

· 论著 · 罕见病 ·

Gitelman综合症伴高尿酸血症患者的全外显子组测序分析*

王腊梅* 冯益宇 童薇 邱国萍 晏慧民 廖淼淼

九江市第一人民医院肾内科(江西九江 332000)

【摘要】目的 低钾血症是一种常见的电解质失衡，包括肾脏和非肾脏钾丢失。Gitelman综合征(GS)是一种罕见的常染色体隐性遗传性肾脏病，由SLC12A3基因突变引起，临床主要表现为低钾血症。高尿酸血症(HUA)是因血清尿酸升高引起的代谢性疾病，由尿酸产生增加或排泄减少引起，遗传易感性在HUA中起着重要作用。GS伴HUA的发病机制尚不完全清楚。本研究旨在利用全外显子组测序(WES)和生物信息学分析探讨1例临床表现为低钾血症高度疑似GS伴HUA病例的遗传基础，并探讨WES在该类遗传性肾脏病中的应用。方法 从一名34岁男性患者及其父母收集临床数据和外周血样本。提取DNA并进行WES，随后进行生物信息学分析预测及鉴定变异的致病性。采用Sanger测序验证父母DNA中的突变。采用二代测序对常见尿酸易感基因筛查验证。结果 患者的临床表现和实验室检查结果与GS伴HUA一致。WES揭示了SLC12A3基因中的复合杂合突变：一种来自母亲的内含子变异602-16G>A(p.?)和一种来自父亲的外显子变异c.1924C>T(p.Arg642Cys)。内含子变异预测会影响mRNA剪接，外显子变异是一种可能的致病性错义突变。这两种变异在人群数据库中都很罕见。WES未报导与HUA相关的变异。应用二代测序方法检测出MTHFR基因的c.677C>T(rs1801133)位点CT型为HUA的危险因素，SLC22A12基因c.831-192C>A(rs893006)位点CC型为风险基因变异。结论 我们的研究强调了在诊断GS时进行基因检测的重要性，特别是对于具有低钾伴高尿酸血症的年轻患者。应用WES在单基因遗传病GS的实用性，对多基因遗传病需联合其他基因检查技术如二代测序。

【关键词】低钾血症；Gitelman综合症；高尿酸血症；遗传性肾脏病；全外显子组测序

【中图分类号】R334+1

【文献标识码】A

【基金项目】江西省卫生计生委科技计划(202211831)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2025.11.005

Gitelman Syndrome with Hyperuricemia Patients' Whole Exome Sequencing Analysis*

WANG La-mei*, FENG Yi-yu, TONG Wei, QIU Guo-ping, YAN Hui-min, LIAO Miao-miao.

Nephrology Department, First People's Hospital of Jiujiang City, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Abstract: Objective Hypokalemia is a common electrolyte imbalance, including renal and non-renal potassium loss. Gitelman syndrome (GS) is a rare autosomal recessive genetic kidney disease caused by mutations in the SLC12A3 gene, clinically characterized by hypokalemia. Hyperuricemia (HUA) is a metabolic disorder caused by elevated serum uric acid levels, with genetic susceptibility playing an important role in HUA. The pathogenesis of GS with HUA is not fully understood. This study aims to explore the genetic basis of a case clinically suspected of GS with HUA using whole exome sequencing (WES) and bioinformatics analysis, and to discuss the application of WES in such genetic kidney diseases. **Methods** Clinical data and peripheral blood samples were collected from a 34-year-old male patient and his parents. DNA was extracted and WES was performed, followed by bioinformatics analysis to predict and identify the pathogenicity of mutations. Sanger sequencing was used to validate mutations in parental DNA. Next-generation sequencing was used to screen for common uric acid susceptibility genes. **Results** The patient's clinical manifestations and laboratory findings were consistent with GS with HUA. WES revealed compound heterozygous mutations in the SLC12A3 gene: an intronic variant 602-16G>A (p.?) from the mother and an exonic variant c.1924C>T (p.Arg642Cys) from the father. The intronic variant was predicted to affect mRNA splicing, and the exonic variant was a possible pathogenic missense mutation. Both mutations were rare in population databases. WES did not report variations related to HUA. Using next-generation sequencing, the MTHFR gene c.677C>T (rs1801133) site CT type was identified as a risk factor for HUA, and the SLC22A12 gene c.831-192C>A (rs893006) site CC type was identified as a risk gene variant. **Conclusion** Our study highlights the importance of genetic testing in diagnosing GS, especially in young patients with hypokalemia and hyperuricemia. The utility of WES in monogenic genetic disease GS is emphasized, while multiple gene genetic diseases require combined gene testing technologies such as next-generation sequencing.

Keywords: Hypokalemia; Gitelman Syndrome; Hyperuricemia; Genetic Kidney Disease; Whole Exome Sequencing

低钾血症定义为血清钾浓度低于3.5mmol/L，是常见的电解质紊乱。可由肾脏及胃肠道丢失、摄入不足或向细胞内转移。低钾血症的临床表现轻重不一，可从无症状到危及生命，表现为肌无力、心律失常和代谢紊乱。低钾血症的诊断有时需基因检查明确诊断。

Gitelman综合征(GS)是一种罕见的常染色体隐性遗传性肾小管疾病，主要因16q13染色体的SLC12A3基因突变引起。该基因编码远曲小管中的噻嗪敏感钠-氯共转运蛋白(NCCT)。

其临床特征为低钾血症、低镁血症和代谢性碱中毒。基因检测为诊断金标准^[1]。

高尿酸血症(HUA)定义为女性血尿酸大于360μmol/L，男性血尿酸大于420μmol/L^[2]。HUA具有遗传易感性，环境因素与多种易感基因相互作用引起尿酸异常。参与尿酸产生、重吸收、排泄的酶或转运蛋白及其上游基因的异常均影响血尿酸水平，目前研究较多相关易感基因包括：SLC2A9、SLC22A12、ABCG2、MTHFR^[3]。SLC2A9、SLC22A12主要影响尿酸重吸

【第一作者】王腊梅，女，主治医师，主要研究方向：遗传性肾脏病。E-mail: 18070502572@163.com

【通讯作者】王腊梅

收, ABCG2影响尿酸排泄, MTHFR基因多态性是HUA危险因素^[4]。长期的HUA不仅会发展为痛风, 还可导致肾脏慢性炎症和纤维化, 最终发展为肾功能衰竭。因此, 了解HUA的遗传基础对于肾脏疾病的诊断、预后和治疗至关重要。

下一代测序(NGS)技术的出现, 特别是全外显子组测序(WES), 通过对基因组编码区域的全面分析, 彻底改变了遗传研究。WES技术不仅可以识别已知的疾病相关遗传变异, 还能够发现新的易感基因位点, 为遗传病的诊断、预防和治疗提供了重要的分子生物学基础。此外, 影像学检查如双源CT尿路成像等, 在揭示遗传性肾病患者肾脏结构与功能改变方面也具有重要价值, 可与基因检测形成互补^[18]。WES已被证明是识别各种单基因疾病中致病变异的强大工具, 包括GS。既往主要报道使用全基因组关联研究(GWAS)发现了大量与尿酸升高相关的易感性位点及危险因素的多态性位点^[5]。也有报道通过WES技术揭示痛风大谱系的遗传原因^[6]。说明WES技术在识别高尿酸血症相关遗传变异方面也有潜力。

有研究报道SLC12A3基因两个热点突变(c.2573T>A和c.1924C>T)的GS患者中, 血清镁水平显著较高的基因型-表型相关性研究^[7]。但目前很少有关GS伴HUA基因型-表型的相关文献报道。这表明存在尿酸相关基因变异或GS可能导致HUA这种表型的疾病复杂性需要进一步讨论。本研究旨在通过WES和生物信息学分析探讨GS伴HUA的遗传基础, 重点关注高度疑似GS患者及其父母的基因变异。探讨应用WES技术在GS伴HUA患者中的实用性。

1 临床资料

患者, 男, 34岁, 因“发现血尿酸升高6年, 低钾血症3年”于2021年7月1日收入九江市第一人民医院肾内科住院治疗。6年前体检发现血尿酸升高, 血尿酸最高575 μ mol/L, 长期口服降尿酸药物控制尿酸水平。既往反复有痛风发作病史。3年前检查血钾小于3mmol/L, 长期口服补钾药物, 监测血钾波动3mmol/L, 有疲劳不适, 无其他特殊不适。家族无低钾血症及HUA病史。2021.7.2我院检查结果(注: 以下括号内数值为各项指标参考范围): 尿量2.8L/24h、尿钾17.44mmol/L、尿钾56mmol/24h(25~100)、尿钙0.13mmol/L(2.11~2.52)、尿钙0.36mmol/24h、尿酸759 μ mol/L(1449~4460)、尿酸定量2125 μ mol/24h、血尿酸455 μ mol/L(200~420)、血钾2.91mmol/L(3.5~5.5)、血镁0.67mmol/L(0.73~1.06)、动脉

PH7.47(7.35~7.45)、动脉碳酸氢盐31.3mmol/L(21.0~27.0), 卧位 RAAS: 肾素活性(PRA)3.95ng/mL(0.15~2.33)、血管紧张素II166.68pg/mL(25.0~129.0)、醛固酮(ALD)142.21pg/mL(10.0~160.0)、醛固酮/肾素活性比值 (ARR)3.6(0.0~30.0), 立位 RAAS: 肾素活性(PRA)6.76ng/mL(1.31~3.95)、血管紧张素II203.96pg/mL(49.0~252.0)、醛固酮(ALD)131.91pg/mL(40.0~310.0)、醛固酮/肾素活性比值 (ARR)1.95(0.0~30.0)。

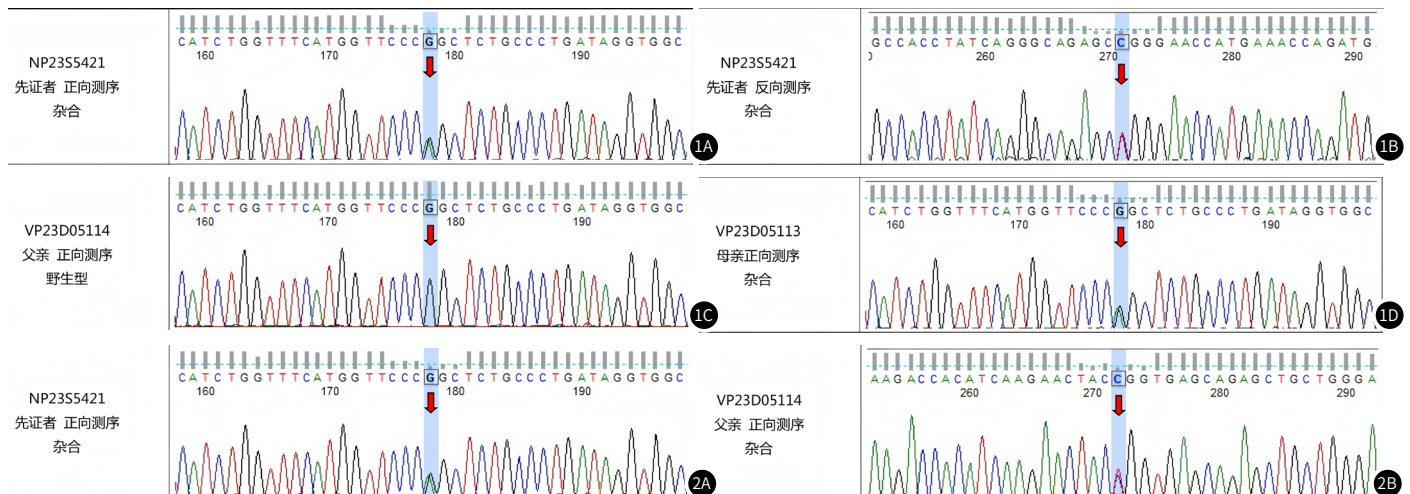
2 基因分析

本研究经患者签署知情同意并经过九江市第一人民医院医学理论委员会批准。在广州金域医学检验所进行测序及分析: 收集患者及父母的外周血各2mL。提取外周血DNA。使用定制设计的引物扩增靶基因区域。在Illumina平台上进行全外显子组测序。采用GATK、BWA、VEP等软件进行测序数据分析。分析结果参考UCSC hg19、ClinVar、OMIM、HGMD、gnomAD和金域本地等数据库筛选变异和致病性。采用Sanger测序验证父母DNA突变。用二代测序方法对高尿酸血症常见易感基因ABCG2、SLC2A9、SLC22A12、MTHFR筛查验证。

3 测序结果

患者全外显子组测序结果发现SLC12A3基因存在4号内含子602-16G>A(p.?)及15号外显子c.1924C>T(p.Arg642Cys)复合杂合变异。4号内含子602-16G>A(p.?)变异遗传来自母亲(图1), 15号外显子c.1924C>T(p.Arg642Cys)变异遗传来自父亲(图2), 检测结果符合常染色体隐性遗传。4号内含子602-16G>A(p.?)变异, 在dbSNP147数据库收录及文献中报道, 该变异为内含子区点突变影响mRNA的剪接, 使用经生物信息学软件预测明显影响mRNA剪接, 此类突变导致mRNA不稳定, 对蛋白质稳定性、细胞定位和摄取活性存在影响^[8]。15号外显子c.1924C>T变异在千人基因组(1000g2015aug_ALL)、dbSNP147数据库、金域本地数据库均收录及文献报道, 该变异频率较低为错义突变, 预计第642位氨基酸由Arg变为Cys, 生物信息学软件预测其致病可能性较大^[9]。

我们应用WES未报道HUA相关基因变异。应用二代测序方法检测MTHFR基因的c.677C>T(rs1801133)位点CT型, 该T等位基因型是高尿酸血症的危险因素^[10]。SLC22A12基因c.831-192C>A(rs893006)位点CC型, 该C等位基因型为风险基因变异^[11]。



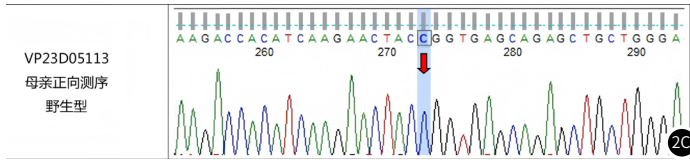


图1 患者及其父母SLC12A3基因Intron4的Sanger测序图，内含子4变异602-16G>A(p.?)来自母亲的致病基因。图1A(先证者)：患者正向测序杂合；图1B：患者反向测序杂合；图1C：父亲正向测序野生型；图1D：母亲正向测序杂合。图2 患者及其父母SLC12A3基因Exon15的Sanger测序图，Exon15变异c.1924C>T(p.Arg642Cys)来自父亲的可疑致病基因；图2A：患者正向测序杂合；图2B：父亲正向测序杂合；图2C：母亲正向测序野生型。

4 讨论

本研究报道1名明显低钾血症(血清钾：2.91mmol/L)的患者，虽血清钾水平较低，但患者表现出尿钾排泄增加(24小时尿钾：56mmol)，提示肾脏排钾增加。代谢性碱中毒(动脉血pH：7.47，碳酸氢根：31.3mmol/L)。患者在卧位和直立位均表现出升高的血浆肾素活性(PRA)和醛固酮水平，卧位PRA为3.95ng/mL/h，醛固酮为142.21pg/mL；直立位PRA为6.76ng/mL/h，醛固酮为131.91pg/mL。醛固酮/肾素比值(ARR)在正常范围内，排除了原发性醛固酮增多症，提示RAAS系统激活。上述临床检查结果高度疑似诊断GS。

GS为SLC12A3基因变异，导致编码远曲小管的噻嗪类利尿剂敏感钠氯协同转运蛋白功能异常。临床表现包括肌肉无力、手足抽搐、疲劳和心悸等。血生化检查为低钾血症、低镁、代谢性碱中毒。我们研究的患者表现疲乏、痛风，血化验及基因检查结果均符合GS诊断。

患者还表现出HUA(血清尿酸：455~575umol/L)。GS合并HUA发病率具体不详。赵等^[12]分析50例GS患者其中3例合并HUA，提示GS伴HUA并非罕见。Lyu^[13]等回顾132例GS患者其中21.2%合并HUA，HUA患病率超过普通人群。GS引起HUA的直接证据较少，目前主要观点从以下几个方面进行推测。GS患者由于肾小管对钠和氯的重吸收减少，导致体内钠、氯排泄增加，促进钾⁺、H⁺及水排泄，引发代谢性碱中毒。机体容量减少出现血压偏低，激活RAAS系统增加醛固酮分泌，醛固酮增加钾⁺、H⁺排泄，加重低钾血症及代谢性碱中毒。同时小管液流速增加及小管液中钾⁺浓度降低进一步促进钾⁺排泄。低钾血症可促进钾⁺转出细胞、促进H⁺转入细胞，再次加重代谢性碱中毒。尿酸为弱酸性物质在碱性尿液溶解度增加，肾小管液H⁺增加可减少尿酸溶解，增加尿酸盐结晶的形成，尿酸排泄减少^[14]。长期的尿酸代谢异常及潜在的尿酸盐结晶可能对肾脏造成慢性损伤，而基于MRI的影像组学技术为无创、精准评估此类代谢性疾病相关的肾损伤提供了新的研究方向^[19]。URAT1(尿酸盐转运蛋白1)在近端肾小管中参与尿酸的重吸收，GLUT9(葡萄糖转运蛋白9)在近端和远端肾小管中负责尿酸的转运，酸性尿液增加肾小管细胞尿酸转运蛋白活性导致尿酸重吸收增多，尿酸排泄减少^[15]。GS的生化特征与噻嗪类利尿剂的使用相似，噻嗪类利尿剂可以增加尿酸的重吸收，影响尿酸转运蛋白功能从而影响尿酸的排泄，引起血尿酸升高^[16]。

目前较少有GS伴HUA患者尿酸相关基因变异报道。Lyu等^[13]报道对132例GS其中87例患者使用Illumina基因芯片进行GS基因筛查，未发现10个SNPs与高尿酸密切相关，并指出GS伴HUA可能原因为NCC与尿酸转运蛋白之间存在串扰。WES未报道与HUA相关的变异。我们应用二代测序方法检测MTHFR、SLC22A12基因的两个等位基因型为风险基因变异，考虑GS伴HUA患者同时存在GS和HUA基因变异。血尿酸升高在老年人群中病率高，在年轻人群中发病率低，年轻人出现HUA常需排除遗传因素所致^[17]。证实WES在已经明确的单基因遗传病GS的实用性，WES主要针对已知致病相关基因中有足够证据表明能够或可能引起表型相关疾病

的变异。对多基因遗传病HUA，为风险基因及多态性变异，WES对于良性或疑似良性的变异不会报告，HUA相关风险基因筛查需联合其他基因检查方法。未来的研究应重点关注更大的队列、分子遗传学层面以阐明这些突变在GS伴HUA中的具体致病机制。

5 结论

GS伴HUA目前主要考虑因NCC功能缺陷导致钠、氯排泄增多，继发低钾血症、代谢性碱中毒，引起尿液中尿酸溶解度减少、影响尿酸转运蛋白活性导致尿酸重吸收增多、排泄减少。同时不排除存在GS和HUA基因变异。我们应用WES证实了患者及其父母中存在SLC12A3基因突变，二代测序证实MTHFR、SLC22A12等位基因型的风险基因变异，强调了在疑似GS病例中进行基因筛查的重要性，尤其年轻患者出现高尿酸血症伴电解质紊乱中。

参考文献

- [1] Simon D B, Nelson-Williams C, Johnson Bia M, et al. Gitelman's variant of Barter's syndrome, inherited hypokalaemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter[J]. Nature Genetics, 1996, 12(1): 24-30.
- [2] Bardin T, Richette P. Definition of hyperuricemia and gouty conditions[J]. Current Opinion in Rheumatology, 2014, 26(2): 186-191.
- [3] Nian Y L, You C G. Susceptibility genes of hyperuricemia and gout[J]. Hereditas, 2022, 159(1): 30.
- [4] Reginato A M, Mount D B, Yang I, et al. The genetics of hyperuricemia and gout[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2012, 8(10): 610-621.
- [5] Wang W, Zhang D, Xu C, et al. Heritability and genome-wide association analyses of serum uric acid in middle and old-aged Chinese twins[J]. Frontiers in Endocrinology, 2018, 9: 75.
- [6] Xia X, Jin J, Chen Z J, et al. Unraveling the genetic causes in large pedigrees with gout by whole exome sequencing[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2020, 45(4): 1047-1058.
- [7] Fujimura J, Nozu K, Yamamura T, et al. Clinical and genetic characteristics in patients with Gitelman syndrome[J]. Kidney International Reports, 2019, 4(1): 119-125.
- [8] Glaudemans B, Yntema H G, San-Cristobal P, et al. Novel NCC mutants and functional analysis in a new cohort of patients with Gitelman syndrome[J]. European Journal of Human Genetics, 2012, 20(3): 263-270.
- [9] Yahata K, Tanaka I, Kotani M, et al. Identification of a novel R642C mutation in Na/Cl cotransporter with Gitelman's syndrome[J]. American Journal of Kidney Diseases, 1999, 34(5): 845-853.
- [10] Golbahar J, Aminzadeh M A, Al-Shboul Q M, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) polymorphism with hyperuricemia[J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2007, 17(6): 462-467.
- [11] Guan M, Zhang J, Chen Y, et al. High-resolution melting analysis for the rapid detection of an intronic single nucleotide polymorphism in SLC22A12 in male patients with primary gout in China[J]. Scandinavian Journal of Rheumatology, 2009, 38(4): 276-281.
- [12] 赵喆, 唐彦, 周婧雅, 等. 50例Gitelman综合征患者临床特征和药物治疗分析[J]. 协和医学杂志, 2022, 13(2): 277-286.
- [13] Lyu N, Zhang L, Ji P, et al. #2640 Hyperuricemia in Gitelman syndrome 132 patients[J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2024, 39(Supplement_1): gf ae069-0435-2640.
- [14] Jing P, Shi M, Ma L, et al. Mechanistic insights of soluble uric acid-related kidney disease[J]. Current Medicinal Chemistry, 2020, 27(30): 5056-5066.
- [15] Li M, Han D, Gong J. What roles do alkali metal ions play in the pathological crystallization of uric acid? [J]. CrystEngComm, 2022, 24(20): 3749-3761.
- [16] Rouached L, Hannech E, Jeribi R, et al. Tophaceous gout in a young man with Gitelman syndrome: a case report with an overview[J]. Clinical Rheumatology, 2023, 42(1): 285-291.
- [17] Dehlin M, Jacobsson L, Roddy E. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors[J]. Nature Reviews Rheumatology, 2020, 16(7): 380-390.
- [18] 刘洋, 王建国, 李静. 双源CT尿路成像在遗传性肾小管疾病诊断中的应用价值[J]. 中国和MRI杂志, 2023, 21(5): 112-115.
- [19] 张明, 陈晓辉, 周丽. 基于MRI影像组学在代谢性疾病肾损伤评估中的研究进展[J]. 中国和MRI杂志, 2024, 22(2): 88-91.

(收稿日期：2024-07-26)

(校对编辑：韩敏求)