

새로 발견된 PMP22 유전자의 Frame Shift 돌연변이(Ala106fs)를 보인 Charcot-Marie-Tooth 1A

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실, 공주대학교 생명과학과*, 연세대학교 의과대학 신경과학교실†, 경남대학교 화학과‡

최병옥 정기화* 박기덕 최경규 김승민† 김용성‡ 이미선* 선우일남†

Charcot-Marie-Tooth type 1A Patient with a Novel Frame Shift Mutation (Ala106fs) in the PMP22 Gene

Byung-Ok Choi, M.D., Ki Wha Chung, Ph.D.*, Kee-Duk Park, M.D., Kyoung-Gyu Choi, MD, Seung-Min Kim, M.D.†, Yongsoeng Kim, Ph.D.‡, Mi Sun Lee*, Il Nam Sunwoo, M.D.†

Department of Neurology, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea
 Department of Biological Science, Kongju National University*, Gongju, Korea
 Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine†, Seoul, Korea
 Department of Chemistry, Kyungnam University‡, Masan, Korea

Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) with hearing impairment is a clinically distinct rare entity described in a few families, usually with a demyelinating neuropathy. The molecular basis for this disease has not been established with certainty. Audiological evaluation has revealed auditory neuropathy in the affected individual. We report a CMT1A family with sensorineural hearing loss and a novel frame shift mutation Ala106fs (318delT) in the PMP22 gene.

J Korean Neurol Assoc 22(6):673~676, 2004

Key Words: CMT1A, PMP22, Deafness, Frame shift mutation

Charcot-Marie-Tooth (CMT) 질환은 2500명 중 1명의 빈도로 발생하는 유전성 신경 질환 중에서 가장 흔하다.¹ CMT 질환 중에서 가장 많은 빈도를 차지하는 것은 CMT1A형인데 대부분 염색체 17p11.2-p12의 중복이 원인이지만 드물게는 PMP22 유전자의 점상 돌연변이도 보고되어 있다.^{2,3}

Frame shift 돌연변이는 DNA의 복제 과정 중에서 mispairing 혹은 strand slippage로 인하여 일어날 수 있다.⁴ 그러나 저자들이 발견한 PMP22 유전자에서의 frame shift 돌연변이(Ala106fs)는 아직까지 보고된 바가

없었다.

감각신경성 청각손실(sensorineural hearing loss)은 탈수초성 신경병증인 PMP22, MPZ, Cx32 유전자의 점상 돌연변이(point mutation)를 가진 극소수 환자들에서만 보고된 드문 임상 양상인데 이에 대한 분자유전학적 원인 기전은 아직까지 확실하게 밝혀져 있지 않다.⁵⁻⁷

저자들은 감각신경성 청각손실을 가진 한국인 CMT1A 환자에서 이전에 보고 되지 않았던 PMP22 유전자의 새로운 frame shift 돌연변이(Ala106fs)를 확인하였기에 보고하는 바이다.

Received February 16, 2004 Accepted April 24, 2004

* Address for correspondence Il Nam Sunwoo, M.D.

Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine
 C.P.O. Box 8044, Seoul, Korea

Tel : +82-2-361-5463 Fax : +82-2-393-0705

E-mail : neuro@yumc.yonsei.ac.kr

† 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R01-2003-000-10716-0)의 지원으로 수행되었음.

중 레

32세 남자가 19세부터 서서히 진행되는 양하지의 근 위축 및 근력 약화를 주소로 내원하였다. 내원 당시 근력 약화 및 근위축은 좌우 대칭적으로 위위 근육에서 더 현저해서 하지에서는 족하수(foot drop)에 의한 보행장애

가 있었고 발가락을 전혀 움직이지 못하였으며 상지에서는 젖가락질이나 글씨를 쓰기가 어려웠다. 또한 청력 장애가 있어서 작은 소리를 잘 듣지 못하였다.

이학적 진찰상 손과 발 내재근(intrinsic hand and foot muscles)의 심한 근위축과 함께 하지의 장딴지 근육과 전경골근의 위축이 있었고 장도리 발가락(hammer toe), 요족(pes cavus) 등도 관찰되었다. 그러나 안면근육은 정상이었다. 근력검사상 상하지 근위부의 근력은 정상이었지만 상지에서는 주로 손과 손가락 운동의 근력 감퇴가 현저하였고 하지에서는 발목 관절 및 발가락 운동의 근력 감퇴가 현저하였다. 감각기능은 모든 감각이 상하지 원위부에서 특징적으로 장갑-양말 형태로 저하되었다. 심부건반사는 사지에서 모두 소실되어 있었으나 병적반사는 관찰되지 않았다.

신경전도검사에서 상지는 정중신경 및 척골신경의 현저한 말단 잠복기의 지연 및 운동신경 전달속도의 저하와 함께 복합근육활동전위(compound muscle action potential; CMAP) 진폭의 감소가 관찰되었고 하지의 비골신경 및 후경골신경에서는 복합근육활동전위가 검출되지 않았다. 감각신경활동전위(sensory nerve action potentials; SNAP)는 상하지 모두에서 유발되지 않았고

Table 1. Nerve conduction studies (NCS) of right upper and lower extremities in the CMT1A patient with a novel frame shift mutation (Ala106fs) in the PMP22 gene

NCS	Variable	Value
Median motor (wrist-elbow)	DML (ms)	6.3
	CMAP (mV)	10.0
	MNCV (m/s)	29.5
Ulnar motor (wrist-elbow)	DML (ms)	6.1
	CMAP (mV)	2.7
	MNCV (m/s)	28.7
Peroneal motor (ankle-knee)	DML (ms)	ND
	CMAP (mV)	ND
	MNCV (m/s)	ND
Post. tibial (ankle-knee)	DML (ms)	ND
	CMAP (mV)	ND
	MNCV (m/s)	ND
Median sensory (finger-wrist)	SNAP (μV)	ND
	SNCV (m/s)	ND
Ulnar sensory (finger-wrist)	SNAP (μV)	ND
	SNCV (m/s)	ND
Sural nerve	SNAP (μV)	ND
	SNCV (m/s)	ND

DML; distal motor latency, CMAP; compound muscle action potential, MNCV; motor nerve conduction velocity, SNAP; sensory nerve action potential, SNCV; sensory nerve conduction velocity, ND; not determined

H-reflex도 관찰되지 않았다(Table 1). 청력검사에서는 감각신경성 청력손실이 양쪽에서 있었는데 특히 고음 영역에서 장애가 현저하였다(Fig. 1).

비복신경 조직검사를 한 결과 semithine section에서 아주 소수의 작은 유수신경섬유만 남아 있어 유수신경섬유의 감소가 현저하였는데, 축삭의 직경은 아주 가늘고 얇은 수초를 지닌 신경섬유로 대체되어 있었고 드물게 onion bulb formation이 관찰되었다. 신경갈래검사(teased fiber preparation)에서는 재수초화(remyelination)와 수초의 부분적 비후(focal thickening of myelin sheath)가 관찰되어 탈수초성 말초신경병증의 소견과 일치하였다.

가족력에서 환자는 4남 3녀 중 여섯번째(3남)로서 환자의 둘째 형(다섯번째)에서 하지의 근력 약화 및 보행 장애가 관찰되었고 유전자검사에서도 환자와 같은 돌연변이를 보였다. 또한 환자의 아버지는 이미 사망하였기 때문에 검사가 불가능하였으나 보행장애가 있었다고 하였다.

PMP22 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 PMP22 유전자의 exon 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, 염기서열을 분석하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. 환자는 PMP22 유전자의 4번째 exon의 말단 부위에 위치하는 106번 아미노산인 alanine을 합성하는 codon인 GCT에서 T가 결실되어(318delT) 그 후 두 쌍 중 한쪽 DNA codon이 하나씩 앞으로 당겨져서 frame shift가 된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2-A). 본 환자에

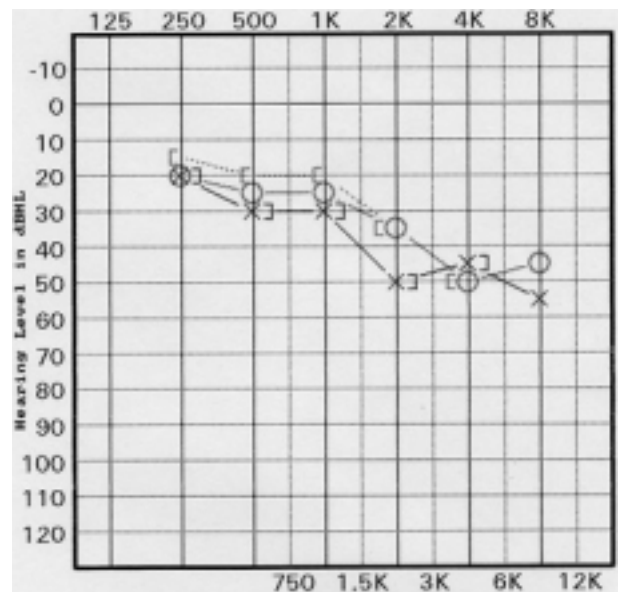


Figure 1. Audiogram acquired on the patient reveal symmetric sensorineural hearing loss. The deficit is greatest at high frequencies, with less involvement of the low and mid frequencies. Right ear (red) air conduction=O; bone conduction=<; masked=[. Left ear (blue) air conduction=X; bone conduction=>; masked=].

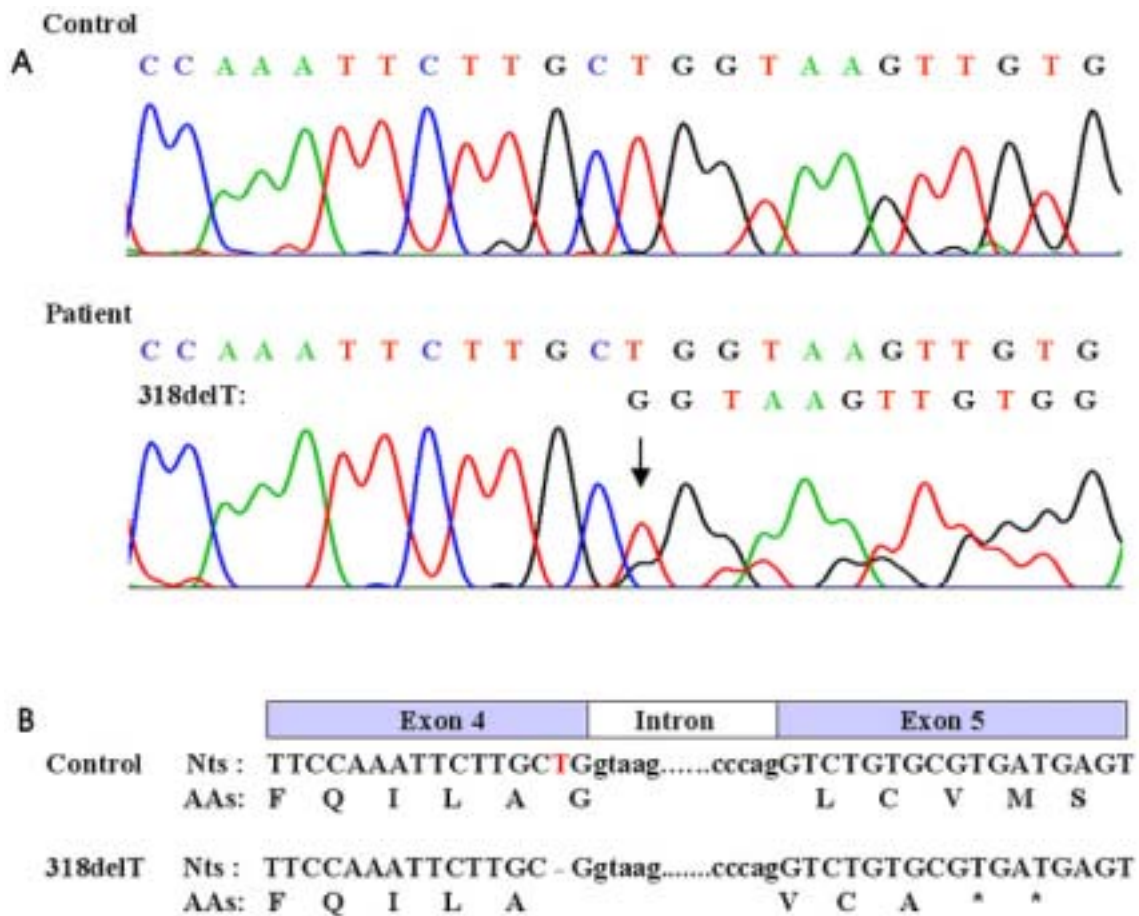


Figure 2. Sequencing analysis of Ala106fs mutation in PMP22 gene. (A) Sequencing analysis. Exon 4 region of PMP22 is amplified by the PCR method and sequenced by automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 106th codon is GCT encoding alanine in normal sample, whereas, T codon is deleted in the patient. Green lines: adenosine residues (A); blue lines: cytosine (C); black lines: guanine (G); red lines: thymine (T). (B) Alteration of amino acids sequence in Ala106fs mutant allele. The mutant allele produces a premature short polypeptide due to an early appearance of stop codon. Nts; nucleotide sequence, AAs; amino acid sequence, *; stop codon.

서 발견된 돌연변이는 106번 이후 아미노산 서열이 변경된 3개의 아미노산을 암호화한 후 조기 종결이 초래되었다(Fig. 2-B). 본 환자에서 염색체 17p11.2-p12의 복제(duplication)와 myelin protein zero (MPZ), connexin32 (Cx32), early growth response 2 (EGR2), neurofilament light chain (NEFL) 유전자의 암호화 부위에서 병인 돌연변이를 검사하였는데 모두 정상 소견을 보였다.

고 찰

CMT 질환은 상염색체 우성 유전을 하며 탈수초성 신경병증인 CMT1형과 축삭형 신경병증인 CMT2형, 그리고 상염색체 열성 유전을 하는 CMT4형, X 염색체 우성 유전을 하는 CMTX형 및 Dejerine-Sottas syndrome (DSS)으로 나눌 수 있다.¹ CMT1형은 다시 유전자 변이에 따라 CMT1A, 1B, 1C로 구분하고, 이 중 CMT1A형

은 CMT 질환 중에서 가장 흔하며 대부분 PMP22 유전자의 중복에 의해 발생하지만 드물게는 PMP22 유전자의 점상 돌연변이도 보고되어 있다.^{2,3} PMP22 유전자는 말초신경 수초의 밀집 구역에 위치하는 160개의 아미노산으로 구성된 단백질의 합성에 관여하는데, 이 단백질은 네 개의 세포막 통과 영역으로 구성되어 있으며 PMP22 유전자의 발현정도가 말초신경의 수초화에 결정적인 역할을 한다고 알려져 있다.⁴

저자들이 발견한 새로운 frame shift 돌연변이(Ala106fs)는 세 번째 수송막(transmembrane)의 가운데 부분인 106 번째 아미노산인 alanine을 만드는 염기서열 GCT에서 T가 소실되어(318delT) 그 이후 DNA codon이 하나씩 앞으로 당겨져서 단백질의 합성에 오류(조기 종결)가 발생하였다. 이 유전자 돌연변이가 단순한다형성이 아닌 병인 돌연변이임을 증명하기 위해서 정상 대조군 105명(남자 43명, 여자 62명)과 다른 환자군의 염기서열을 비교해 보았지만 동일한 변이는 발견되지 않았으며, PCR 산물을 TA

백터(Promega, USA)에 삽입한 후 염기서열을 확인하는 이중 검증에서도 이 돌연변이가 확인되었으므로, Ala106fs (318delT) 돌연변이가 이 환자의 유전적 원인으로 작용했을 가능성이 높다. 그리고 CMT 유전자 돌연변이 사이트 (<http://molgen-www.uia.ac.be/CMTMutations>)에서 확인한 바에 따르면 아직 보고되지 않은 새로운 돌연변이 임을 확인할 수 있었다.

Frame shift 돌연변이는 DNA의 복제 과정 중 mis-pairing 혹은 strand slippage로 인하여 발생하는데, mispairing은 일반적으로 특정 뉴클레오티드(nucleotide)가 계속 만들어지는 과정에서 일어나며, strand slippage는 가닥(strand)이 미끄러짐으로 인한 slippage가 일어난 후에 변성된 가닥의 하나 또는 그 이상의 염기가 부풀려 나간 형태로 다시 재결합이 일어나게 되는 과정에서 발생한다.⁴ 이러한 과정으로 인해서 추가(addition) 또는 결실(deletion)된 frame shift mutation이 만들어질 수 있다.⁸ PMP22 유전자에서 발견된 frame shift 돌연변이는 CMT1A 뿐만 아니라 hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) 환자들에서도 보고되고 있다.⁹

CMT 환자에서 청각손실의 원인 기전에 대해서는 아직까지 확실하게 알려진 것은 없다.⁵ 청각손실이 PMP22 유전자의 중복보다 점상 돌연변이에서 많은 빈도로 보고되는 것은 점상 돌연변이로 인한 탈수초성 변화가 청각신경병증(auditory neuropathy)에 보다 밀접하게 관련이 되어 있기 때문일 것으로 추정하고 있다.⁵ PMP22 유전자의 중복을 가진 경우에는 과다(excess) PMP22 유전자 발현으로 인하여 말초신경의 과수초화(hypermyelination)가 발생하고, 반대로 PMP22 유전자의 점상 돌연변이를 가진 경우에는 유전자 산물의 소실(loss)이 일어나서 저수초화(hypomyelination)가 발생하게 되는데 이와 같은 저수초화가 청각신경 병변을 일으키는 원인이 될 것으로 추정되고 있다.⁵⁻⁷ 그런데 PMP22 유전자의 점상 돌연변이를 가진 모든 환자들에서 청각손실이 나타나는 것은 아니다.^{8,10} 그 이유는 PMP22 유전자 돌연변이의 위치가 이러한 독특한 임상 양상을 나타내는 원인이 될 수도 있다.⁵ 본 증례의 돌연변이 부위와 인접한 Ile104fs frame shift 돌연변이가 있는 일본인 CMT1A 환자가 보고되었는데 이 환자는 청력장애가 동반되지 않았다.¹⁰ 또한 현재까지 보고된 청력장애가 있는 CMT 환자의 돌연변이는 주로 PMP22 유전자의 세포질의 성분 주위와 수송막의 경계 부위에 위치하고 있는데 비해, 본 증례는 수송막의 경계 부위가 아니고 가운데 부위라는 점에서 차이가 있다.⁵⁻⁷ 이것은 아마도 Sambuughin

등⁵이 제시한 기전 이외에 또 다른 원인 기전에 의한 청각손실이 있을 수 있음을 보여주는 것이라고 생각된다.

저자들은 감각신경성 청각손실을 동반한 한국인 CMT1A 환자에서 이전에 보고되지 않았던 새로운 frame shift 돌연변이(Ala106fs)를 확인하였기에 이를 보고한다.

REFERENCES

1. Shy ME, Garbern JY, Kamholz J. Hereditary motor and sensory neuropathies: a biological perspective. *Lancet Neurol* 2002;1:110-118.
2. Roa BB, Garcia CA, Suter U, Kulpa DA, Wise CA, Mueller J, et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. Association with a spontaneous point mutation in the PMP22 gene. *N Engl J Med* 1993;329:96-101.
3. Nelis E, Timmerman V, De Jonghe P, Van Broeckhoven C. Identification of a 5' splice site mutation in the PMP-22 gene in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *Hum Mol Genet* 1994;3:515-516.
4. Berger P, Young P, Suter U. Molecular cell biology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurogenetics* 2002;4:1-15.
5. Sambuughin N, de Bantel A, McWilliams S, Sivakumar K. Deafness and CMT disease associated with a novel four amino acid deletion in the PMP22 gene. *Neurology* 2003;60:506-508.
6. Boerkoel CF, Takashima H, Garcia CA, Olney RK, Johnson J, Berry K, et al. Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies: mutation distribution and genotype-phenotype correlation. *Ann Neurol* 2002;51:190-201.
7. Kovach MJ, Lin JP, Boyadjiev S, Campbell K, Mazzeo L, Herman K, et al. A unique point mutation in the PMP22 gene is associated with Charcot-Marie-Tooth disease and deafness. *Am J Hum Genet* 1999;64:1580-1593.
8. Ionasescu VV, Searby CC, Ionasescu R, Reisin R, Ruggieri V, Arberas C. Severe Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1A with 1-base pair deletion and frameshift mutation in the peripheral myelin protein 22 gene. *Muscle Nerve* 1997;20:1308-1310.
9. Lenssen PP, Gabreels-Festen AA, Valentijn LJ, Jongen PJ, van Beersum SE, van Engelen BG, et al. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. Phenotypic differences between patients with the common deletion and a PMP22 frame shift mutation. *Brain* 1998;121:1451-1458.
10. Numakura C, Lin C, Ikegami T, Guldborg P, Hayasaka K. Molecular analysis in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease: DGGE analysis for PMP22, MPZ, and Cx32/GJB1 mutations. *Hum Mutat* 2002;20:392-398.