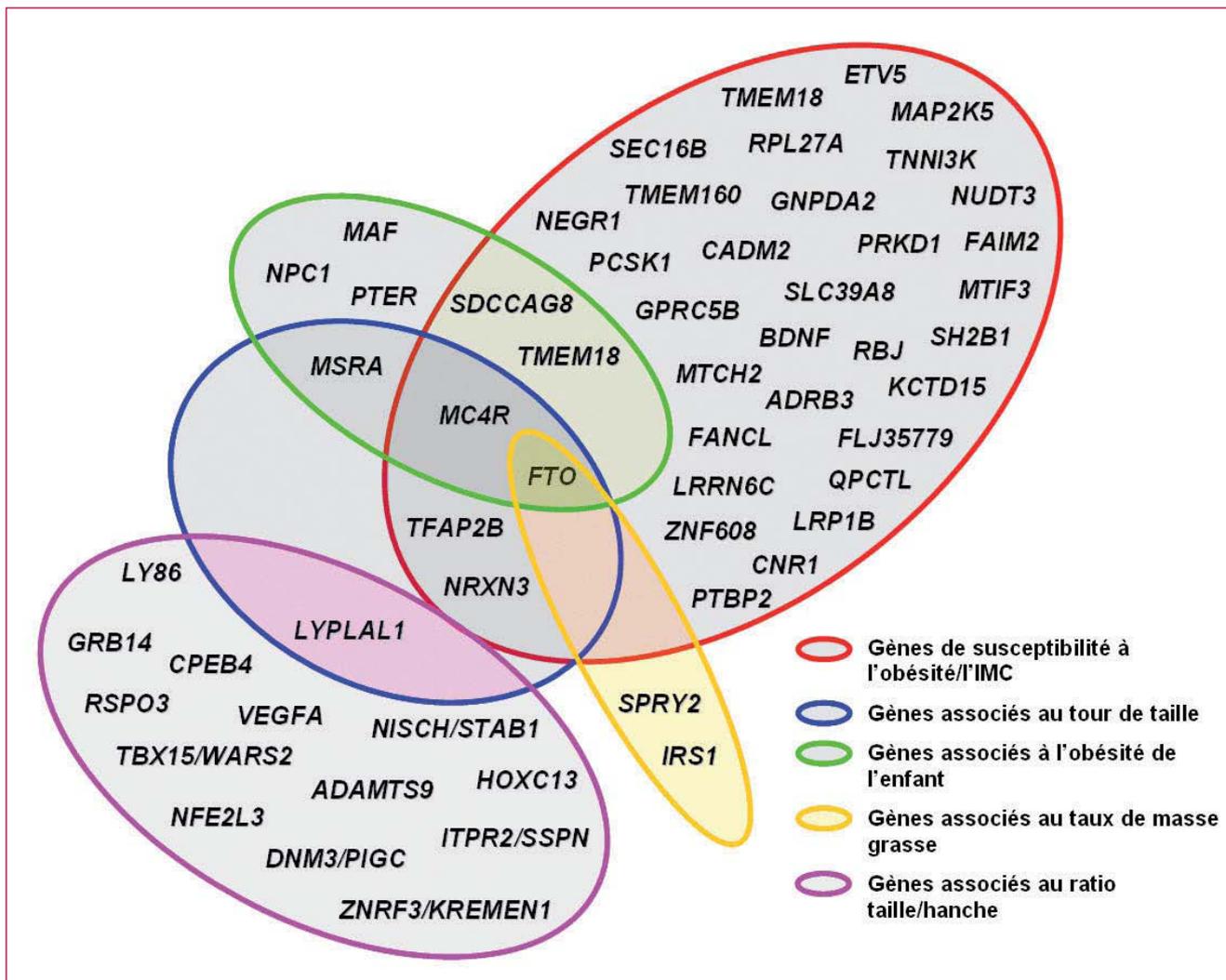


Figure 5 : Gènes de susceptibilité à l'obésité et aux traits associés. IMC : indice de masse corporelle.

population générale augmentent aussi (modestement) le risque d'obésité.

Comme le consortium MAGIC pour la glycémie, le consortium GIANT a analysé d'autres traits quantitatifs reliés à l'obésité, tels que le tour de taille, le taux de masse grasse ou le ratio taille/hanche (figure 5).

Le tour de taille et le ratio taille/hanche sont des phénotypes faciles à obtenir, et sont corrélés à des mesures plus précises de l'adiposité centrale (ou obésité abdominale). Toutefois, il existe une très forte corrélation entre l'IMC et le tour de taille ($r^2 \sim 0,9$) et une corrélation moindre entre l'IMC et le ratio taille/hanche ($r^2 \sim 0,6$) [29]. Ces différences de corré-

lation peuvent être perçues de la même façon dans les différences de chevauchement des gènes expliquant la variabilité de ces traits (figure 5).

Par ailleurs, même si l'IMC représente, de manière générale, un bon indicateur de l'adiposité et du risque d'obésité, il ne peut distinguer le taux de masse maigre du taux de masse grasse (chez les sujets sportifs par exemple, les niveaux d'IMC sont très fortement biaisés). Via le taux de masse grasse corporelle (mesuré par l'analyse de la bio-impédance, ou par la méthode d'absorption biphotonique à rayons X [DEXA]), une mesure plus pertinente de la composition corporelle a pu identifier des gènes

plus directement associés à l'adiposité et, finalement, à l'insulinorésistance, tels que *IRS1* (figure 5 ; voir également *IRS1* sur la figure 4).

D'un point de vue global, il n'existe, au final, qu'un chevauchement partiel entre les loci/gènes associés aux différents paramètres reliés à l'obésité (figure 5), ce qui suggère que les voies métaboliques régulant ces phénotypes sont parfois différentes.

La réanalyse des puces à ADN utilisées dans le GWAS d'obésité réalisé par notre groupe a permis d'identifier une large délétion de plus de 590 000 paires de base au niveau du chromosome 16p11.2, augmentant de 40 fois le risque d'obésité.

Génétique

sité, et présent chez ~ 1 % des individus obèses européens [30]. Ce résultat souligne le fait qu'au-delà de la découverte de variants fréquents de susceptibilité à une maladie commune par les GWAS, les puces à ADN ont également pu mettre en évidence des événements bien plus rares contribuant de manière forte à la survenue de la maladie.

La période post-GWAS

Les études GWAS (ou les méta-analyses de GWAS) du DT2 et de l'obésité ont apporté, pour la première fois, nombre de loci de susceptibilité à ces deux maladies (jamais une technique n'en avait révélé autant, en si peu de temps !), mais tous les SNPs identifiés ont un effet faible sur le risque de survenue d'un DT2 ou d'une obésité (en moyenne, 15 % de risque en plus par allèle mineur). Tant est si bien que les quelques dizaines de loci de susceptibilité au DT2 et à l'obésité rapportés jusqu'à aujourd'hui n'expliquent que 10 % de l'héritabilité de la maladie. Ce qui laisse une grande part d'ombre dans l'étiologie génétique du DT2 et de l'obésité.

Ce constat a été le même pour d'autres maladies polygéniques étudiées par GWAS [19] :

- la maladie de Crohn (32 loci identifiés pour 80 % de part d'ombre) ;
- la dégénérescence maculaire liée à l'âge (cinq loci identifiés pour 50 % de part d'ombre) ;
- le lupus érythémateux systémique (six loci identifiés pour 85 % de part d'ombre) ;
- l'infarctus du myocarde précoce (neuf loci identifiés pour plus de 97 % de part d'ombre)...

L'une des utilisations cliniques des données génétiques les plus attendues est de prédire le risque individuel de développer le DT2 et l'obésité.

- Dans le cas du DT2, plusieurs cohortes prospectives, telles que l'étude de Framingham [31], le projet préventif suédois de Malmö (MPP), ou encore l'étude Botnia, ont été utilisées pour tester l'impact de ces gènes issus des GWAS sur la prédiction de la maladie [32]. Les résultats de ces analyses n'ont, hélas, pas montré d'amélioration franche de la

puissance prédictive en ajoutant le score de risque génétique dans les modèles de risque prédictif incluant divers facteurs biochimiques et cliniques comme l'âge, le sexe, l'histoire familiale de DT2, l'IMC, la glycémie à jeun, la pression artérielle systolique et le profil lipidique. En effet, l'aire sous la courbe passait de 0,74 à 0,75 en ajoutant le score de risque génétique (une aire de 1 incarnant la prédiction parfaite) [32]. Au mieux, l'on arrive à reclassifier une faible fraction de sujets « à risque » qui ne sont pas détectés par les paramètres cliniques classiques.

- Cependant, malgré leurs nombreuses parts d'ombre, les études GWAS (et études de liaison et gène-candidat) ont permis d'avancer dans la compréhension de la physiopathologie du DT2 et de l'obésité. En effet, de façon (peut-être) surprenante, dans les formes de DT2 mono- et polygéniques, la grande majorité des variants/mutations identifié(e)s jusqu'alors, dont les effets fonctionnels (ou la fonction des gènes les portant) sont connus, ont un rôle crucial dans le développement et la fonction de la cellule β -pancréatique (plutôt que dans la sensibilité à l'insuline des tissus périphériques). Ce résultat est d'autant plus inattendu que les cliniciens ont tendance à associer le DT2 à l'insulinorésistance et à l'obésité.

Mais les gènes d'obésité n'ont rien à voir avec ceux associés au DT2 (même si certains gènes d'obésité comme *FTO*

augmentent le risque de DT2 *via* leur effet sur la masse grasse). La plupart des gènes répertoriés dans les obésités mono- et polygéniques sont exprimés dans le cerveau (en particulier l'hypothalamus) et auraient un rôle à jouer dans l'appétit, plutôt que dans l'homéostasie énergétique au niveau même des masses grasses corporelles. Quitte à décevoir les nombreux supporters de la théorie populaire du génotype d'épargne (celui qui aurait été transmis par les résistants des famines subies par nos ancêtres), aucun des gènes découverts par le GWAS ne rentre dans cette catégorie de gènes métaboliques influant les dépenses énergétiques.

Qu'attendre de la génétique du DT2 et de l'obésité dans un futur proche ?

Malgré la déception relative qui a suivi les premières études GWAS, cette approche n'a encore pas dit son dernier mot.

À ce jour, la plupart des études GWAS du DT2 et de l'obésité ont impliqué des populations d'origine européenne. Dans le DT2, certains GWAS ont été publiés dans des populations japonaises, mais aucune étude n'a encore pris une grande ampleur. Par exemple, jusqu'à présent, les populations du Golfe, qui montrent la plus grande prévalence de DT2 de par le monde, n'ont jamais été étudiées par GWAS.

Les points essentiels

- Malgré un grand impact de l'environnement, le diabète de type 2 (DT2) et l'obésité ont une forte composante génétique.
- Les études d'association pangénomique (*genome-wide association studies*, GWAS) ont permis d'identifier une centaine de gènes augmentant modestement le risque de DT2 ou d'obésité (*via* des variants de l'ADN fréquemment présents dans les diverses populations humaines), mais une grande part d'ombre demeure, empêchant encore toute prédiction génétique fiable.
- Pour l'heure, la majorité des gènes connus associés au DT2 ont un impact sur la fonction des cellules β -pancréatiques, alors que les gènes associés à l'obésité auraient plutôt un rôle central au niveau du cerveau (et plus particulièrement l'hypothalamus) où ils réguleraient l'appétit.
- Les nouvelles approches de séquençage haut débit offrent de belles perspectives dans la recherche de variants rares à effets plus forts dans les survenues du DT2 et de l'obésité, ouvrant la voie à une médecine plus personnalisée des maladies métaboliques.

Par ailleurs, il serait intéressant de réaliser des GWAS qui impliqueraient des études de cohortes suivies prospectivement, qui peuvent amener beaucoup plus de puissance statistique, car ces études permettent une accumulation de points de mesure des traits étudiés, tout en gardant une homogénéité dans les méthodes de mesure de ces traits et sans variation de la structure génétique de la population (homogénéité parfaite de population). En outre, toutes les méta-analyses de GWAS ont été réalisées selon un modèle additif. Il serait intéressant d'analyser les mêmes données selon tous les autres modèles d'héritabilité. Également, examiner les études d'interactions non additives entre gènes et/ou entre gènes et environnement pourrait conduire à l'identification de nouvelles voies de signalisation contribuant à augmenter le risque de DT2 ou d'obésité. Cette approche peut impliquer, là encore, des études de cohortes suivies prospectivement chez lesquelles les changements environnementaux, tels que l'exposition à une situation à risque (par exemple : arrêt du tabac, grossesse, dépression, altération de la croissance fœtale...) peuvent être enregistrés.

Les déterminants génétiques impliqués dans le contrôle épigénétique et pouvant augmenter les risques de DT2 et d'obésité ont, pour l'heure, été très peu étudiés. Il est pourtant établi que les niveaux de méthylation sont plus ressemblants chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes, ce qui suggère que des variants génétiques pourraient contrôler les niveaux de méthylation, en plus des facteurs environnementaux. *Via* des puces de méthylation, il est aujourd'hui possible, et aisé, d'établir le profil de méthylation d'un tissu chez un sujet

donné. En croisant ces profils de méthylation avec des profils d'expression (*via* des puces à ADN) dans les mêmes tissus issus de cas et de témoins (notamment les tissus insulino-sensibles, comme le foie, le muscle et le tissu adipeux), il semble désormais possible de disséquer la part génétique impliquée dans les événements épigénétiques présents dans le DT2 et l'obésité.

Enfin, qu'en est-il de l'impact des variants rares dans le DT2 et l'obésité, aspect qui a été mis de côté pendant des années (faute de technologie haut débit) ? Récemment, il avait été émis l'hypothèse qu'un SNP fréquent, contribuant de manière significative à une maladie ou à la variabilité d'un trait, ne serait que l'image déformée, ou le porte-drapeau, d'un grand nombre de mutations rares en fort LD avec ce SNP (D' élevé, r^2 faible) et à effets beaucoup plus forts. Cette hypothèse attractive a été confirmée au moins deux fois dans la littérature, au niveau de gène de susceptibilité au diabète de type 1 et à l'hypertriglycéridémie [33, 34]. Dans notre laboratoire, nous avons également identifié l'existence de variants rares, non synonymes et à effet fonctionnel très fort, dans les gènes de susceptibilité au DT2 (*MTNR1B*) et à l'obésité (*PCSK1* et *GPR120*), *via* des séquençages ciblés suivis de génotypage à grande échelle des variants identifiés putativement intéressants (par exemple, des variants codants non synonymes) et d'expérimentations fonctionnelles (données personnelles, en cours de publication).

Les nouvelles approches de séquençage haut débit (génomique ou exome entier) apportent nombre de pistes expérimentales en vue d'étudier l'impact des variants rares dans la survenue du DT2

ou de l'obésité (liés ou non aux SNPs fréquents d'ores et déjà répertoriés par les GWAS). Dans les maladies monogéniques, le séquençage de l'exome entier a déjà élucidé la cause génétique de nombre de syndromes, tels que les syndromes de Miller, de Bartter, ou de Freeman-Sheldon, et il a entrouvert de belles perspectives dans le diagnostic moléculaire de maladies monogéniques à étiologie génétique très hétérogène, telles que le diabète néonatal [35]. Dans les maladies polygéniques, tout le challenge se situe dans le fait que ces nouvelles technologies identifient un nombre considérable de mutations (dont la plupart sont rares, voire très rares, dans la population étudiée). Le retour en force des études familiales est probable, car le séquençage de l'exome entier de sujets sains dans ces familles engendrerait la possibilité de filtrage des mutations non causales.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs ont déclaré n'avoir aucun conflit d'intérêt en lien avec cet article.

Références

- [1] International diabetes federation. www.diabetesatlas.org/.
- [2] World health organization. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/.
- [3] Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 2005;365:1333-46.
- [4] Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, Beck-Nielsen H. Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance-a population-based twin study. *Diabetologia* 1999;42:139-45.
- [5] Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981;20:87-93.
- [6] Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, et al. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996;20:501-6.
- [7] Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE. The body-mass index of twins who have been reared apart. *N Engl J Med* 1990;322:1483-7.
- [8] Walley AJ, Asher JE, Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nat Rev Genet* 2009;10:431-42.
- [9] Bonnefond A, Froguel P, Vaxillaire M. The emerging genetics of type 2 diabetes. *Trends Mol Med* 2010;16:407-16.
- [10] Poitou C, Dubern B, Clément K. Génétique des obésités monogéniques. *Médecine des maladies Métaboliques* 2011;5:492-6

Conclusion

Quoi qu'il en soit, les nouvelles techniques de séquençage du génome, de l'exome entier ou de zone plus ciblée mais large, entrouvrent de fabuleuses perspectives de recherches à venir. Le but étant toujours d'identifier de nouvelles étiologies génétiques entraînant des formes mono- et polygéniques de DT2 et d'obésité, afin, d'une part, de mieux connaître les mécanismes physiopathologiques « primaires » de ces deux maladies, mais, également, dans l'espoir d'identifier de meilleures cibles thérapeutiques pour soigner les personnes malades... et, pourquoi pas, d'établir, *in fine*, une médecine personnalisée.

Génétique

- [11] McCarthy MI. Dorothy Hodgkin Lecture 2010. From hype to hope? A journey through the genetics of type 2 diabetes. *Diabet Med* 2011;28:132-40.
- [12] Vimalaswaran KS, Loos RJ. Progress in the genetics of common obesity and type 2 diabetes. *Expert Rev Mol Med* 2010;12:e7.
- [13] Clément K, Vaisse C, Manning BS, et al. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med* 1995;333:352-4.
- [14] Benzinou M, Creemers JW, Choquet H, et al. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet* 2008;40:943-5.
- [15] 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;17:1916-21.
- [16] Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2008;29:254-64.
- [17] Kruglyak L. The road to genome-wide association studies. *Nat Rev Genet* 2008;9:314-8.
- [18] Frazer KA, Murray SS, Schork NJ, Topol EJ. Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nat Rev Genet* 2009;10:241-51.
- [19] Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009;461:747-53.
- [20] www.genome.gov/26525384
- [21] Bouatia-Naji N, Rocheleau G, Van Lommel L, et al. A polymorphism within the G6PC2 gene is associated with fasting plasma glucose levels. *Science* 2008;320:1085-8.
- [22] Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2010;42:105-16 [Erratum in: *Nat Genet* 2010;42:464].
- [23] Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet* 2010;42:579-89 [Erratum in: *Nat Genet* 2011;43:388].
- [24] Saxena R, Hivert MF, Langenberg C, et al. Genetic variation in GIPR influences the glucose and insulin responses to an oral glucose challenge. *Nat Genet* 2010;42:142-8.
- [25] Paré G, Chasman DI, Parker AN, et al. Novel association of HK1 with glycated hemoglobin in a non-diabetic population: a genome-wide evaluation of 14,618 participants in the Women's Genome Health Study. *PLoS Genet* 2008;4:e1000312.
- [26] Bonnefond A, Vaxillaire M, Labrune Y, et al. Genetic variant in HK1 is associated with a proaemic state and A1C but not other glycemic control-related traits. *Diabetes* 2009;58:2687-97.
- [27] Ganesh SK, Zakai NA, van Rooij FJ, et al. Multiple loci influence erythrocyte phenotypes in the CHARGE Consortium. *Nat Genet* 2009;41:1191-8.
- [28] Soranzo N, Sanna S, Wheeler E, et al. Common variants at 10 genomic loci influence hemoglobin A_{1c} levels via glycemic and nonglycemic pathways. *Diabetes* 2010;59:3229-39.
- [29] Lindgren CM, Heid IM, Randall JC, et al. Genome-wide association scan meta-analysis identifies three Loci influencing adiposity and fat distribution. *PLoS Genet* 2009;5:e1000508 [Erratum in: *PLoS Genet* 2009;5(7)].
- [30] Walters RG, Jacquemont S, Valsesia A, et al. A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature* 2010;463:671-5.
- [31] Meigs JB, Shrader P, Sullivan LM, et al. Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:2208-19 [Erratum in: *N Engl J Med* 2009;360:548].
- [32] Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:2220-32.
- [33] Nejentsev S, Walker N, Riches D, et al. Rare variants of IFIH1, a gene implicated in antiviral responses, protect against type 1 diabetes. *Science* 2009;324:387-9.
- [34] Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, et al. Excess of rare variants in genes identified by genome-wide association study of hypertriglyceridemia. *Nat Genet* 2010;42:684-7.
- [35] Bonnefond A, Durand E, Sand O, et al. Molecular diagnosis of neonatal diabetes mellitus using next-generation sequencing of the whole exome. *PLoS One* 2010;5:e13630.