



## Examination of the Predicted Prevalence of Gitelman Syndrome by Ethnicity Based on Genome Databases

近藤, 淳

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2022-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8292号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1008292>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



## 学位論文の内容要旨

(課程博士関係)

### 学位論文の内容要旨

#### Examination of the Predicted Prevalence of Gitelman Syndrome by Ethnicity Based on Genome Databases

ゲノムデータベースに基づく民族による Gitelman 症候群の推定有病率の検討

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

内科系講座小児科学分野  
(指導教員: 野津寛大教授)

近藤 淳

#### 【研究背景】

Gitelman 症候群は *SLC12A3* 遺伝子異常による常染色体劣性の遺伝性塩喪失性尿細管障害であり、低カリウム血症や低マグネシウム血症、代謝性アルカローシスなどをきたす。臨床症状として易疲労感や筋力低下、夜尿、塩分嗜好などを呈するが特異的な症状はなく、疑って血液検査を行わなければ診断は困難である。これまで保因者頻度は 1%、有病率は約 4 万人に 1 人といわれていたが、実際には未診断の患者が多数いることが予想され、表現型に基づいた正確な有病率算出は不可能である。日本や中国などの東アジア人では保因者頻度が既報よりも高い可能性が報告されている。生命予後は良好とされているが、その非特異的な症状により QOL 低下をきたすことが報告されている。さらに、腎外合併症として低身長や甲状腺機能異常症、てんかんなどを呈するほか、稀ではあるが致死的不整脈も合併しうる。

以上から、Gitelman 症候群は予後良好な疾患とは言い切れず、適切に診断や治療を受けられず苦しんでいる患者が多く存在する可能性があると考えられた。そこで今回我々は、ゲノムデータベースの情報をもとに、より正確な Gitelman 症候群の保因者頻度と有病率を推算するため検討を行った。また、本研究結果の正確性を検討するため、神戸大学医学部附属病院の外来にて血清カ

リウム値を含む血液検査を施行された患者を対象として、低カリウム血症の有病率に関する電子診療録を用いた後方視的研究を行った。

#### 【方法】

まず、HGMD Professional に病原性として登録された *SLC12A3* 遺伝子の全てのミスセンス変異とナンセンス変異（247 変異）を対象とした。次に、複数の遺伝子データベース（HGVD、jMorp、gnomAD）に基づいて日本人およびその他の民族（非フィン系ヨーロッパ人、フィン系ヨーロッパ人、アシュケナージ系ユダヤ人、南アジア人、日本人を含む東アジア人、アフリカ人、ラテン人、その他）の健常人における上記の各変異のアレル頻度を検索したところ、日本人では HGVD で 16 変異、jMorp で 20 変異、その他の民族では 140 変異が登録されていた。それらの変異アレル頻度の民族ごとの総和を各民族の総アレル頻度 ( $q$ ) とし、正常アレル頻度を  $p$  とした ( $p+q=1$ )。Hardy-Weinberg の法則が成立すると仮定して、保因者頻度は各人が *SLC12A3* 遺伝子を 2 コピー保持していることから  $2q$  と近似し、有病率は常染色体劣性遺伝性疾患であるためご両親が保因者で有る場合 4 分の 1 の確率で発症するというメンデルの法則より、 $2q \times 2q / 4 = q^2$  としてそれぞれ推算した。

また、日本人においてアレル頻度が 0.001 以上であった 9 変異については、その変異が病原性でなかった場合に結果に及ぼす影響が特に強くなるため、そ

の病原性の有無を明らかにするため以下のような検討を行った。複数の *In silico* 解析（SIFT、PolyPhen-2、MutationTaster）および、我々が有するコホートのうち各変異を有する症例の情報を基にした分離解析、さらに、これらの情報を加えて ACMG/AMP ガイドライン（2015）に沿って病原性の有無について検討を行った。

さらに、本研究結果の正確性を検討するために追加研究を行った。神戸大学医学部附属病院の外来にて、2010 年 1 月 1 日から 2020 年 12 月 31 日の 10 年間に、血清カリウム値を含む血液検査を施行された 16～30 歳の患者（14,335 人）を対象とした。電子診療録を用いて後方視的に症例情報の収集を行い、低カリウム血症（血清カリウム値  $\leq 3.1\text{mEq/L}$ ）を呈した患者の有病率を求めた。なお、低カリウム血症患者のうち、薬剤性や Gitelman 症候群以外の原疾患を有するなど、病態が明らかな症例は除外した。

#### 【結果】

推定保因者頻度は日本人で約 9.1%、日本人を含む東アジア人で約 5.8%、その他の民族で 0.7～2.8% であった。1,000 人当たりの推定有病率は日本人で約 2.1 人、日本人を含む東アジア人で約 0.8 人、その他の民族で 0.012～0.19 人であった。

また、日本人においてアレル頻度が 0.001 以上であった 9 変異について、

ACMG/AMP ガイドライン沿ってその病原性に関する検討を行ったところ、3 変異については“Uncertain significance”、6 変異については“Likely pathogenic”と判断された。前者の 3 変異を除外した上で有病率を再度推算したところ、日本人における 1,000 人当たりの推定有病率は約 1.7 人であった。

さらに、当院外来患者を対象とした電子診療録を用いた後方視的データ解析研究の結果、低カリウム血症を認めた患者は 143 人であった。そのうち、Gitelman 症候群以外に明らかな原因のない患者は 13 人であり、その有病率は 1,000 人当たり約 0.9 人であった。

#### 【考察】

本研究は、複数のデータベースを用いて、民族ごとに Gitelman 症候群の保因者頻度および有病率を推算した初めての研究である。本研究の結果、Gitelman 症候群の推定有病率は多くの民族で既報と比較して高く、特に日本人では 1000 人あたりに約 1.7 人と高率であった。

追加研究として我々が行った後方視的研究において、血清カリウム値 3.1mEq/L 以下の低カリウム血症患者の有病率は本研究で得られた推定有病率よりも低かった。これは、今回の後方視的研究では、解析対象や交絡因子が多くなりすぎることを防ぐため、年齢制限や低カリウム血症の閾値を一般的な 3.5mEq/L 以下に比して低く設定したことに起因すると考えられる。そのた

め、条件を広げれば低カリウム血症の有病率は高くなることが予想され、本研究の推算結果と矛盾はしないと判断した。

多くの民族で既報よりも Gitelman 症候群の推定保因者頻度や推定有病率が高かった理由としては、Gitelman 症候群の症状は多くの場合で致死的ではなく、発生にも影響を与えないことから、保因者だけでなく患者も子孫を残すことが可能であり遺伝子変異が保存されやすいためと考えられる。さらに、特に日本人で推定保因者頻度が高かった理由としては、日本は島国であるという地理的要因から、孤立した地域へ保因者が移動したことによる創始者効果がやすいと考えられる。実際に、日本人の 1%以上が保有している変異のうちいくつかは他民族ではほとんど検出されず、これらの変異の高いアレル頻度は創始者効果による可能性がある。

本研究の Limitation として、まず、使用した推算式は常染色体劣性遺伝として単純化したため de novo 変異を考慮していない。しかし、既報において *SLC12A3* 遺伝子の de novo 変異はほとんど認めないことが報告されており、統計学的に無視できると判断した。次に、対象をエクソン内のミスセンスとナントセンス変異に限定したため、他の Hot spot 変異を考慮していない。臨床的に Gitelman 症候群が強く疑われる患者においても 15%～20%では 1 つのヘテロ接合性変異のみしか検出されず、未知の Hotspot 変異が存在する可能性が示唆

されている。しかし、この点を考慮しても、推定有病率は今回の結果より高くなる可能性が高いと考えている。

#### 【結論】

Gitelman 症候群の推定有病率は多くの民族で既報と比較して高く、特に日本人では 1000 人あたりに約 1.7 人と高率であった。Gitelman 症候群は必ずしも軽症で予後良好な疾患ではなく、患者の QOL 低下や、まれではあるが致死的腎外合併症を呈する場合があり、本研究の結果から、適切に診断や治療を行わねば苦しんでいる患者が多く存在している可能性が示唆された。Gitelman 症候群の有病率を正確に認識することは早期検査と診断に有用であり、より正確な遺伝学的検査が施行され、データが蓄積されることが望まれる。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3143 号	氏名	近藤 淳
論文題目 Title of Dissertation	Examination of the Predicted Prevalence of Gitelman Syndrome by Ethnicity Based on Genome Databases ゲノムデータベースに基づく民族による Gitelman 症候群の推定有病率の検討		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner 久保 亮治 副査 Vice-examiner 西慎一 副査 Vice-examiner 小川 透		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

**【研究背景/目的】** Gitelman 症候群は *SLC12A3* 遺伝子異常による常染色体劣性の遺伝性塩喪失性尿細管障害であり、低カリウム血症や低マグネシウム血症、代謝性アルカローシスなどをきたす。臨床症状として易疲労感や筋力低下、夜尿、塩分嗜好などを呈するが特異的な症状ではなく、疑って血液検査を行わなければ診断は困難である。また、その非特異的な症状により QOL 低下をきたすことが報告されている。さらに、低身長や甲状腺機能異常症などの腎外合併症をきたすほか、稀ではあるが致死的不整脈を合併しうる。これまで保因者頻度は 1%、有病率は約 4 万人に 1 人といわれるが、正確な有病率は不明であり、東アジア人では保因者頻度が既報よりも高い可能性が報告されている。以上から、Gitelman 症候群は予後良好な疾患とは言い切れず、適切に診断や治療を受けられず苦しんでいる患者が多く存在する可能性があると考えられた。そこで今回申請者らは、ゲノムデータベースの情報をもとに、より正確な Gitelman 症候群の保因者頻度と有病率を推算するため検討を行った。

**【方法】** まず、HGMD Professional に病原性として登録された *SLC12A3* 遺伝子の全てのミスセンス変異とナンセンス変異（247 変異）を対象とした。次に、複数の遺伝子データベース（HGVD、jMorp、gnomAD）に基づいて日本人および他の民族（非フィン系ヨーロッパ人、フィン系ヨーロッパ人、アシュケナージ系ユダヤ人、南アジア人、日本人を含む東アジア人、アフリカ人、ラテン人、その他）の健常人における上記の各変異のアレル頻度を検索したところ、日本人では HGVD で 16 変異、jMorp で 20 変異、その他の民族では 140 変異が登録されていた。それらの変異アレル頻度の民族ごとの総和を各民族の総アレル頻度 ( $q$ ) とし、正常アレル頻度を  $p$  とした ( $p+q=1$ )。Hardy-Weinberg の法則が成立すると仮定して、保因者頻度は各人が *SLC12A3* 遺伝子を 2 コピー保持していることから  $2q$  と近似し、有病率は常染色体劣性遺伝性疾患であるためご両親が保因者で有る場合 4 分の 1 の確率で発症するというメンデルの法則より、 $2q \times 2q / 4 = q^2$  としてそれぞれ推算した。また、日本人においてアレル頻度が 0.001 以上であった 9 変異については、その変異が病原性でなかった場合に結果に及ぼす影響が特に大きいため、その病原性の有無を明らかにするため以下の検討を行った。複数の *In silico* 解析（SIFT、PolyPhen-2、MutationTaster）、および、申請者らが有するコホートのうち各変異を有する症例の情報を基にした分離解析を行い、これらの情報を加えて ACMG/AMP ガイドライン（2015）に沿って病原性の有無について検討した。さらに、本研究結果の正確性を検討するため、神戸大学医学部附属病院の外来にて 2010 年 1 月 1 日から 2020 年 12 月 31 日の 10 年間に、血清カリウム値を含む血液検査を施行された 16～30 歳の患者（14,335 人）を対象とした追加研究を行った。電子診療録を用いて後方視的に症例情報の収集を行い、低カリウム血症（血清カリウム値  $\leq 3.1\text{mEq/L}$ ）を呈した患者の有病率を求めた。なお、低カリウム血症患者のうち、薬剤性や Gitelman 症候群以外の原疾患を有するなど、病態が明らかな症例は除外した。

**【結果】** 推定保因者頻度は日本人で約 9.1%、日本人を含む東アジア人で約 5.8%、その他の民族で 0.7～2.8% であった。1,000 人当たりの推定有病率は日本人で約 2.1 人、日本人を含む東アジア人で約 0.8 人、その他の民族で 0.012～0.19 人であった。また、日本人においてアレル頻度が 0.001 以上であった 9 変異について、ACMG/AMP ガイドライン沿ってその病原性に関する検討を行ったところ、3 変異については“Uncertain significance”、6 変異については“Likely pathogenic”と判断された。前者の 3 変異を除外した上で有病率を再度推算したところ、日本人における 1,000 人当たりの推定有病率は約 1.7 人であった。さらに、当院外来患者を対象とした電子診療録を用いた後方視的データ解析研究の結果、低カリウム血症を認めた患者は 143 人であった。そのうち、Gitelman 症候群以外に明らかな原因のない患者は 13 人であり、その有病率は 1,000 人当たり約 0.9 人であった。

本研究は、Gitelman 症候群の原因となりうる遺伝学的多型の日本人集団の中でのアレル頻度について研究したものであり、日本における Gitelman 症候群の推定有病率を推算し、今後の疾患スクリーニングや治療戦略について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。