

Cx32 유전자에서 새로이 발견된 돌연변이 V136A와 EGR2 유전자 돌연변이 R359W를 보인 Charcot-Marie-Tooth 환자

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실, 공주대학교 생명과학과*, 연세대학교 의과대학 신경과학교실[†],
연세대학교 원주의과대학 신경과학교실[‡]

최병옥 정기화* 김승민[†] 박기덕 이미선* 신상희* 이지용[‡] 선우일남[‡]

A Novel V136A Mutation in Cx32 and a R359W Mutation in EGR2 within a Charcot-Marie-Tooth Patient

Byung Ok Choi, M.D., Ki Wha Chung, Ph.D.*, Seung-Min Kim, M.D.[†], Kee-Duk Park, M.D.,
Mi Sun Lee*, Sang Hee Shin*, Jiyong Lee, M.D.[‡], Il Nam Sunwoo, M.D.[‡]

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[†], Seoul;
Department of Neurology, Yonsei University Wonju College of Medicine[‡], Wonju, Korea

Mutations of the CMT genes develop a variety of distinct phenotypes. Cx32 gene mutations cause the X-linked form of CMT disease, and mutations in EGR2 are associated with CMT type 1, DSS, and congenital hypomyelination neuropathy. Her parents, grandmother and sister did not show the V136A mutation in Cx32. We report the first CMT patient with EGR2 and Cx32 mutations.

J Korean Neurol Assoc 22(1):80~83, 2004

Key Words: Charcot-Marie-Tooth disease, Cx32, EGR2, Mutation

Charcot-Marie-Tooth (CMT)는 선천성 신경 질환 중에서 가장 흔한 것으로 알려져 있다.¹ 이중 X 염색체에 위치하는 간극 결합(gap junction)을 형성하는 connexin32 (Cx32) 유전자의 변이에 의한 X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX)는 CMT1A 다음으로 높은 빈도를 차지하고 있다.² 또한 Early growth

response 2 (EGR2) 유전자 변이는 CMT type 1, Dejerine-Sottas syndrome (DSS)과 congenital hypomyelination neuropathy를 일으키는 것으로 알려져 있다.³

저자들은 X 염색체상의 Cx32 유전자 돌연변이를 가진 한국인 CMT 환자에서 이전에 보고 되지 않았던 V136A의 새로운(novel) 돌연변이를 탐색하였으며, 또한 부모에서는 유전자의 이상이 없이 본인부터 시작된(*de novo*) 돌연변이임을 확인하였고, 이와 함께 EGR2 유전자의 돌연변이를 발견하였기에 보고하는 바이다.

Received June 11, 2003
Accepted August 14, 2003

* Address for correspondence

Ki Wha Chung, Ph.D.

Department of Biological Science, Kongju National University
182 Singwan-dong, Gongju-si, Chungnam, 314-701, Korea
Tel : +82-41-850-8506 Fax : +82-41-850-8479
E-mail : kwchung@kongju.ac.kr

* 본 연구는 한국과학재단의 목적기초연구(지역대학우수과학자지원 연구 R05-2003-000-11496) 및 공주대학교 자원재활용신소재연구센터(B7003)의 지원에 의한 것임

증례

5세 여자가 서서히 진행되는 양 상하지의 근위축을 주소로 신경과에 의뢰되었다. 환자는 성장 과정에서 뒤집기, 고개 가르기 등은 정상이었으며 15개월에 걸기 시작

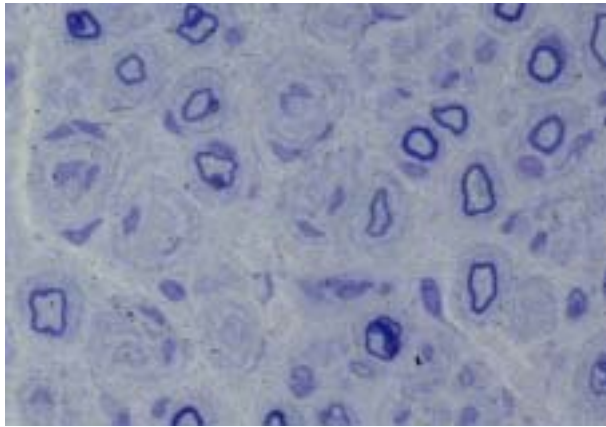


Figure 1. Onion bulb formation. Semithin section of sural nerve from the patient shows characteristic concentric Schwann cell cytoplasmic processes surrounding a myelinated axon (Toluidine blue $\times 200$).

하였다. 2세경에 손가락 관절이 구부러지는 것을 발견하였으며 3세경에는 눈을 감는 데 장애가 있었고 울거나 웃을 때 양측 안면마비 증상을 보인다는 것을 발견하였다. 그 후 4세경부터 양 손에 힘이 없고 안으로 구부러지는 양상을 보였고, 달리기를 하면 자주 넘어지는 증상을 보였다.

내원 당시에는 양측 손가락 관절이 변형되어 있었고 종아리 근육이 대퇴부에 비해 현저하게 가늘어져 있었다. 그리고 신경학적검사상 눈을 감을 때 완전히 감기지

않는 등, 양측 안면의 마비 증상이 관찰되었다. 근력검사상 손의 악력은 GIV/GIV였으며 손가락의 외전과 내전은 각각 GIV를 보였다. 양 하지의 배측 굴곡은 GI이었고 족저 굴곡은 GV였다. 감각신경검사상에서는 이상 소견을 보이지 않았다. 심부건반사는 사지에서 모두 저하되었고 병적인 반사는 보이지 않았다. 시각검사상에서는 별다른 이상이 없었으나 가벼운 청각장애가 있었다.

신경전도검사상 우측 정중신경, 척골신경 및 비골신경에서 말단 잠복기가 길어졌고, 복합근육 활동전위(compound muscle action potentials; CMAP)의 진폭이 감소되었으며 운동신경 전도 속도가 저하되었다. 그리고 후경골신경에서는 복합근육활동전위가 관찰되지 않았다. 감각신경전도검사상 우측 정중신경, 척골신경과 비골신경에서 감각신경활동전위(sensory nerve action potentials; SNAP)가 관찰되지 않았다.

환자는 3세경부터 안면마비 증상을 보이기 시작했으며 이를 검사하기 위해 안면신경전도검사 및 순목반사(blink reflex)를 시행하였다. 안면신경전도검사상 복합근육활동전위가 감소되고 및 신경 전도 속도가 저하되었으며 순목반사는 양측 모두에서 측정을 할 수 없었다. 뇌간척각유발전위검사상 양쪽에서 청각신경 전도장애의 소견을 관찰할 수 있었다.

비복신경의 조직검사를 하였다. Semithin section에서는 양파 껍질(onion bulb) 모양의 구조를 보였고 신경 섬유 탈수초화가 심하고, 결체 조직으로 바뀌어 가는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1).

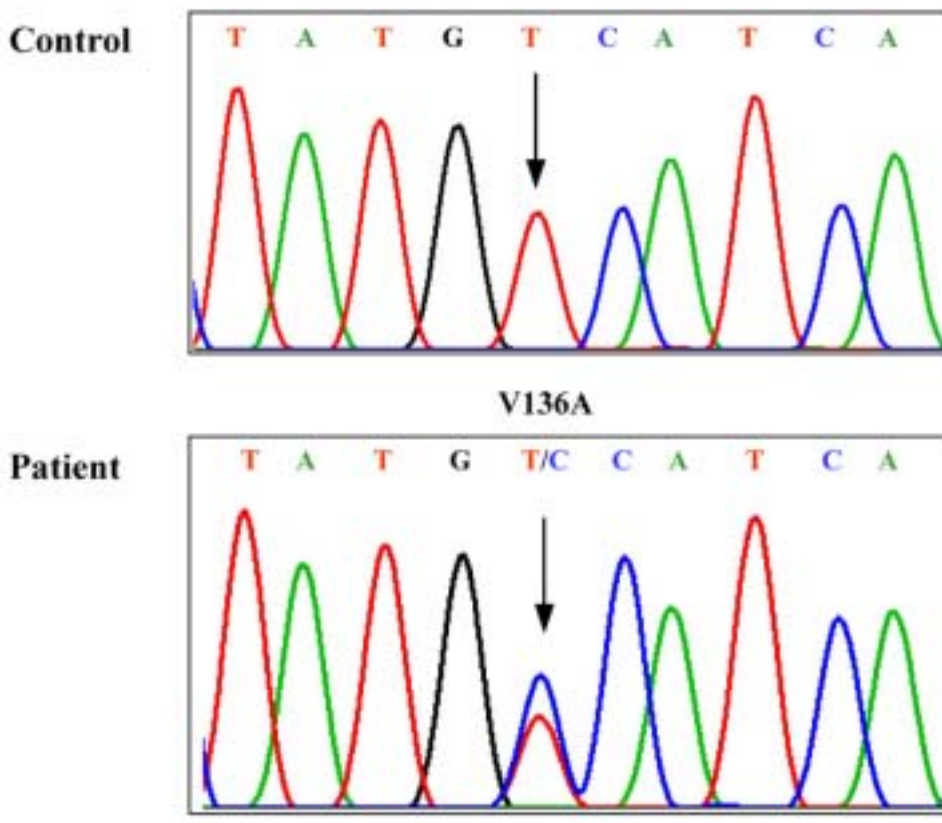


Figure 2. Sequencing analysis of Cx32 gene. Exon 2 region of Cx32 is amplified by the PCR method and sequenced by automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 136th codon is GCC encoding Valine (V) in control sample, whereas, it is replaced into GTC encoding Alanine (A) in the CMT patient sample. Green lines; adenosine residues (A), blue lines; cytosine (C), black lines; guanine (G), red lines; thymine (T)

Cx32 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 Cx32 유전자의 promoter (P1 및 P2), exon 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, sequencing을 시행하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. 환자는 X 염색체 상의 Cx32 유전자의 2번째 exon의 136번 단백질을 합성하는 부분에서 GTC가 GCC로 변하여 발린(valine; V)이 알라닌(alanine; A)으로 치환된 것을 확인하여 CMTX로 진단할 수 있었다(Fig. 2). 이 돌연변이 부위에 대하여 정상 대조군인 남자 50명과 여자 50명에서도 같은 부위를 검사하였으나 모두 정상으로 관찰되었다. 또한 환자 Cx32 유전자의 198번 단백질을 합성하는 부분에서 TCT가 TCA로 변하였으나 단백질은 세린(serine; S)에서 세린(S)으로 변화가 없어서 silent mutation인 것을 알 수 있었고 이 부위에 대하여 정상 대조군 100명에서도 같은 부위를 검사하였으나 이상이 있는 경우는 한 예도 없었으므로 다형성이 아닌 돌연변이로 확인할 수 있었다. 그리고 본 환자의 가족 구성원인 아버지, 어머니, 할머니와 언니에서도 같은 부위에 대해서 염기서열을 조사하였으나 모두 정상이었다. 따라서 V136A missense 돌연변이와 S198S silent mutation은 환자에서만 관찰되고 부모로부터 유전되지는 않은 것으로 밝혀졌으므로, 본인부터 변이가 시작된(*de novo*) 돌연변이로 확인할 수 있었다.

이와 함께 EGR2 돌연변이를 관찰하기 위해 sequencing을 하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. 환자는 EGR2 유전자의 2번째 exon의 359번 단백질을 합성하는 부분에서 염기서열이 CGG에서 TGG로 변형되어 있으

며 아르기닌 (arginine; R)이 트립토판 (tryptophan; W)으로 치환된 것을 확인하여 R359W 돌연변이로 진단할 수 있었다(Fig. 3).

고 찰

CMT는 과거에는 하지 원위부의 근위축으로 인하여 샴페인 병을 거꾸로 세운 듯한 다리 모양을 하는 질환으로 비교적 단순하게 인식되어 왔으나 현재는 여러 질환이 함께 있는 하나의 질환군(syndrome)으로 인식되고 있다.⁴ CMT1A 다음으로 높은 빈도를 차지하는 것은 CMTX형으로 보고되어 있으며 간극 결함을 형성하는 Cx32 유전자의 변이에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다.⁵ 이러한 간극 결함은 주로 주변 세포들 사이에서 세포간 채널(intercellular channels)을 형성하고 있으며 말초신경계뿐만 아니라 간, 콩팥 및 중추신경계 등 체내의 많은 조직에 분포되어 있다.⁶ 또한 Cx32 유전자는 말초신경계의 수초 단백질인 Schwann cell뿐만 아니라 중추성 수초 단백질인 oligodendrocyte에서도 발현이 되므로 다른 CMT와는 달리 중추신경계에서의 병변도 보고되어 있다.⁷ 또한 EGR2 유전자는 말초신경의 수초 형성에 중요한 역할을 하는 zinc-finger 전사인자(transcription factor)에 포함되어 있으며 이 유전자의 돌연변이는 CMT type 1이나 DSS, 혹은 congenital hypomyelination neuropathy 를 일으키는 것으로 알려져 있다.³

저자들이 발견한 새로운 돌연변이(V136A)는 염기서열이 GTC에서 GCC로 바뀌면서 Cx32 유전자의 2번째

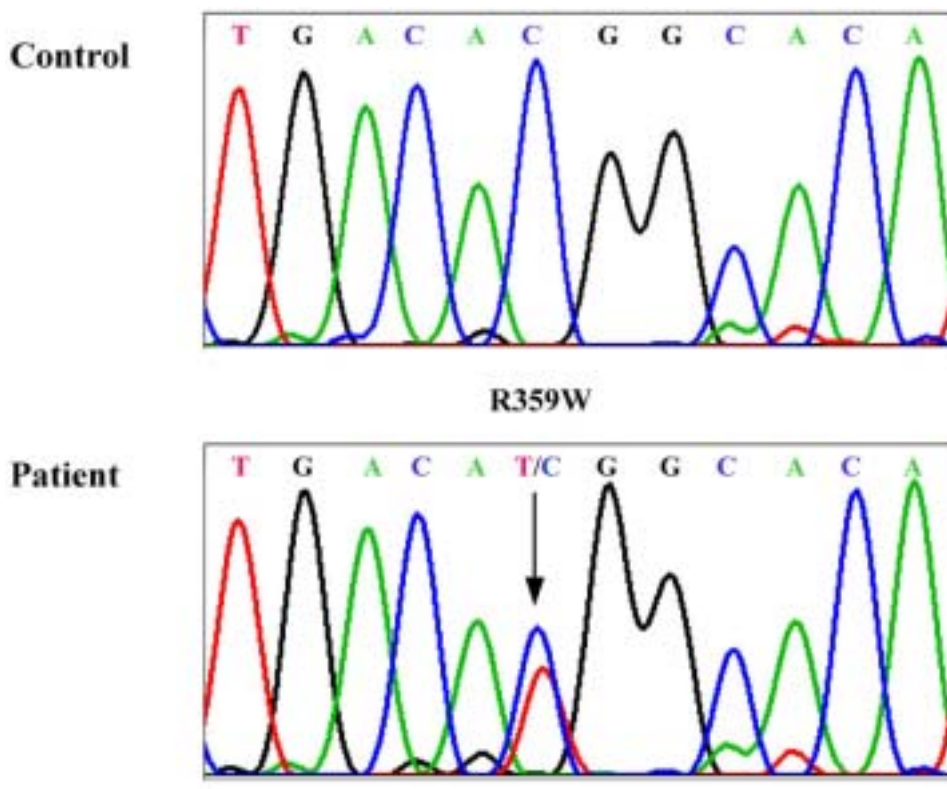


Figure 3. Sequencing analysis of EGR2 gene. Exon 2 region of EGR2 is amplified by the PCR method and sequenced by automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 359th codon is CGG encoding Arginine (R) in control sample, whereas, it is replaced into TGG encoding Tryptophan (W) in the CMT patient sample. Green lines; adenosine residues (A), blue lines; cytosine (C), black lines; guanine (G), red lines; thymine (T)

exon의 136번째 codon의 아미노산인 발린이 알라닌으로 치환되는 형태이다. 이 136번째 발린의 가운데 염기서열인 T에서 C로의 치환이 다형성(polymorphism)이 아닌 돌연변이(mutation)임을 증명하기 위해서 정상 대조군의 염기서열을 비교하였는데 환자를 제외하고는 대조군에서 같은 염기서열의 치환은 관찰되지 않았다. 아울러 환자의 가족들(아버지, 어머니, 할머니 및 언니)에서는 돌연변이가 관찰되지 않았으므로, V136A 변이는 환자에서 처음으로 발생하게 되었다는 사실(*de novo*)을 확인할 수 있었다. 그리고 CMT 유전자 돌연변이 사이트(<http://molgen-www.uia.ac.be/CMTMutations>)에서 확인한 바에 따르면 아직 보고 되지 않은 새로운(*novel*) 돌연변이임을 확인할 수 있었다. 이 환자에서의 염기서열 변이에 대한 정확성을 기하기 위하여 PCR 산물을 TA 벡터(Promega, USA)를 이용하여 클로닝한 후 6개의 클론에 대한 염기서열의 검증을 실시하였는데, 해당 염기서열에서 2개 클론 및 4개의 클론이 각각 T와 C를 보여 돌연변이가 T/C의 이형접합 상태임을 재확인할 수 있었다.

CMTX는 말초신경의 수초 단백질 장애로 인해 발생하는 질환이지만 그 병인이 축삭형 신경병증인지 혹은 탈수초성 신경병증인지에 대해서는 아직도 의견의 일치를 보지 못하고 있다.⁸ 그런데 이번에 저자들이 관찰한 환자에서는 정중신경의 신경 전도 속도가 38 m/s 이하이고, 신경조직검사상 양파 껍질 변성이 현저하게 보인 점 등으로 보아 탈수초성 신경병증이라고 하는 것이 더 타당하다고 생각된다. 그러나 이 부분에 대해서는 추후에 보다 많은 한국인 CMTX 환자들을 대상으로 연구 조사하는 것이 필요할 것이라고 생각된다.

저자들이 관찰한 또 다른 특징의 하나는 기존의 CMT 환자들에서는 보이지 않았던 양측성 안면마비를 보인다는 점이었다. 말초신경 수초단백질이 손상되는 CMTX 환자에서 안면마비의 증상은 가능할 수 있겠지만 실제로는 선천성 질환으로 만성적인 경과를 가지기 때문에 무증상(subclinical symptom)으로 나타나며 Cx32 유전자의 변이를 보인 환자에서 안면마비를 보였다는 보고는 아직 없었다. Glocker 등⁹에 의하면 CMT3형인 Dejerine-Sottas neuropathy에서는 안면마비 증상을 보였으나 CMT1형에서는 19예 중 17예에서 안면신경 전도검사상 이상 소견을 보였지만 안면마비의 임상 증상을 나타내는 경우는 없었다고 한다. 그런데 같은 탈수초성 질환인 GBS (Gullain-Barre syndrome)와 비교해 보았을 때, 비록 신경전도검사 결과는 CMT1형 환자들

에서 GBS 환자보다 현저하게 심한 이상 소견을 보였지만, 안면마비의 증상은 GBS 환자에서만 관찰되었다고 한다.⁹ 따라서 CMT 환자에서 안면신경의 탈수초 현상은 있지만 임상 증상으로서의 안면마비는 무증상으로 나타난다는 보고들이 다수 있었다.^{9,10} 그러므로 본 환자에서 양측성 안면마비 증상을 보인 것은 사지 및 안면신경에서의 탈수초 현상이 매우 심한 상태였기 때문에 발생되었을 것으로 생각된다.

저자들은 X 염색체의 Cx32 유전자에 새로운 돌연변이를 가지고 동시에 EGR2 유전자의 돌연변이를 가진 환자를 보았기에 보고하는 바이다.

REFERENCES

- Harding AE. From the syndrome of Charcot, Marie and Tooth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995; 118:809-818.
- 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 NY Acad Sci* 1999;883:366-382.
- Shy ME, Garbern JY, Kamholz J. Hereditary motor and sensory neuropathies: a biological perspective. *Lancet Neurol* 2002;1:110-118.
- Chance PF, Pleasure D. Charcot-Marie-Tooth syndrome. *Arch Neurol* 1993;50:1180-1184.
- Bergoffen J, Scherer SS, Wang S, Oronzi SM, Bone LJ, Paul DL et al. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science* 1993;262:2039-2042.
- 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.
- 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.
- Birouk N, LeGuern E, Maissonobe T, Rouger H, Gouider R, Tardieu S, et al. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 mutations: clinical and electrophysiologic study. *Neurology* 1998;50:1074-1082.
- Glocker FX, Rosler KM, Linden D, Heinen F, Hess CW, Lucking CH. Facial nerve dysfunction in hereditary motor and sensory neuropathy type I and III. *Muscle Nerve* 1999;22:1201-1208.
- Malin JP. Trigeminal and facial nerve involvement in Charcot-Marie-Tooth disease. An electrodiagnostic study. *J Neurol* 1981;226:101-109.