CYP11B1/B2 キメラ遺伝子を確認した 家族性アルドステロン症小児例

岡山大学病院 総合内科・総合診療科¹⁾ 同 小児科²⁾ 同 医療教育センター³⁾ 同 臨床遺伝子診療科⁴⁾

中野 靖浩¹⁾ 岩田菜穂子¹⁾ 長谷川高誠²⁾ 越智可奈子³⁾ 山本紘一郎¹⁾ 高瀬 了輔¹⁾
長谷川 功¹⁾ 堀口 繁¹⁾ 山本 英喜⁴⁾ 平沢 晃⁴⁾ 大塚 文男¹⁾

まえがき

高血圧の原因として知られる原発性アルドステロン症(primary aldosteronism: PA)には、家族性を呈する病型がある。家族性アルドステロン症1型であるグルココルチコイド反応性アルドステロン症(glucocorticoid remediable aldosteronism: GRA)は、11 β 水酸化酵素をコードする CYP11B1 遺伝子と、アルドステロン合成酵素(aldosterone synthase: AS)をコードする CYP11B2 遺伝子が不均等交叉し、CYP11B1/CYP11B2 キメラ遺伝子を形成することで発症する(図1)。ACTH 刺激によりアルドステロン分泌が増加するようになるため、グルココルチコイド投与によりアルドステロン分泌が抑制されるという特徴を持つ。常染色体優性遺伝の形式をとり、世界では PA の約 0.7% を占めるが¹⁾、日本では 2 家系 5 例しか報告されていない極めてまれな疾患である^{2)–4)}。

我々は以前、日本人 1 家系 3 例の GRA を報告した²⁾。その発端者が、約 20 年後に 2 人の男児を出産し、このたび男児 2 人に対して遺伝子診断を行い、キメラ遺伝子の交叉部位を同定したため報告する。

図1. CYP11B1 遺伝子と CYP11B2 遺伝子の不均等交叉

1. 症 例

本症例の経過を示すにあたり、まずは以前の報告を引用する²⁾。発端者である女性は 21 歳時に健診で高血圧を指摘され、母親と妹も高血圧であることが判明し家族性の高血圧を疑われた。発端者と妹を精査すると、血清 K は正常下限、血漿レニン活性(plasma renin activity: PRA)低値、血漿アルドステロン濃度(plasma aldosterone concentration: PAC)高値に加え、内因性の ACTH に連動した PAC の日内変動、外因性の ACTH 投与による PAC の上昇、デキサメタゾン投与による PAC の抑制

が確認された。GRA を疑い遺伝子検査を行うと、発端者・妹・母親の 3 人において CYP11B1/CYP11B2 キメラ遺伝子が確認されたため、GRA と診断した。

その後、発端者はデキサメタゾンやカルシウム拮抗薬で治療を受け、約 20 年後、妊娠中はヒドララジンを使用することで、無事に男児 2 人を出産した(図2)。数年後、当科へ発端者から両児に対する遺伝子検査の希望があり、当院の臨床遺伝子診療科において遺伝カウンセリングを行った後、遺伝子検査を行う方針とした。

図2. 家系図

両児は 5 歳と 3 歳の男児で、2 人とも周産期や発達に異常はなく、血圧は正常～やや高値(122/65mmHg、91/74mmHg)を認めるときがあり、血清 K は正常(4.1mEq/L、4.3mEq/L)、PAC 高値(348pg/mL、367pg/mL)、PRA 低値(0.1ng/mL/h、0.3ng/mL/h)であった。GRA 遺伝子検査は一般的に行われていないため、当科実験室において原因遺伝子の検出を試みた。CYP11B1/CYP11B2 キメラ遺伝子は約 4kb と長く、かつ CYP11B1 遺伝子と CYP11B2 遺伝子は 95% と極めて高い相同性を持つ。ポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction: PCR)のプライマーや温度設定を試行錯誤した結果、最終的にタッチダウン法を用いて long PCR を行い、発端者である母親と同様に児 2 人においてもキメラ遺伝子が検出され、GRA の保因者であることが判明した(図3)。

さらに、キメラ遺伝子の交叉部位についても検討した。PCR で検出したバンドのゲルから DNA を抽出し、CYP11B1 遺伝子の配列に基づいて作成したプライマーを用いてダイレクトシーケンス法による遺伝子配

列の解析を行った。その結果、児 2 人のキメラ遺伝子は母親と同一シーケンスであることが判明した。また、各プライマー間でキメラ遺伝子と CYP11B1 遺伝子、CYP11B2 遺伝子との相同性を調べると、プライマー E とプライマー F 間で相同性が逆転していることから、交叉部位はエクソン 3 とイントロン 5 間であると特定した(図 4)。

図 3. long PCR による CYP11B1/CYP11B2 キメラ遺伝子の検出

図 4. ダイレクトシーケンス法による遺伝子配列の決定と CYP11B1/CYP11B2 キメラ遺伝子の交叉部位の特定

2. 考 察

GRA は、CYP11B1 遺伝子と CYP11B2 遺伝子の不均等交叉により引き起こされる。CYP11B1 の 5' 側にある ACTH 応答性プロモーター領域と、CYP11B2 の 3' 側にある AS のコード領域が融合することで、ACTH 依存性のアルドステロン産生が起こる⁵⁾。これまでの報告によると、遺伝子交叉の部位はイントロン 2 からイントロン 5 までの領域で見つかり、すべての症例で CYP11B2 のエクソン 5 よりも上流で遺伝子交叉がみられるため、エクソン 5 が AS の機能に必須であると考えられている^{6), 7)}。本症例においても、交叉部位はエクソン 5 よりも上流であった。

臨床的には、GRA 患者は幼少期から高血圧を発症し、若年で脳血管障害を高率に発症するため、早期診断と早期治療が重要である。保因者のうち約 80% は 18 歳までに高血圧を発症し、うち約 60% は中等度～高度の高血圧を呈する⁸⁾。GRA を疑うきっかけは、PA 患者において、PA または若年脳卒中の家族歴、あるいは 20 歳未満の発症のいずれかを満たす場合にスクリーニング対象となる⁹⁾。デキサメタゾン抑制試験では、副腎腺腫や過形成においてもアルドステロン分泌が抑制されることがあるため、キメラ遺伝子を特定することが必要である¹⁰⁾。また、GRA におけるアルドステロン産生は球状層ではなく網状層で起こるため、本来網状層で産生されるコルチゾールが AS による代謝を受け、ハイブリッドステロイドである 18-ヒドロキシコルチゾールと 18-オキシコルチゾールが産生される。これらの測定も診断に有用である。治療は、グルココルチコイドの投与である。半減期の長いデキサメタゾンを、特に早朝の ACTH ピークを抑制するため就寝時に服用する⁹⁾。過剰投与は医原性クッシング症候群や小児の成長障害を惹起するため⁷⁾、年齢性別に応じた血圧や血清 K 正常化を目標とし¹¹⁾、また PRA や PAC も参考に最低用量となるように調整する⁸⁾。効果不十分であれば、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の追加が推奨されている⁹⁾。塩分制限の併用も重要である¹²⁾。合併症である脳血管障害は約 14% の患者に平均 32 歳で発症するため、思春期からの定期的な脳動脈瘤スクリーニングを推奨する報告もある¹³⁾。

本症例において両児とも、高血圧は明らかではなかったが、低レニン・高アルドステロン症を伴っていた。治療導入のタイミングの決定は困難であるが、遺伝子検査で GRA と診断することで、慎重なフォローアップから早期治療が可能となる。今後、血圧が上昇してくる場合には、塩分制限に加え、内分泌学的検査を行った後にグルココルチコイドやミネラルコルチコイド受容体拮抗薬による治療を検討する予定である。

結 語

本邦では極めてまれな GRA について、遺伝カウンセリング後、独自の遺伝子検査を行うことで、キメラ遺伝子とその交叉部位を特定することができた。GRA は脳卒中リスクが高いため、高血圧をまだ発症していない小児においても早期から遺伝子診断し、小児期からの慎重なフォローアップと成人期へのトランジションが重要となる。

本学会での発表内容は、Hypertens Res. 2021. (doi: 10.1038/s41440-021-00633-1)に掲載された¹⁴⁾。

文 献

- 1) Mulatero P, Tizzani D, Viola A, Bertello C, Monticone S, Mengozzi G, Schiavone D, Williams TA, Einaudi S, Grotta AL, Rabbia F, Veglio F. Prevalence and characteristics of familial hyperaldosteronism: the PATOGEN study (Primary Aldosteronism in TORino-GENetic forms). *Hypertension*. 2011; 58: 797-803.
- 2) Yokota K, Ogura T, Kishida M, Suzuki J, Otsuka F, Mimura Y, Oishi T, Hirata M, Tobe K, Makino H. Japanese family with glucocorticoid-remediable aldosteronism diagnosed by long-polymerase chain reaction. *Hypertens Res*. 2001; 24: 589-94.
- 3) 大塚文男, 小倉俊郎, 榎野博史, グルココルチコイド反応性アルドステロン症, 内分泌・糖尿病科, 2004; 19: 198-204.
- 4) 上牧務, 佐藤清二, 安蔵慎, 室谷浩二, 菅谷憲夫, 本間桂子, 千葉仁志, 松尾宣武, キメラ遺伝子が証明されたグルココルチコイド反応性アルドステロン症の母子例, 日本先天代謝異常学会雑誌, 1995; 11: 110.
- 5) Halperin F, Dluhy RG. Glucocorticoid-remediable aldosteronism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011; 40: 333-41.
- 6) MacConnachie AA, Kelly KF, McNamara A, Loughlin S, Gates LJ, Inglis GC, Jamieson A, Connell JM, Haites NE. Rapid diagnosis and identification of cross-over sites in patients with glucocorticoid remediable aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 4328-31.
- 7) Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, Rich GM, Gutkin M, Fallo F, Gill JR Jr, Feld L, Ganguly A, Laidlaw JC. Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase. *Nat Genet*. 1992; 2: 66-74.
- 8) Dluhy RG, Anderson B, Harlin B, Ingelfinger J, Lifton R. Glucocorticoid-remediable aldosteronism is associated with severe hypertension in early childhood. *J Pediatr*. 2001; 138: 715-20.
- 9) Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, Shibata H, Stowasser M, Young WF Jr. The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 1889-916.
- 10) Mulatero P, Veglio F, Pilon C, Rabbia F, Zocchi C, Limone P, Boscaro M, Sonino N, Fallo F. Diagnosis of glucocorticoid-remediable aldosteronism in primary aldosteronism: aldosterone response to dexamethasone and long polymerase chain reaction for chimeric gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 2573-5.
- 11) Stowasser M, Gordon RD. Familial hyperaldosteronism. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011; 78: 215-29.
- 12) Dluhy RG, Lifton RP. Glucocorticoid-remediable aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84: 4341-4.
- 13) Litchfield WR, Anderson BF, Weiss RJ, Lifton RP, Dluhy RG. Intracranial aneurysm and hemorrhagic stroke in glucocorticoid-remediable aldosteronism. *Hypertension*. 1998; 31: 445-50.
- 14) Nakano Y, Iwata N, Ogura-Ochi K, Hasegawa K, Hirasawa A, Otsuka F. Preclinical diagnosis and identification of the chimeric CYP11B1/CYP11B2 gene in two pediatric cases of a Japanese family with glucocorticoid-remediable aldosteronism. *Hypertens Res*. 2021. doi: 10.1038/s41440-021-00633-1.