

## Cx32 유전자 돌연변이를 보인 CMTX와 PMP22 유전자 중복을 보인 CMT1A 환자들의 임상 및 전기생리학적 특성 비교

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실, 공주대학교 생명과학과\*, 연세대학교 의과대학 신경과학교실<sup>†</sup>

최병욱 정기화\* 박기덕 김승민<sup>†</sup> 신상희\* 선우일남<sup>†</sup>

### Comparison of Clinical and Electrophysiological Characteristics between CMTX with Cx32 Missense Mutation and CMT1A with PMP22 Duplication

Byung-Ok Choi, M.D., Ki Wha Chung, Ph.D.\*, Kee Duk Park, M.D., Seung-Min Kim, M.D.<sup>†</sup>, Sang Hee Shin\*, Il Nam Sunwoo, M.D.<sup>†</sup>

*Department of Neurology, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul;*

*Department of Biological Science, Kongju National University\*, Gongju;*

*Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine<sup>†</sup>, Seoul, Korea*

**Background:** Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is a clinically and genetically heterogeneous disorder. Connexin32 (Cx32) gene mutations on Xq13.1 cause the X-linked form of CMT disease, and PMP22 gene duplication on 17p11.2-p12 causes CMT1A. The aim of the present study is to determine the clinical and electrophysiological characteristics between X-linked CMT patients with Cx32 missense mutations and CMT1A patients with PMP22 duplications. **Methods:** We screened for 17p11.2-p12 duplication, and for point mutations in Cx32 genes of 48 Korean CMT families. Both neurological examination and nerve conduction studies were performed in all patients. **Results:** Frequency of CMTX (6.3%) in our study was similar to Japanese, and was lower than those in European peoples. CMTX patients displayed no man-to-man transmission, and had cranial nerve involvement. CMTX patients showed more wide range of motor and sensory nerve conduction velocities than CMT1A patients. We found one family with axonal neuropathy and two families with demyelinating neuropathy in CMTX patients. **Conclusions:** Our findings suggest that mutations in Cx32 are probably less frequent in Asian CMT patients than European patients, and CMTX neuropathy is intermediary between CMT1 and CMT2. In addition, inheritance pattern and cranial nerve involvement are useful in differentiating CMTX from CMT1A with duplication.

J Korean Neurol Assoc 22(3):226-234, 2004

**Key Words:** Charcot-Marie-Tooth disease, Cx32, PMP22, CMTX, Mutation

### 서 론

Charcot-Marie-Tooth (CMT) 질환은 유전학적으로 뿐만 아니라 임상적, 전기생리학적으로 상당히 이질적이다.<sup>1</sup> CMT1A는 CMT 중에서 가장 높은 비율을 차지하며, 말초신경 수초 단백질을 만드는 데 관여하는 PMP22 (peripheral myelin protein 22) 유전자를 포함하는 염색체 17p11.2-p12의 중복(duplication)이 원인으로 알려져 있다.<sup>2</sup> CMT1A 다음으로 높은 빈도를 차지하는 것은

Received October 1, 2003

Accepted January 15, 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 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2003-003-E00179).

간극 결합(gap junction)을 형성하는 connexin32 (Cx32; gap junction protein  $\beta$ 1, GJB1) 유전자의 점상 돌연변이에 의해 발생하는 X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX) 질환으로 1889년 Herringham<sup>3</sup>에 의해 처음으로 보고되었고, 1993년에 Bergoffen 등<sup>4</sup>에 의해 유전자 변이가 보고되었다.

CMTX는 유전자 변이가 X 염색체에 위치하므로 아버지에서 아들로는 유전되지 않으며, 남자는 여자 환자보다 신경전도속도의 저하 및 임상 양상이 심하다는 특징이 있다.<sup>5,6</sup> 또한 CMTX 질환이 근본적으로 축삭형 신경병증(axonal neuropathy)인지 혹은 탈수초성 신경병증(demyelinating neuropathy)인지에 대해서는 서로 다른 의견들이 존재하고 있다.<sup>7,8</sup>

아직까지 우리나라 CMT1A와 CMTX 환자들을 대상으로 특성을 비교한 논문은 없었다. 이에 저자들은 임상적 진찰 소견 및 전기생리학적검사상 CMT로 진단된 48가족을 대상으로 하여 유전자검사를 하였고, 이들 중 Cx32 유전자의 과오돌연변이(missense mutation)가 발견된 CMTX 환자와 PMP22 유전자의 중복이 확인된 CMT1A 환자를 대상으로 하여 임상 및 전기생리학적 특성들을 비교해 보고자 하였다.

## 대상과 방법

### 1. 대상

신경학적 진찰 소견, 전기생리학적검사 및 비복신경 조직검사 등을 하여 CMT로 진단된 48가족(207명의 한국인 환자 및 가족 구성원)을 대상으로 하였다. 이들 중 상염색체 우성 유전을 하며 전기생리학적검사 소견상 정중신경의 전도속도가 38 m/s 이하인 CMT 1형은 23가족, 상염색체 우성 유전을 하며 정중신경의 전도속도가 38 m/s 이상인 CMT 2형은 14가족, Dejerine-Sottas syndrome으로 생각되고 태생 시부터 증상이 시작되었으며 정중신경의 전도속도가 8 m/s 이하인 CMT 3형은 3가족, 상염색체 열성 유전을 하는 CMT 4형 3가족, 그리고 X 염색체 우성 유전을 하는 CMTX는 3가족이었으며 명확하게 분류하기 어려운 경우가 2가족이 있었다. 정상 대조군으로는 임상 소견 및 전기생리학적검사상 CMT에 합당한 신경병증의 소견이 없으면서 동시에 CMT의 가족력이 없는 105명(남자 43명, 여자 62명)을 선택하여 대조군으로 하였다. 임상 양상을 비교하기 위해서 발병 연령, 질병 기간, CMT로 인한 기능저하 척도(functional disability scale; FDS), 근육 위축, 발모양 변형, 척추 측만증 등을 조사하였다. 발병 연령은 운동이나 감각의 저하, 혹은 발모양 변형 등, CMT의 증상이 처음으로 나타났던 시기로 하였으며, 질병 기간은 환자가 병원을 방문한 시점과 발병 연령 사이의 기간으로 하였다. 저자들은 CMTX의 심한 정도를 측정하기 위하여

9단계로 된 기능저하 척도를 사용하였는데 기준은 다음과 같다.<sup>7</sup> 0; 정상, 1; 정상이지만 피로감이나 통증이 있는 경우(normal but with cramps and fatigability), 2; 달리기를 할 수 없는 경우(inability to run), 3; 걷기가 어렵지만 도움 없이 걷는 것이 가능한 경우(walking difficulty but still possible unaided), 4; 지팡이를 가지고 걸을 수 있는 경우(walk with cane), 5; 목발을 가지고 걸을 수 있는 경우(walk with crutches), 6; 보조기를 착용하고 걸을 수 있는 경우(walk with a walker), 7; 휠체어를 타고 다녀야 하는 경우(wheelchair bound), 8; 누워서 생활하는 경우(bedridden).

모든 연구 대상에 대해서는 면접을 하고 본 질환에 대하여 충분히 설명하였으며 유전자검사에 대한 동의를 구하였다. 동의한 환자 및 가족 구성원들과 정상 대조군들을 대상으로 채혈을 통한 유전자검사를 하였다.

### 2. 전기생리학적검사

모든 연구 대상에서 정중신경, 척골신경의 운동 및 감각신경과 비골신경, 후경골신경의 운동신경, 비복신경의 감각신경을 검사하였다. 청각장애가 의심되는 모든 환자들을 대상으로 전정신경의 이상 유무를 검사하기 위하여 뇌간청각유발전위검사(brainstem auditory evoked potential; BAEP)를 하였다. 또한 안면마비 증상을 보인 환자를 대상으로 안면신경전도검사 및 순목반사(blink reflex)를 하였다.

### 3. PMP22 유전자 중복 검사

CMT 가계의 환자 및 가족 구성원들과 정상 대조군들로부터 말초혈액 10 mL를 EDTA가 처리된 튜브에 모은 후, DNA 정제 장치(Promega, USA)를 사용하여 genome DNA를 추출하였다. 추출된 환자 및 가족의 genomic DNA에서 염색체 17p11.2-12 부위에 위치하며 short tandem repeats polymorphism을 보이는 marker를 사용하여 유전자형의 중복 여부를 검사하였다(Table 1). PCR은 <sup>32</sup>P-labelled primer 및 antisense primer 각 20 pmole, 1X PCR buffer, dNTP 250  $\mu$ M, template 50 ng, Taq polymerase (Takara) 1 unit를 첨가하였으며 최종 부피는 25  $\mu$ L로 하였다. PCR program은 7분간의 initial denaturation 후, 94°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 30초로 하여 35회 반복하였다. 반응이 끝난 후, PCR 산물의 2  $\mu$ L를 취해 gel loading buffer 1  $\mu$ L를 첨가하여 6% acrylamide/8M urea denaturation gel에 35 watt로 약 2시간 30분간 전기영동하였다. 전기 영동이 끝난 후 gel을 15% acetic acid 용액에서 고정된 후 헤어 드라이어로 건조시키고 X-ray 필름을 붙여 -70°C에서 약 12~15시간 노출시킨 다음 이를 현상하여 결과를 판독하였다.

**Table 1.** Microsatellite markers and PCR conditions used for the analysis of CMT patients with chromosome 17p11.2-p12 duplication

Marker		PCR condition			
Name (Locus)	Map* (cM)	Duplex PCR	Size (bp)	Temp (°C)	Primer sequences (5'→3')
D17S921	36.14	I	109-127	65	F: GTGTTGTATTAGGCAGAGTTCTCC R: CACCATAATCATGTGACACAATCC
D17S955	37.31	II	165-173	62	F: GGTGGGTGTCCTTGGCCTAC R: ACTGGTGCATCCATGAGCATGC
D17S1358			122-134	62	F: AGCACCATGCCGGCCACAC R: AGATGGATAAGATGATCATGTTAC
D17S839	37.8	II	123-143	65	F: CAACAACAGCGAACTCTGTCTC R: AGACCCTGGAAGATCAACTACC
D17S122		I	153-167	65	F: AGAACCACAAAAATGTCTTGCATTC R: GGCCAGACAGACCAGGCTCTGC
D17S261	41.12		96-110	62	F: CTAGGCACTGAAGCCAGGAAG R: TTCTGGAAACCTACTCCTGAGC

\*Marshfield's genetic distance (centi-Morgan from the end of short arm).

**Table 2.** Primer sequences for PCR amplification of Connexin32 gene

Exons	Primers	Sequences (5'→3')
Promoter P1 and exon 1A	Cx1AF	GCAGCTTGCCCGCACTGTGGATC
	Cx1AR	CCGGCCCACTGTGCCACATCAGC
Promoter P2 and exon 1B	Cx1BF	TCCCCTCTTCACATCCACCT
	Cx1BR	GCTCCTTAAGTCCAGACCTG
Exon 2	Cx2AF	CTACTGGCTCTTGGGAAGAGTTGA
	Cx2AR	TGCTGGTGAGCCACGTGCATGGC
	Cx2BF	TGTGGTCCCTGCAGCTCATCTTA
	Cx2BR	CGGATGATGAGGTACACCACCTC
	Cx2CF	CTTCACCGTCTTCATGCTAGCTG
	Cx2CR	AGGCAGAGGCCTGTGCACCGCA

#### 4. Cx32 유전자 sequencing

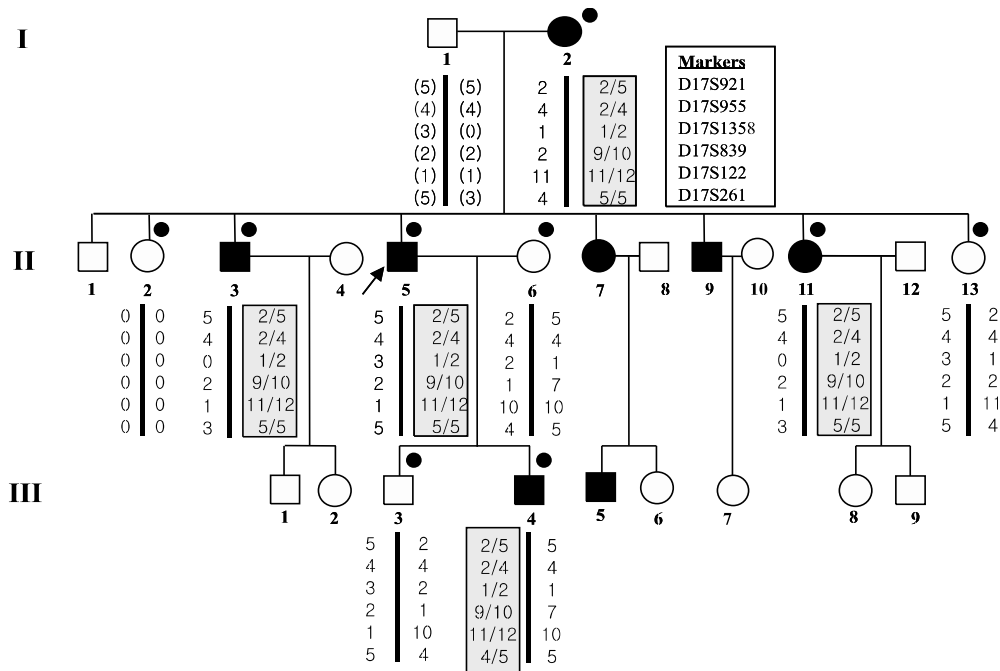
Cx32 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 Cx32 유전자의 promoter (P1 및 P2), exon 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, sequencing을 하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. Cx32 유전자의 해당 부위를 증폭하기 위한 PCR 반응은 주형 DNA 30~50 ng, 각 primer 10 pmol, dNTPs 200 μM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, Taq polymerase 0.5 unit 및 1X reaction buffer (Promega, USA)가 포함된 50 μL의 반응 용액을 이용하여 PCR 증폭 장치(Perkin Elmer PE2700, USA)에서 32회 사이클링으로 실시하였다. 각 부위의 PCR을 위해 사용된 primer는 Table 2와 같다. PCR 실시 후 증폭된 DNA는 정제한 후 자동염기서열분석기(ABI 3700, USA)에서

BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit를 이용하여 양 방향의 염기서열을 결정하고, 서열의 판독은 CHROMAS (Ver. 2.23) 프로그램을 이용하였다. 여자 환자에서 우성 돌연변이는 정상 서열(wild allele)과 돌연변이 서열(mutant allele)이 혼합되어 있어 염기서열 판독상의 오류를 범할 수 있으므로, 새로운 변이가 관찰된 해당 DNA 단편을 TA PCR 클로닝 벡터(Promega, USA)에 삽입시킨 후 10개 이상의 독립적 콜로니로부터 추출된 플라스미드의 DNA 단편의 염기서열을 분석하여 정상 서열과 돌연변이 서열이 모두 검출되는지를 재확인하였다.

## 결 과

### 1. 유전자검사

신경학적 진찰 소견 및 전기생리학적검사상 CMT 질환으로 진단된 48가족 207명과 정상 대조군 105명을 대상으로 하여 PMP22 유전자와 Cx32 유전자의 돌연변이에 대한 분석을 실시하였다. PMP22 유전자의 중복은 13가족 34명에서 확인할 수 있었다. 그리고 1가족에서 PMP22 유전자의 새로운(novel) 점성 돌연변이를 발견하여 CMT1A로 진단할 수 있었으나 중복 변이가 아니므로 이번 분석에서는 제외하였다(unpublished data). PMP22 유전자의 중복이 있는 경우는 CMT 1형 환자 23가족 중의 57%에 해당하였다. CMT1A 환자 가족(Family ID: FC-9)의 예를 Fig. 1에서 보여주고 있다. 환자(II-5: 화살표로 표시)에서 short tandem repeats polymorphism을 보이는 6개 marker를 사용한 이형성



**Figure 1.** Pedigree of a CMT1A family (family ID; FC-59) with PMP22 duplication in chromosome 17p11.2-p12. The open symbols stand for unaffected males (□) and unaffected females (○). The filled symbols represent affected males (■) and affected females (●). The symbols (●) indicate persons whose DNA is used for the analysis with 6 microsatellites. Alleles of the individuals within parentheses are inferred. The arrow indicates the proband. The duplication of the six-marker region responsible for CMT1A is indicated by the shadowed box.

단형(hemizygous haplotype)은 2/5 (D17S921) - 2/4 (D17S955) - 1/2 (D17S1358) - 9/10 (D17S839) - 11/12 (D17S122) - 5/5 (D17S261)였으며 그의 둘째 아들(III-4)로 전달되었으며, 이 가족에서 환자인 구성원(I-2, II-3, II-11)에서 모두 관찰되었고, 환자가 아닌 경우(II-6, II-13, III-3)에는 관찰되지 않았다.

Cx32 유전자의 과오돌연변이(missense mutation)가 3가족(6.3%)에서 발견되었다. 이와 함께 무증상돌연변이(silent mutation)를 가진 경우도 3가족에서 발견되었다(Table 3).

저자들이 발견한 돌연변이인 Val136Ala은 X 염색체 상의 Cx32 유전자의 2번째 exon의 136번 단백질을 합성하는 부분에서 GTC가 GCC로 변하여 발린(valine; Val)이 알라닌(alanine; Ala)으로 치환된 것을 확인하여 진단할 수 있었다.<sup>9</sup> Arg164Gln은 164번째 단백질을 합성하는 부분에서 CGG가 CAG로 변하여 아르기닌(arginine; Arg)이 글루타민(glutamine; Gln)으로 치환된 것을 확인하여 진단할 수 있었다(Fig. 2). 그리고 Cys168Arg은 X 염색체 상의 Cx32 유전자의 168번 단백질을 합성하는 부분에서 TGC가 CGC로 변하여 시스테인(cysteine; Cys)이 아르기닌(arginine; Arg)으로 치환된 것을 확인하여 CMTX로 진단할 수 있었다.<sup>10</sup> 무증상돌연변이는 Leu10Leu과 Ser198Ser으로 각각 CTC가 CTT로 치환되고 TCT가 TCA로 치환된 것을 확인할 수 있었다. 위

의 모든 경우에 정상 대조군인 남자 53명과 여자 62명을 대상으로 같은 돌연변이 부위에 대하여 검사하였으나 이상이 있는 경우는 한 예도 없었다. 돌연변이 판정의 정확성을 기하기 위하여 PCR 산물을 TA 벡터에 삽입한 후 염기서열을 알아보는 이중 검증을 실시하였는데, 4개의 클론이 모두 돌연변이형을 보여 해당 과오돌연변이 및 무증상돌연변이의 상태를 재확인하였다. 그리고 한국인 환자들을 대상으로 Cx32 유전자검사를 하였을 때, 저자들은 이제까지 보고되지 않았던 새로운 돌연변이들을 발견하게 되었다. Val136Ala 및 Cys168Arg, Ser198Ser의 3가지 변이형이 새로운(novel) 돌연변이임을 확인할 수 있었으며 기존의 변이형에 새로이 한국인에서 발견된 변이형으로 추가할 수 있게 되었다.

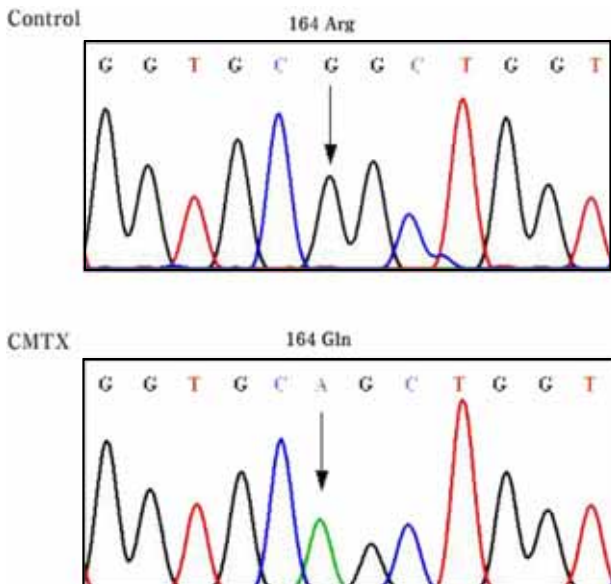
촉진자(promoter) P1 지역의 -48번에서 C가 G로, -228번에서 G가 A로 바뀌는 변이가 각각 3가족에서 발견되었으나 정상 대조군을 대상으로 같은 돌연변이가 있는지를 검사하였을 때 같은 변이가 존재함을 확인하여 이것은 CMTX의 원인 유전 변이가 아닌 단순한 유전자 다형성(polymorphism)인 것으로 판명할 수 있었다(Table 4).

## 2. CMTX와 CMT1A 환자의 임상적 특성

X 염색체 상의 Cx32 유전자에 과오돌연변이가 있었던

**Table 3.** Mutational analysis of the coding region (exon2) in the Cx32 gene of the CMT patients

Mutation	Family number	Family member	Affection state	Genotype	
Leu10Leu (CTC-CTT)	CMT#5	proband (♂)	affection	T	
		father	no	C	
		mother	affection	C/T	
		sister	no	C/C	
	CMT#20	proband (♀)	affection	C/T	
		mother	affection	C/T	
control	male (n=43)	no	C:43		
	female (n=62)	no	C/C:62		
	Val136Ala (GTC-GCC)	CMT#2	proband (♀)	affection	T/C
			mother	no	T/T
sister			no	T/T	
grandmother			no	T/T	
control		male (n=43)	no	T:43	
		female (n=62)	no	T/T:62	
Arg164Gln (CGG-CAG)	CMT#30	proband (♂)	affection	A	
		control male (n=43)	no	G:43	
	control female (n=62)	no	G/G:62		
Cys168Arg (TGC-CGC)	CMT#22	proband (♂)	affection	C	
		control male (n=43)	no	T:43	
	control female (n=62)	no	T/T:62		
Ser198Ser (TCT-TCA)	CMT#2	proband (♀)	affection	T/A	
		mother	no	T/T	
		sister	no	T/T	
		grandmother	no	T/T	
	control	male (n=43)	no	T:43	
		female (n=62)	no	T/T:62	



**Figure 2.** Sequencing analysis of Cx32 gene. Exon 2 region of Cx32 was amplified by the PCR method and sequenced by automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 164th codon is TGC encoding Cys(cysteine) in normal sample, whereas, it is replaced into CAG encoding Arg(arginine) in the patient sample. Green lines: adenosine residues (A); blue lines: cytosine (C); black lines: guanine (G); red lines: thymine (T).

**Table 4.** Mutational analysis of the promoter region and exon1 in the Cx32 gene of the CMT patients

Mutation	Family number	Affection state	Genotype
C-48G (GCT-GGT)	CMT#4	affection	C/G
	CMT#6	affection	G
	CMT#8	affection	C/G
	control male (n=6)	no	C:5, G:1
control female (n=10)	no	C/C:10	
	G-228A (GGG-GAG)	CMT#19	affection
CMT#22	affection	A	
	CMT#34	affection	A
control male (n=9)	no	G:7, A:2	
	control female (n=10)	no	G/G:8, G/A:2

CMTX 환자들의 임상 양상을 CMT 중에서 가장 높은 빈도를 차지하고 있는 PMP22 유전자의 중복이 발견된 CMT1A 환자 34명의 임상 양상과 비교해 보았다. CMTX 환자들은 CMT1A 환자들에 비해서 발병 연령과 질병 기간이 빠른 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 보이지 않았다. 기능저하척도(FDS), 발모양 변형, 근육 위축, 척추 측만증 등의 임상 양상에서도 두 군 사이에는

**Table 5.** Comparison of clinical aspects between the patients with Cx32 missense mutations (CMTX) and the patients with PMP-22 duplications (CMT1A)

	CMTX	CMT1A*
No. of patient	3	34
No. of male (%)	2 (66.7)	13 (38.2)
Onset age (year)	13.7±11.0	22.6±14.7
Disease duration (year)	5.0±4.4	9.9±6.6
FDS <sup>†</sup> (%)		
Low (0 or 1)	1 (33.3)	13 (38.2)
Moderate (2)	1 (33.3)	10 (29.4)
High (≥3)	1 (33.3)	11 (32.4)
Muscular atrophy (%)		
U/E	1 (33.3)	19 (55.9)
L/E	2 (66.7)	29 (85.3)
Foot deformity (%)	3 (100)	30 (88.2)
Scoliosis (%)	1 (33.3)	5 (14.7)
Facial palsy (%)	1 (33.3)	0 (0.0)
Hearing defect (%)	2 (66.7)	0 (0.0)

Values are mean±SD, and percentages are in parentheses.

\*CMT1A patients with chromosome 17p11.2-p12 duplication,

<sup>†</sup>functional disability scale.

유의한 차이를 보이지 않았다. 그런데 CMT1A 환자군에서 관찰되지 않았던 청력장애 및 안면마비 등 뇌신경장애 소견이 CMTX 환자군에서는 각각 2명과 1명에서 관찰되었다(Table 5).

### 3. CMTX와 CMT1A 환자의 전기생리학적 특성

Cx32 유전자 돌연변이가 있는 CMTX 환자들과 PMP22 유전자 중복이 있는 CMT1A 환자의 신경전도 검사 결과를 비교해 보았다(Table 6). CMTX 환자군에서는 정중신경 및 척골신경의 운동신경 전도속도가 38 m/s보다 빠른 경우가 있었다. 따라서 CMTX는 CMT1과 CMT2의 전기생리학적 특성을 모두 보여주었다.

CMTX와 CMT1A 환자군 모두에서 정중신경 운동신경을 측정할 수 없는 경우는 없었다. 그런데 CMT1A 환자군의 경우, 비골신경에서는 60% (15예), 그리고 후경골신경 검사에서는 52% (13예)에서 측정이 불가능하였다. 그리고 CMTX 환자군에서는 척골신경, 비골신경에서 각각 1예씩(33%)에서 측정이 되지 않았다. 감각신경 검사상 CMT1A 환자군에서는 척골신경과 비골신경에서 각각 84% (21예)가 측정되지 않았고, 다음으로 정중신경에서는 80% (20예)가 측정이 불가능하였다. 이에 비하여 CMTX 환자군에서는 정중신경 및 척골신경 검사에

서 각각 1예(33%), 그리고 비골신경에서는 2예(67%)가 측정되지 않았다.

청각장애가 의심되는 모든 환자들을 대상으로 뇌간청각유발전위검사를 하였고 CMTX 환자 2명에서 양쪽 청각신경 전도장애의 소견을 관찰할 수 있었으나 CMT1A 환자군에서는 이상 소견을 가진 경우를 발견할 수 없었다. 안면마비를 보인 환자를 검사하기 위해 안면신경전도검사 및 순목반사를 하였다. 안면신경전도검사상 복합근육활동전위가 작아지거나 신경전도속도가 저하된 소견을 보였으며 순목반사는 양쪽 모두에서 측정이 되지 않았다. 그런데 CMT1A 환자에서는 안면마비의 소견을 보이는 경우가 관찰되지 않았다.

## 고 찰

선천성 질환의 원인 유전자를 분리하고 분자생물학적 발병 기전을 규명하기 위한 연구가 세계적으로 활기를 띠고 있다.<sup>1</sup> 분자유전학의 발전으로 이제까지 확실하지 않던 여러 유전성 질환의 본질이 규명되면서 질병에 대한 진단과 치료의 개념이 변화하고 있으며, 질병의 분류도 많이 달라지고 있는데 대표적인 것으로 주로 하지 비골 근육에서 서서히 진행되는 근력 약화와 위축을 특징으로 하는 CMT 질환을 들 수 있다.<sup>2</sup>

CMT 질환은 병리학적 소견에 의하여 탈수초성 신경병증인 CMT1형과 축삭형 신경병증인 CMT2형으로 나누는데, CMT1형은 다시 유전자 변이에 따라 CMT1A, 1B, 1C로 구분하며 CMT2형은 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F로 나눌 수 있다.<sup>11-14</sup> 그리고 상염색체 열성 유전을 하는 CMT4형은 유전자 변이에 따라 CMT4A에서 4F까지 분류된다.<sup>15-19</sup> 이외에 X 염색체의 변이에 의한 CMTX형과 태생시부터 심한 증상을 보이는 CMT3형이 있다.<sup>20-22</sup> 이중 CMT1A는 CMT 질환 중에서 가장 높은 비율을 차지하며 말초 신경 수초의 단백질을 만드는 데 관여하는 PMP22 유전자를 포함하는 염색체 17p11.2-p12의 중복이 원인으로 알려져 있는데, 대부분에서 중복이 발견되지만 드물게는 PMP22 유전자에서 점성 돌연변이도 관찰된다.<sup>12</sup> 그 외에 MPZ (myelin protein zero) 유전자에서의 돌연변이는 대부분 CMT1B를 유발하는 것으로 알려져 있지만 간혹 CMT2F형을 유발시키기도 한다.<sup>11,23</sup> 그리고 EGR2 (early growth response 2)의 돌연변이는 CMT 1형과 Dejerine-Sottas neuropathy, congenital hypomyelination을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>24</sup>

CMT 질환 중에서 CMT1A 다음으로 높은 빈도를 차지하는 것은 간극 결합을 형성하는 Cx32 유전자의 변이에 의해 발생하는 CMTX형이 알려져 있다.<sup>34</sup> 이러한 간극 결합은 주로 주변 세포들 사이에서 세포간 채널 (intercellular channels)을 형성하고 있으며 말초신경계 뿐만 아니라 간, 콩팥, 폐, 위 및 중추신경계 등 체내의 많은 조직들에서 발현된다.<sup>25</sup> 또한 Cx32 유전자는 말초

**Table 6.** Comparison of electrophysiological aspects between the patients with Cx32 missense mutations (CMTX) and the patients with PMP-22 duplications (CMT1A)

	CMTX (n=3)				CMT1A* (n = 25)		
	CMT#2	CMT#22	CMT#30	range	mean	SD <sup>†</sup>	range
<b>Median motor nerve</b>							
DML (ms)	27.1	4.8	4.2	4.2~27.1	8.9	3.3	4.1~18.9
CMAP (mV)	0.2	1.6	6.2	0.2~6.2	5.7	3.5	0.3~11.7
MNCV (m/s)	20.0	30.7	42.7	20.0~42.7	21.3	6.9	2.4~36.0
<b>Ulnar motor nerve</b>							
DML (ms)	ND	2.4	3.8	2.4~ND	6.0	1.4	3.2~8.0
CMAP (mV)	ND	3.9	10.1	ND~10.1	6.8	3.9	0.1~13.4
MNCV (m/s)	ND	32.0	41.8	ND~41.8	20.1	6.9	9.3~35.2
<b>Peroneal nerve</b>							
DML (ms)	18.6	ND	5.3	5.3~ND	8.0	2.0	5.5~ND
CMAP (mV)	0.4	ND	0.3	ND~0.4	2.3	1.6	ND~5.3
MNCV (m/s)	14.2	ND	27.3	ND~27.3	21.0	6.3	ND~27.8
<b>Tibial nerve</b>							
DML (ms)	ND	5.2	6.1	5.2~ND	8.8	2.0	6.3~ND
CMAP (mV)	ND	0.5	1.8	ND~1.8	4.7	3.1	ND~9.5
MNCV (m/s)	ND	25.2	37.5	ND~37.5	23.3	5.7	ND~32.7
<b>Median sensory nerve</b>							
SNAP (μV)	ND	20.4	11.6	ND~20.4	6.9	3.6	ND~10.0
SNCV (m/s)	ND	35.0	33.9	ND~35.0	22.3	3.6	ND~25.4
<b>Ulnar sensory nerve</b>							
SNAP (μV)	ND	10.0	6.4	ND~10.0	6.5	2.4	ND~8.8
SNCV (m/s)	ND	34.2	32.0	ND~34.2	20.0	7.0	ND~30.3
<b>Sural nerve</b>							
SNAP (μV)	ND	6.0	ND	ND~6.0	7.7	3.5	ND~10.4
SNCV (m/s)	ND	22.2	ND	ND~22.2	20.4	1.2	ND~21.6

DML, distal motor latency, CMAP; compound muscle action potential, MNCV; motor nerve conduction velocity, SNAP; sensory nerve action potential, SNCV; sensory nerve action potential, ND; not determined, \*CMT1A patients with chromosome 17p11.2-p12 duplication, <sup>†</sup> standard deviation

신경계의 수초 단백질인 Schwann cell뿐만 아니라 중추성 수초 단백질인 oligodendrocyte에서도 발현이 되므로 Po나 PMP-22 등 말초신경계 수초 단백질에만 발현되는 유전자의 이상에 의해 발생하는 다른 CMT 질환들과는 달리 뇌신경 및 중추신경계에서의 병변도 보고되어 있다.<sup>5,6,21</sup>

본 연구에서 Cx32 유전자의 과오돌연변이를 보이는 CMTX 환자는 전체 48 가족 중 3가족으로 6.3%에 해당하였다. 이 수치는 같은 아시아 국가인 일본<sup>26</sup>의 5.6%와는 유사하지만 유럽 국가들인 핀란드<sup>27</sup>(20.7%), 러시아<sup>28</sup>(13.0%), 독일<sup>29</sup>(11.9%) 등과 비교하면 절반에도 못 미치는 빈도임을 알 수 있다. 이제까지의 연구 결과들을 보면 많은 유전병들이 유전적 이질성을 보이며, 질병의 종류, 발병 시기, 진행 양상은 인종에 따라 큰 차이를 보였다.<sup>23-29</sup> 따라서 동일한 유전병에 대해서도 집단에 따른

유전적 원인 분석이 이루어져야 할 것이다. 그러므로 앞으로 보다 많은 연구가 있어야 하겠지만 CMT 질환에 있어서도 동양과 서양에는 인종 및 지역간의 차이가 있을 것으로 생각된다.

저자들이 CMTX 환자와 CMT1A 환자들의 임상 양상을 서로 비교해 보았을 때, 발병 연령, 질병의 심한 정도와 근육 위축 등에서는 유의한 차이가 없다는 사실을 발견하였다. 이것이 오랫동안 CMTX가 CMT1형의 한 아형으로 포함되었던 이유가 되었을 것으로 추정된다.<sup>2,30</sup> 그런데 CMT1A에 비해서 CMTX 환자들이 가지는 또 다른 특성은 뇌신경을 침범한 증상을 보일 수 있다는 것이다.<sup>5,6</sup> 본 CMTX 환자들에서도 청각신경 전도장애 및 안면마비 등이 관찰되었다. 그리고 CMTX는 유전자 변이가 X 염색체에 위치하므로 아버지에서 아들로만 유전되지 않으며, 남자 환자는 여자 환자보다 신경전도속

도의 저하 및 임상 양상이 심하게 나타나는 특징이 있다고 알려져 있다.<sup>5</sup> 본 연구에서도 아버지에서 아들로 유전되는 경우는 없었고, 2가족에서 어머니는 증상이 가벼워서 일상 생활을 영위하는 데 별다른 지장이 없었으나 아들은 발 모양의 변형이 심하고 걷는 데 장애가 있는 등 임상 증상이 여자보다 남자에서 심한 것이 발견되었다. 그러나 증례수가 적어서 남자 환자와 여자 환자들의 임상적 및 전기생리학적 차이를 통계적으로 비교할 수는 없었으며, 앞으로 보다 많은 환자들을 대상으로 조사 분석할 필요가 있다고 생각된다. 따라서 CMTX 환자와 CMT1A와 비교할 때에는 X 염색체 우성 유전을 한다는 것과 뇌신경을 침범한 증상을 보일 수 있다는 점을 감별의 대상으로 삼아야 할 것으로 생각된다.

CMTX 질환이 근본적으로 축삭형 신경병증인지 혹은 탈수초성 신경병증인지에 대해서는 아직까지도 서로 다른 의견들이 존재하고 있다.<sup>7,8</sup> CMTX는 말초신경의 수초 단백질 장애로 인해 발생하는 질환이지만 그 병인이 축삭형 신경병증인지 혹은 탈수초성 신경병증인지에 대해서는 아직도 의견의 일치를 보지 못하고 있다.<sup>5-8</sup> 일부 학자들은 축삭형 신경병증을 보인다고 주장한 반면, 일부에서는 탈수초성 신경병증이라고 보고하였다.<sup>6-8</sup> 그런데 Fischbeck 등<sup>8</sup>은 축삭형 신경병증을 가진 2가족과 탈수초성 신경병증을 가진 1가족을 동시에 보고하였으며, Vital 등<sup>6</sup>은 신경조직검사상 CMTX 환자들은 축삭 소실과 재수초화(remyelination)를 모두 보였다고 하였다. 또한 CMTX 환자의 신경전도검사상 남자에서는 25~40 m/s, 여자에서는 25~50 m/s를 보인다고 알려져 있으며 CMT 1형과 CMT 2형의 중간형에 해당한다고 하는 보고도 있었다.<sup>4,5</sup> 저자들은 CMTX와 CMT1A 환자들에서 신경전도속도의 범위를 조사하였다. PMP22 유전자의 중복이 확인된 CMT1A 환자군에서는 정중신경의 전도속도가 2.4~36.0 m/s로 38 m/s보다 빠른 경우는 관찰되지 않았으며 탈수초성 신경병증에 합당한 소견을 보였다. 그런데 Cx32 유전자변이가 있는 CMTX 환자들의 정중신경 전도 속도는 20.0~42.7 m/s로 이전에 보고된 결과와 일치하였으며 탈수초성 신경병증과 축삭형 신경병증에 모두 해당한다고 할 수 있었다. 특히 CMT#30 환자의 신경전도속도검사 결과는 축삭형 신경병증에 해당하다고 생각되었다. 그런데 CMT#2, 22 환자의 경우에는 탈수초성 신경병증의 소견을 보이고 있었으며 CMT1A 환자군에서 보이는 소견과 대부분 일치하고 있었으므로 전기생리학적검사 결과판으로는 감별에 어려움이 있음을 알 수 있었다. 그러나 단면적 연구(cross-section study)의 결과보다는 추적 검사를 통한 전향적 연구(cohort study)의 결과가 필요하다고 생각되며 앞으로 이러한 부분에 대해서는 추후에 보다 많은 한국인 CMTX 환자들을 대상으로 전향적인 추적 연구 조사를 하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구를 통하여 한국인에서 CMT 질환을 유발하는

돌연변이 및 새로운 유전자들을 찾을 수 있었고, 이 결과는 CMT 질환의 발병 및 진행 과정에 대한 분자유전학적 기초를 이해하는 데 도움이 되며, 이와 함께 한국인에게 적합한 CMT 진단 및 치료법을 개발하는 데 도움이 될 것이다. 또한 어느 가계가 X 염색체와 연관된 Cx32 유전자의 돌연변이로 원인이 밝혀졌다면, 아버지의 질병은 100% 딸에게 전달되지만, 아들에게는 질병이 전혀 전달되지 않을 것이므로 본 연구의 결과는 CMTX 가계의 중요한 유전상담 자료로도 활용될 수 있을 것이다.

## REFERENCES

- Berger P, Young P, Suter U. Molecular cell biology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurogenetics* 2002;4:1-15.
- Harding AE. From the syndrome of Charcot, Marie and Toth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995;118:809-818.
- Herringham WP. Muscular atrophy of the peroneal type affecting many members of a family. *Brain* 1889;11:230-236.
- Bergoffen J, Scherer SS, Wang S, Scott MO, Bone LJ, Paul DL, et al. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science* 1993;262:2039-2042.
- Hahn AF, Bolton CF, White CM, Brown WF, Tuuha SE, Tan CC et al. Genotype/phenotype correlations in X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *Ann N Y Acad Sci* 1999;883:366-382.
- Vital A, Ferrer X, Laguény A, Vandenberghe A, Latour P, Goizet C, et al. Histopathological features of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease in 8 patients from 6 families with different connexin32 mutations. *J Peripher Nerv Syst* 2001;6:79-84.
- Birouk N, LeGuern E, Maisonneuve T, Rouger H, Guider R, Tardieu S, et al. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 mutations: clinical and electrophysiologic study. *Neurology* 1998;50:1074-1082.
- Fischbeck KH, ar-Rushdi N, Pericak-Vance M, Rozear M, Roses AD, Fryns JP. X-linked neuropathy: gene localization with DNA probes. *Ann Neurol* 1986;20:527-532.
- Choi BO, Chung KW, Kim SM, Park KD, Lee MS, Shin SH, et al. A novel V136A mutation in Cx32 and a R359W mutation in EGR2 within a Charcot-Marie-Tooth patient. *J Korean Neurol Assoc* 2004;22:80-83.
- Choi BO, Sunwoo IN, Park KD, Kim YJ, Choi KG, Lee MS, et al. X-linked Charcot-Marie-Tooth patient with a novel Cys168Arg missense mutation in the connexin32 gene. *J Korean Neurol Assoc* 2004;22:76-79.
- Marrosu MG, Vaccargiu S, Marrosu G, Vannelli A, Cianchetti C, Muntoni F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. *Neurology* 1998;50:1397-1401.
- 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.
- Ben Othmane K, Middleton LT, Loprest LJ, Wilkinson KM,



- Lennon F, Rozear MP, et al. Localization of a gene (CMT2A) for autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 2 to chromosome 1p and evidence of genetic heterogeneity. *Genomics* 1993;17:370-375.
14. Igarashi M, Thompson EI, Rivera GK. Vincristine neuropathy in type 1 and type 2 Charcot-Marie-Tooth (hereditary motor and sensory neuropathy). *Med Pediatr Oncol* 1995;25:113-116.
  15. Guilbot A, Williams A, Ravise N, Verny C, Brice A, Sherman DL, et al. A mutation in periaxin is responsible for CMT4F, an autosomal recessive form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mol Genet* 2001;10:415-421.
  16. Senderek J, Bergmann C, Weber S, Ketelsen UP, Schorle H, Rudnik-Schoneborn S, et al. Mutation of the SBF2 gene, encoding a novel member of the myotubularin family, in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 4B2/11p15. *Hum Mol Genet* 2003;12:349-356.
  17. Boerkoel CF, Takashima H, Stankiewicz P, Garcia CA, Leber SM, Rhee-Morris L, et al. Periaxin mutations cause recessive Dejerine-Sottas neuropathy. *Am J Hum Genet* 2001;68:325-333.
  18. Nelis E, Erdem S, Van Den Bergh PY, Belpaire-Dethiou MC, Ceuterick C, Van Gerwen V, et al. Mutations in GDAP1: autosomal recessive CMT with demyelination and axonopathy. *Neurology* 2002;59:1865-1872.
  19. Senderek J, Bergmann C, Ramaekers VT, Nelis E, Bernert G, Makowski A, et al. Mutations in the ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 (GDAP1) gene in intermediate type autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* 2003;126:642-649.
  20. Simonati A, Fabrizi GM, Taioli F, Polo A, Cerini R, Rizzuto N. Dejerine-Sottas neuropathy with multiple nerve roots enlargement and hypomyelination associated with a missense mutation of the transmembrane domain of MPZ/P0. *J Neurol* 2002;249:1298-1302.
  21. Scherer SS, Deschenes SM, Xu YT, Grinspan JB, Fischbeck KH, Paul DL. Connexin32 is a myelin-related protein in the PNS and CNS. *J Neurosci* 1995;15:8281-8294.
  22. Bone LJ, Deschenes SM, Balice-Gordon RJ, Fischbeck KH, Scherer SS. Connexin32 and X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurobiol Dis* 1997;4:221-230.
  23. Hattori N, Yamamoto M, Yoshihara T, Koike H, Nakagawa M, Yoshikawa H, et al. Demyelinating and axonal features of Charcot-Marie-Tooth disease with mutations of myelin-related proteins (PMP22, MPZ and Cx32): a clinicopathological study of 205 Japanese patients. *Brain* 2003;126:134-151.
  24. Warner LE, Svaren J, Milbrandt J, Lupski JR. Functional consequences of mutations in the early growth response 2 gene (EGR2) correlate with severity of human myelinopathies. *Hum Mol Genet* 1999;8:1245-1251.
  25. Kumar NM, Gilula NB. Cloning and characterization of human and rat liver cDNAs coding for a gap junction protein. *J Cell Biol* 1986;103:767-776.
  26. Numakura C, Lin C, Ikegami T, Guldberg 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.
  27. Silander K, Meretoja P, Juvonen V, Ignatius J, Pihko H, Saarinen A, et al. Spectrum of mutations in Finnish patients with Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies. *Hum Mutat* 1998;12:59-68.
  28. Mersyanova IV, Ismailov SM, Polyakov AV, Dadali EL, Fedotov VP, Nelis E, et al. Screening for mutations in the peripheral myelin genes PMP22, MPZ and Cx32 (GJB1) in Russian Charcot-Marie-Tooth neuropathy patients. *Hum Mutat* 2000;15:340-347.
  29. Huehne K, Benes V, Thiel C, Kraus C, Kress W, Hoeltzenbein M, et al. Novel mutations in the Charcot-Marie-Tooth disease genes PMP22, MPZ, and GJB1. *Hum Mutat* 2003;21:100.
  30. Chance PF, Pleasure D. Charcot-Marie-Tooth syndrome. *Arch Neurol* 1993;50:1180-1184.