# 특발성 저신장증환아에서 성장호르몬 수용체의 돌연변이 및 부분적 성장호르몬 저항성

연세대학교 대학원

의과학사업단

정 소 정

# 특발성 저신장증환아에서 성장호르몬 수용체의 돌연변이 및 부분적 성장호르몬 저항성

지도 김 덕 희 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2000년 12월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

정 소 정

# 정소정의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

## 연세대학교 대학원

2000년 12월 일

# 감사의 글

본 논문의 연구계획에서부터 완성에 이르기까지 지도 편달하여 주신 김덕희 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 여러면에서 조언해 주신 허갑범 교수님, 실험을 시작부터 끝까지 진행할 수 있도록 도와주시고 논문을 수정해주신 유경자 교수님, 항상 여러가지 지도편달을 주시는 이현철 교수님, 그리고 사랑과 관심으로 늘 격려해주시고 지도해주신 남궁란 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

또한 매 순간 많은 조언을 주신 이진성 교수님께도 깊은 감사를 드립니다. 본 논문의 계획과 진행단계에서 항상 함께 고민하고 실험에 도움을 주신 천민석, 감경윤, 박용빈, 신정우 선생님을 비롯한 내분비 연구소의 여러분께 감사의 마음을 전합니다. 아울러 연구를 진행하는 동안 도와주신 세브란스병원 소아과 의국원 여러분들의 도움에 감사드립니다.

끝으로 오늘의 제가 있도록 사랑과 헌신으로 보살펴주신 부모님과 따뜻하게 격려해주신 시부모님, 항상 곁에서 용기를 주고 조언을 해주는 사랑하는 남편과 아이들에게 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

# 차 례

# 그 림 차 례



# 표 차 례

국문요약

## 특발성 저신장증환아에서 성장호르몬 수용체의 돌연변이 및 부분적 성장호르몬 저항성

특발성 저신장증은 내분비 질환, 염색체이상, 만성질환 등 알려져 있는 저신장증의 원인들이 모두 배제된 저신장증이다. 특발성 저신장증에서 성장호르몬농도는 성장호르몬 결핍증보다는 증가되어 있고 IGF-I 농도는 정상 범위에 있으나 낮은 편에 속한다. 특발성 저신장증에서는 성장호르몬 농도가 정상임에도 불구하고 저신장증을 나타내므로 성장호르몬 수용체의 이상으로 인한 성장호르몬 저항성이 관련되어 있을 것으로 생각되고 있다. 국내에는 특발성 저신장증에서 성장호르몬 저항성에 대한 연구가 없는 상태이다. 본 연구에서는 특발성 저신장증에서 부분적 성장호르몬 저항성의 존재 유무를 조사하고 성장호르몬 저항성이 성장호르몬 수용체 유전자의 이상에서 기인되는지 알아보고자 하였다. 25명의 특발성 저신장증 환아와 30명의 정상 대조군을 대상으로 성장호르몬 수용체 유전자를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

특발성 저신장증 환아에서 성장호르몬 저항성 평가를 위하여 IGF-I 생성검사를 시행한 결과 IGF-I 농도는 유의한 증가를 보였다. 그러나 IGFBP-3 농도 및 IGF-I과 IGFBP-3 비율은 성장호르몬 투여 전 후에 유의한 차이가 없었다. 성장호르몬 투여에 대한 반응도와 신장표준편차지수변화의 상관성을 볼 때 delta IGF-I의 증가에 따른 delta HTSDS의 증가가 유의하지 않아 IGF-I의 증가에도 불구하고 이에 따른 유의한 성장촉진효과가 관찰되지 않았다. Delta IGFBP-3와 delta HTSDS사이에도 유의한 상관성이 관찰되지 않았다. 이는 특발성 저신장증 환아에서 부분적 성장호르몬 저항성이 존재함을 의미한다.

특발성 저신장증 환아 25명과 정상 대조군 30명에서 성장호르몬 수용체 유전자를 분석한 결과 exon 6상에 있는 168번째 아미노산을 이루는 염기서열 중 세번째 염기 adenine이 guanine으로 치환된 점돌연변이가 존재하는 것을 확인하였으며 합성되는 아미노산은 같은 polymorphism으로 추정되는 소견이었다. 168번째 아미노산의 점돌연변이는 특발성 저신장증 환아들에서 발생빈도가 높은 것으로 알려진 것으로 본 연구에서는 55명 전원에서 guanine으로 확인되어 외국 보고에 비하여 높은 빈도임을 확인하였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 이형접합체가 차지하는 비율은 유의한 차이가 없었다. Exon 10상에 있는 526번째 아미노산을 이루는 첫번째 염기는 adenine과 cytosine 두 가지가 확인되어 우리나라에 L526I 변이형이 존재함을 확인하였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 adenine과 cytosine이 차지하는 비율은 유의한 차이가 없었다. Exon 3과 exon 8상의 돌연변이는 발견되지 않았으나 기존의 서구인에서의 보고와 다른 intron 염기서열을 가지고 있음을 확인하였다. 특발성 저신장증 환아 및 대조군 모두에서 exon 3 근접부 intron의 염기서열에서 하나의 염기 결실이 확인되었고 exon 8 근접부 intron의 염기서열에서 1개 혹은 2개 염기

결실이 5군데에서 확인되었으며 한 곳에서 점돌연변이가 관찰되었다. 이 염기서열은 일본인과 한국인에서 동일하였다.

결론적으로 특발성 저신장증에는 부분적 성장호르몬 저항성이 존재하는 것으로 생각된다. 그러나 부분적 성장호르몬 저항성이 성장호르몬 수용체 유전자의 돌연변이로 설명되지는 못하였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 동일하게 서구인과 다른 염기서열이 존재한다는 사실은 성장호르몬 수용체 유전자의 인종간의 차이를 나타내는 것으로 생각된다. 성장호르몬 수용체의 polymorphism으로 알려져 있는 부위에서 변이형의 빈도가 외국에 비하여 높다는 점은 평균 신장치가 외국과 비교 시 차이를 보인다는 사실과 관련지어 생각될 수 있다. 앞으로 이형접합체를 포함한 이들 성장호르몬 수용체 유전자의 변이형이 성장호르몬 수용체의 기능적 차이와 연관되는지에 대한 규명이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

---

핵심되는 말: 특발성 저신장증, 성장호르몬, 성장호르몬 수용체, 성장호르몬 저항성

# 특발성 저신장증환아에서 성장호르몬 수용체의 돌연변이 및 부분적 성장호르몬 저항성

＜지도 김 덕 희 교수＞

연세대학교 대학원 의과학사업단

정 소 정

## I. 서 론

특발성 저신장증은 저신장증을 보이며 내분비 질환이나 염색체 이상이 없으며 비정상적 외형이 없고, 출생체중이 정상이고, 성장저해를 초래하는 만성질환이 없는 저신장증으로 정의된다.[1] 성장호르몬 자극 검사상 성장호르몬 분비상태는 정상수준이상으로 분비되어 성장호르몬 결핍증과 구분된다. 가족성으로 혹은 비가족성으로 나타나며 아직 그 원인은 규명되지 않은 상태이다.

특발성 저신장증 소아에서 성장호르몬 농도는 성장호르몬 결핍증보다는 증가되어 있고 insulin-like growth factor-I (이하 IGF-I로 약함) 농도는 정상 범위에 있으나 낮은 편에 속하고 저신장을 보이는 성장호르몬 저항성을 나타내고 있다.[2] 성장호르몬 농도는 높으나 IGF-I 농도가 낮다는 것은 성장호르몬에 대한 저항성을 의미하나[3] 성장호르몬을 투여하여 고농도의 성장호르몬이 유지되면 정상적인 성장이 가능하여 부분적 성장호르몬 저항성이라고 한다.[2,3]

전형적인 성장호르몬 저항성은 Laron 증후군에서 볼 수 있다. Laron 증후군은 심한 저신장증, 저혈당증, 돌출된 두개골, 낮은 코 등의 특징적인 안면모양, 매우 높은 음색(high pitched voice)을 나타내는 유전 질환으로 남아에서는 소음경이 동반되며 성인이 되어 최종 성인신장이 120 130 cm 정도이며 신장표준편차지수가 −5 이하의 심한 저신장증을 특징으로 하는 질환이다.[4] 혈중 성장호르몬 농도는 매우 증가되어 있고 IGF-I 및 insulin like growth factor binding protein-3 (이하 IGFBP-3로 약함) 농도는 감소되어 있으며 성장호르몬 투여 시 전혀 효과가 없으므로 성장호르몬 저항증후군(growth hormone insensitivity syndrome, growth hormone resistance)이라 하였다.[4] 그 후 Laron 증후군 이외에도 후천적인 성장호르몬 저항성을 보이는 상태가 발견됨에 따라 성장호르몬 저항증후군의 범위는 확대되었

고, 성장호르몬 저항성은 성장호르몬 결핍이 없음에도 불구하고 IGF-I 결핍을 나타내는 상태로 정의되었으며 Laron 증후군은 그 중 일부로 포함되어 선천성 혹은 원발성 성장호르몬 저항증후군으로 분류된다.[5] 성장호르몬 저항증후군은 성장호르몬에 대한 반응도가 감소되어 있는 상태이므로 IGF-I 농도는 낮고 보상적기전에 의하여 혈중 성장호르몬 농도는 증가되어 있다.[5,6]

원발성 성장호르몬 저항증후군은 성장호르몬 수용체의 이상이나 성장호르몬-성장호르몬 수용체 신호전달과정의 이상으로 인하여 성장호르몬의 성장효과나 대사효과를 기대하지 못한다.[7] 후천적 성장호르몬 저항증후군에는 영양실조, 당뇨병, 신장질환 등과 같은 여러 이화상태 및 만성질환이 포함된다.[5,6] 성장호르몬 저항증후군의 분류는 1993년 Laron 등[5]에 의하여 분류된 방법을 사용하고 있다. 1987년 성장호르몬 수용체 유전자가 cloning된 이후 성장호르몬 수용체 유전자를 검사할 수 있게 되고 돌연변이의 존재를 확인하여 Laron 증후군의 원인이 규명되었다.[8]

성장호르몬 수용체와 같은 유전자에서 기원하고 proteolytic cleavage에 의해서 생성되는 성장호르몬 결합단백은 성장호르몬 수용체상태를 간접적으로 나타내는 지표로 생각되어 성장호르몬 수용체의 이상과 성장호르몬에 대한 저항성의 예측인자로 사용되었다.[9] 특발성 저신장증 소아에서 정상 대조군보다 낮은 성장호르몬 결합단백농도를 나타낸다는 보고가 있으나[10] 성장호르몬 결합단백농도가 정상인 전형적인 성장호르몬 저항증후군환자가 보고되고[11] 성장호르몬 수용체 유전자의 세포내 부분의 돌연변이가 확인됨에 따라[12] 세포외 부분만을 나타내는 성장호르몬 결합단백의 측정은 성장호르몬 수용체의 이상을 나타내는 선별검사로서의 한계를 갖게 되었다.

따라서 성장호르몬 저항성을 증명하기 위한 보다 정확한 검사가 필요하게 되었고 임상소견과 성장호르몬, IGF-I, IGFBP-3 등의 생화학적 검사를 시행함과 더불어 성장호르몬 수용체에 대한 직접적인 자세한 검사가 필요하게 되었다. 또한 유전자재조합 IGF-I의 생산이 시작되어 성장호르몬 저항증후군의 치료가 가능하게 됨에 따라 성장호르몬 저항성의 진단에 대한 관심도 증가되었다.

성장호르몬 수용체 유전자는 5번 염색체 단완에 존재하고 있으며 2번부터 10번까지 9개의 exon으로 구성되어 있는데 exon 2는 secretion signal sequence를 exon 3-7은 세포외 부분을 exon 8은 세포막내 부분을 exon 9-10은 세포내 부분을 구성한다. 세포외 부분에 성장호르몬과 결합하는 부위가 존재하며 세포내 부분은 신호전달에 중요하다.[13]

Laron 증후군을 중심으로 성장호르몬 수용체의 돌연변이가 확인되었고[11,12,14-19] 동형접합체 성장호르몬 수용체이상 뿐 아니라 이형접합형의 성장호르몬 수용체 이상에 의해서도 성장호르몬 수용체의 기능이 제한될 수 있다는 사실이 밝혀졌다.[20,21] 특발성 저신장증환아에서도 이형접합 돌연변이로 인한 저신장증이 보고되었고 dominant negative 효과를 보이고 성장호르몬 수용체 기능변화가 초래됨이 확인되었다.[20,21]

특발성 저신장증 환아의 부분적 성장호르몬 저항증을 진단할 수 있는 생화학적인 검사 기준이 아직 없고 환아들의 신장분포범위가 매우 넓다.[2,3] 성장호르몬 저항성을 성장호르몬 수용체 단계에서 조사하기 위하여 성장호르몬 수용체의 돌연변이 및 그 기능의 이상을 밝히기 위한 연구가 진행되게 되었다.

본 연구에서는 특발성 저신장증 환아에서 저신장의 원인으로 부분적 성장호르몬 저항증후군의 존재유무를 조사하고, 성장호르몬 저항성이 성장호르몬 수용체 유전자의 이상에서 기인되는지 알아보고자 성장호르몬 수용체 유전자의 돌연변이를 조사하였다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 대상

연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 특발성 저신장증으로 진단받은 환아 25명을 대상으로 하였다. 대상 선정기준은 연령 및 성별을 기준으로 구한 신장표준편차지수가 −2 이하인 저신장증이 있으며, 2가지 약물투여로 성장호르몬 자극검사를 시행하여 성장호르몬 결핍증이 배제되고, 여아의 경우 염색체 검사로 터너증후군이 배제되고, 기초 혈액학검사 및 생화학검사와 갑상선 기능검사를 시행하여 동반된 만성질환이 없음이 확인되어 저신장증의 원인이 밝혀지지 않은 경우로 하였다. 유전공학기법으로 생산한 사람 성장호르몬(유트로핀®: LG화학, 서울) 0.1 U/kg/d를 피하주사로 6회/주 투여하였다.

특발성 저신장증 환아외에 전신질환이 없으며 신장표준편차지수가 정상범위에 해당하는 30명을 대조군으로 하였다.

### 2. 방법

#### 가. 신체계측

특발성 저신장증 환아들의 신장, 체중을 측정하여 1998년 한국소아정상치를 기준으로 하여 신장표준편차지수(height standard deviation score, HTSDS), 체중표준편차지수(weight standard deviation score, WTSDS)를 구하였다. Tanner의 방법으로 성성숙도를 평가하였다.

#### 나. 성장호르몬, IGF-I 및 IGFBP-3 측정

성장호르몬 투여를 시작하기 전에 혈중 성장호르몬 농도, IGF-I 농도 및 IGFBP-3 농도를 측정하였다. 성장호르몬 농도는 L-dopa, clonidine, insulin 중 2가지 약물로 성장호르몬 자극검사를 시행하여 최고 성장호르몬 농도 10 ng/mL 이상을 기준으로 하였다. IGF-I은 RIA로(DSL-5600, Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, Texas, U.S.A), IGFBP-3는 IRMA로(DSL-6600, Diagnostic Systems Laboratories Inc., Webster, Texas, U.S.A) 측정하였다.

#### 다. 성장호르몬 투여에 대한 반응 평가

성장호르몬의 효과 및 성장호르몬 저항성을 평가하기 위하여 IGF-I 생성검사를 시행하

였다. 유전공학기법으로 생산한 사람 성장호르몬(유트로핀®: LG화학, 서울)을 연속 4일간 투여한 후 IGF-I 및 IGFBP-3를 측정하여 기저 IGF-I 농도 및 IGFBP-3 농도와 비교하여 그 차로 delta IGF-I 및 dleta IGFBP-3를 구하였다. 성장호르몬을 7 12개월간 투여한 후 측정한 신장표준편차지수와 성장호르몬 투여 전 기저신장표준편차지수의 차로 delta HTSDS를 구하였다.

**라. 성장호르몬 수용체의 유전자분석**

**1) DNA 추출**: 대상 환아의 말초혈액 10 ml을 EDTA를 포함한 polypropylene tube에 채혈한 후 QIAamp Blood Kit (Qiagen Inc., Santa Clarita, Calif.)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. UV spectrophotometer를 이용하여 260 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 정량한 뒤 −20°C에 보관하였다.

**2) Oligonucleotide primer 합성**: 성장호르몬 수용체 유전자의 돌연변이를 보기 위하여 exon 3부터 exon 10까지 각 exon별로 primer를 합성하여 사용하였다(Table 1). 각각의 primer

**Table 1.** Sequences of oligonucleotide primers for amplification of the growth hormone receptor gene

| Primer | Sequence |
|---|---|
| 3-1 | 5'-GATGACTAATGGTTTTCTTCTC-3' |
| 3-2 | 5'-GCTTAATTACACTAAAACATGG-3' |
| 4-1 | 5'-CCCGGGATCCAGGATCACATATGACTCACCTG-3' |
| 4-2 | 5'-GGCCCTCGAGGTGTACTTTAGTAGGTACATCC-3' |
| 5-1 | 5'-CCCGGGATCCTAAGCTACAACATGATTTTTGG-3' |
| 5-2 | 5'-GGCCCTCGAGGCTTCCCCATTTATTTAGTCTA-3' |
| 6-1 | 5'-CCCGGGATCCTATTAAATTGTGTCTGTCTGTG-3' |
| 6-2 | 5'-GGCCCTCGAGAAAGAAAAGTCAAAGTGTAAGG-3' |
| 7-1 | 5'-CCCGGGATCCTTGAGTTGTTGACTCTTTGGCC-3' |
| 7-2 | 5'-GGCCCTCGAGAACTGTTATATTGACAAAAGCC-3' |
| 8-1 | 5'-CTAGTCGTAATTCTGAAAGCG-3' |
| 8-2 | 5'-TGGAAATCTAAACAACTGGTAC-3' |
| 9-1 | 5'-CCCGGGATCCTAAGCTTTTAAGATGTCAAAACC-3' |
| 9-2 | 5'-GGCCCTCGAGTCAGGTGTTAATTAGTACTAGC-3' |
| 10-1-1 | 5'-CCCGGGATCCGCTAATTCATTTAATTATTATG-3' |
| 10-1-2 | 5'-GGCTGAGCAACCTCTGAGGTACCCT-3' |
| 10-2-1 | 5'-GAGACTGATTTCAATGCCAATGACA-3' |
| 10-2-2 | 5'-TGGGACATCCCTGCCTTATTCTTTT-3' |
| 10-3-1 | 5'-ACCAGCAGGTAGTGTGGTCCTTTCC-3' |
| 10-3-2 | 5'-GGCCCTCGAGTATTAAATACGTAGCTCTTGGG-3' |

는 DNA synthesizer (Applied Biosystem B380, Dr. Foster city, CA, U.S.A)로 합성하였다. Exon 10은 3부분으로 나누어 검색할 수 있도록 primer를 합성하였다. 각각의 exon을 포함하는 intron의 염기서열이 포함되도록 디자인된 기존의 알려진 primer set[22]을 합성하였으며 exon 3과 exon 8을 증폭하기 위한 primer는 Yamamoto 등[23]의 서열을 참고하여 2번째 primer set을 합성하였다. 염기서열의 번호는 Leung 등[8]의 보고와 동일한 방법을 사용하였다.

**3) 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR):** 추출한 환아의 genomic DNA 150 ng을 exon별로 sense primer와 antisense primer를 이용하여 중합효소연쇄반응을 시행하여 유전자를 증폭하였다. 반응액의 총량은 30 μL였고 조성은 10X PCR buffer, $MgCl_2$ 10 mmol/L, 4종류의 0.2 mmol/L dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP, Pharmacia, Biotech, Brussels, Belgium), 2.5 units Taq DNA polymerase (Promega, Corporation, Madison, U.S.A)와 10 pmol/L의 primer들로 하였다. 중합효소연쇄반응에는 Gene Amp PCR system 9600 (Perkin-Elmer Japan Corporation., Ltd., Urayasu, Japan)을 이용하였다. 중합효소연쇄반응조건은 94°C에서 5분간 initial denaturation 시킨 후 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 elongation을 35회 반복하여 증폭하였다. 얻어진 중합효소연쇄반응 산물을 1.5% agarous gel에서 전기영동시켜 확인하였다.

**4) DNA sequencing:** 중합효소연쇄반응 산물을 agarous gel에 전기영동한 후 목표밴드를 잘라내어 QIAquick Gel Extraction kit (Qiagen Inc., Santa Clarita, Calif.)를 사용하여 DNA를 추출하여 염기서열을 분석하였다. DNA sequencing은 ALFwin Sequence Analyser 2.10 (Amersham Pharmacia Bioech, Uppsala, Sweden) 및 ABI 3700 sequencer (Applied Biosystems Division, Perkin Elmer Corp., Foster City, Calif.)를 사용하여 자동화된 방법으로 직접 염기서열을 분석하였다.

### 마. 통계처리

dBSTAT 통계프로그램(window version)을 사용하여 두 표본 t 검정, chi-square 검정, 분산분석, 피어슨 상관분석을 시행하였다. p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 하였다.

## III. 결 과

### 1. 대상군의 임상양상

25명의 특발성 저신장증 환아들의 평균연령은 8.7세였고, 남아가 10명, 여아가 15명이었으며 내원 당시 16명은 성성숙도 1단계였고, 7명은 성성숙도 2단계였고, 2명은 3단계였다. 평균 신장표준편차지수는 $-2.49 \pm 0.49$였다. 기초 혈액학적 검사, 생화학적 검사, 갑상선 기능검사 등 기본 검사 결과는 모두 정상범위에 속하였다. Clonidine 및 insulin 혹은 L-dopa 및 insulin을 이용하여 성장호르몬 자극검사를 시행하였으며 IGF-I 및 IGFBP-3 농도는 각각

**Table 2.** Clinical, auxological and biochemical data from children with idiopathic short stature

| Case no. | Age (years) | Sex | SMR | HTSDS | WTSDS | MPHSDS | IGF-I (ng/mL) | IGFBP-3 (mg/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 11.0 | M | II | −3.08 | −1.63 | −0.77 | 207 | 5.48 |
| 2 | 13.4 | F | III | −2.29 | −1.56 | −1.38 | 500 | 7.86 |
| 3 | 5.2 | M | I | −2.72 | −0.41 | −0.25 | 46 | 3.87 |
| 4 | 8.5 | F | I | −2.09 | −1.05 | −0.08 | 193 | 6.32 |
| 5 | 5.6 | M | I | −2.16 | −1.21 | −1.04 | 68 | 5.21 |
| 6 | 10.9 | F | I | −2.58 | −1.51 | 0.12 | 109 | 6.08 |
| 7 | 8.9 | F | I | −2.30 | −0.48 | −0.58 | 58.5 | 2.17 |
| 8 | 10.8 | F | I | −2.42 | −1.44 | −0.08 | 112 | 4.96 |
| 9 | 4.6 | F | I | −2.69 | −1.63 | −1.68 | 129 | 7.38 |
| 10 | 5.1 | M | I | −3.18 | −1.65 | −0.68 | 133.7 | NA |
| 11 | 13.1 | M | II | −2.25 | 0.03 | −1.09 | 316 | 6.73 |
| 12 | 10.8 | M | I | −4.23 | −1.79 | −0.60 | 135.3 | 3.99 |
| 13 | 4.7 | M | I | −2.23 | −1.21 | −1.21 | 90.2 | NA |
| 14 | 11.3 | F | II | −2.18 | −0.47 | −1.68 | 160.7 | 3.40 |
| 15 | 11.1 | F | II | −2.37 | −1.07 | −1.28 | 406.0 | 3.84 |
| 16 | 5.6 | M | I | −2.91 | −1.54 | −0.60 | 65.1 | 2.98 |
| 17 | 12.2 | F | II | −2.10 | −1.48 | −1.08 | 290.3 | 1.43 |
| 18 | 6.3 | F | I | −2.20 | −0.96 | −1.38 | 120.5 | 2.74 |
| 19 | 14.7 | M | II | −2.28 | 0.58 | −0.42 | 189.2 | 3.72 |
| 20 | 5.6 | F | I | −2.36 | −1.29 | −0.08 | 119.3 | 3.03 |
| 21 | 5.5 | F | I | −2.70 | −1.78 | −0.68 | 47.8 | 2.55 |
| 22 | 4.7 | M | I | −2.22 | −1.51 | −0.42 | 95.5 | 3.16 |
| 23 | 10.6 | F | II | −2.00 | −0.65 | −1.98 | 190.8 | 3.97 |
| 24 | 4.3 | F | I | −2.76 | −1.16 | −1.38 | 53.6 | NA |
| 25 | 13.1 | F | III | −2.02 | −1.81 | −0.38 | 354.9 | 3.74 |
| Total | 8.7±4.3 | 10 : 15 | | −2.49±0.49 | −1.15±0.61 | −0.83±0.57 | 167.7±119.6 | 4.30±1.73 |

SMR, sexual maturity ratings; HTSDS, height standard deviation score; WTSDS, weight standard deviation score; MPHSDS, midparental height standard deviation score; NA, not available

**성별 및 연령 별 정상범위 중 낮은 편에 속하였다**(Table 2).

**특발성 저신장증 환아외에 신장표준편차지수가 정상범위에 해당하는 30명의 아동을 정상 대조군으로 정하여 성장호르몬 수용체 유전자 분석을 시행하였다. 특발성 저신장증 환아와 대조군의 임상적 특징은** Table 3**과 같다.**

**Table 3.** Clinical characteristics of children with idiopathic short stature and control

| | ISS | Control |
|---|---|---|
| Number of subjects | 25 | 30 |
| Age (years) | 8.7±4.3 | 10.6±2.7* |
| Sex (M/F) | 10/15 | 11/19 |
| HTSDS | −2.49±0.49 | −0.89±0.67* |
| MPHSDS | −0.83±0.57 | −0.83±0.70 |
| THSDS | −1.67±0.81 | −0.06±0.86* |
| IGF-I (ng/mL) | 167.67±119.57 | 308.30±154.54* |
| IGFBP-3 (mg/L) | 4.30±1.73 | 4.73±1.49 |
| IGF-I/IGFBP-3 | 46.67±42.41 | 69.10±31.03* |

*: $p<0.05$ ISS vs. control; ISS, idiopathic short stature; HTSDS, height standard deviation score; MPHSDS, midparental height standard deviation score; THSDS, target height standard deviation score

**Table 4.** The responses to growth hormone administration in children with idiopathic short stature

| | GH administration | |
|---|---|---|
| | Before | After |
| IGF-I (ng/mL) | 241.04±153.89 | 373.72±170.0* |
| IGFBP-3 (mg/L) | 5.84±1.51 | 6.52±1.92 |
| IGF-I/IGFBP-3 | 44.46±21.73 | 60.26±29.58 |

*: $p<0.05$ before vs. after growth hormone administration

### 2. 성장호르몬 투여에 대한 반응 평가

특발성 저신장증 환아 25명 중 13명에서 IGF-I 생성검사를 시행하였다. 성장호르몬 투여 전 기저 IGF-I 농도는 241.04±153.89 mU/L에서 4일간 성장호르몬 투여 후 IGF-I 농도는 373.72±170.0 mU/L로 증가하였으며 통계적으로 유의한 증가를 보였다($p<0.05$). IGFBP-3 농도는 성장호르몬 투여 전 5.84±1.51 mg/L에서 투여 후 6.52±1.92 mg/L로 유의한 차이가 없었다. IGF-I과 IGFBP-3 비율은 성장호르몬 투여 전 44.46±21.73에서 투여 후 60.26±29.58로 유의한 차이가 없었다(Table 4).

### 3. 성장호르몬 투여에 따른 신장표준편차지수의 변화

IGF-I 생성검사를 시행한 13명의 특발성 저신장증 환아들의 성장호르몬 투여 전 신장표준편차지수는 −2.36±0.88였고 성장호르몬 투여 후에는 −2.04±0.89로 증가하여 신장증가를 나타내는 delta HTSDS는 0.48±0.70이었다. 성장호르몬 투여기간은 7.8±2.1개월이었다.

### 4. 성장호르몬 투여에 대한 반응도와 신장표준편차지수변화의 상관성

IGF-I 생성검사상의 delta IGF-I과 성장호르몬 투여 후 신장표준편차지수의 변화인 delta HTSDS 사이의 상관성을 보면 delta IGF-I의 증가에 따른 delta HTSDS의 증가가 유의하지 않아 IGF-I의 증가에도 불구하고 이에 따른 유의한 성장촉진효과가 관찰되지 않았다(Fig. 1). Delta IGFBP-3와 delta HTSDS사이의 상관관계도 통계학적으로 유의하지 않았다(Fig. 2).

### 5. 성장호르몬 수용체 유전자 분석

특발성 저신장증 환아 25명과 정상 대조군 30명 등 총 55명에서 성장호르몬 수용체 유전자 분석을 시행하였다. 55명 모두에서 각각 exon 별로 제작한 sense 및 antisense primer를 사용하여 중합효소연쇄반응을 시행하였으며, 예상된 크기의 중합효소연쇄반응 산물을 얻을 수 있었다.

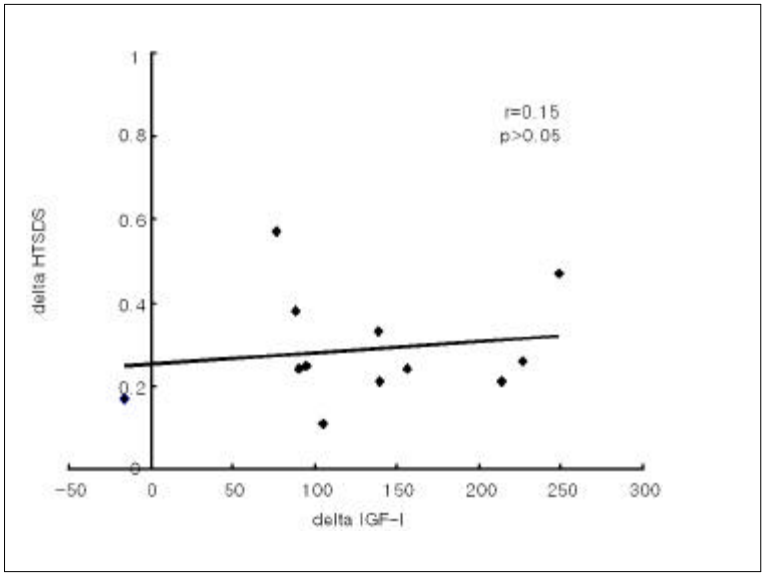


**Fig. 1.** Correlation of delta IGF-I and delta HTSDS. There was no significant correlation between delta IGF-I and delta HTSDS after GH treatment.

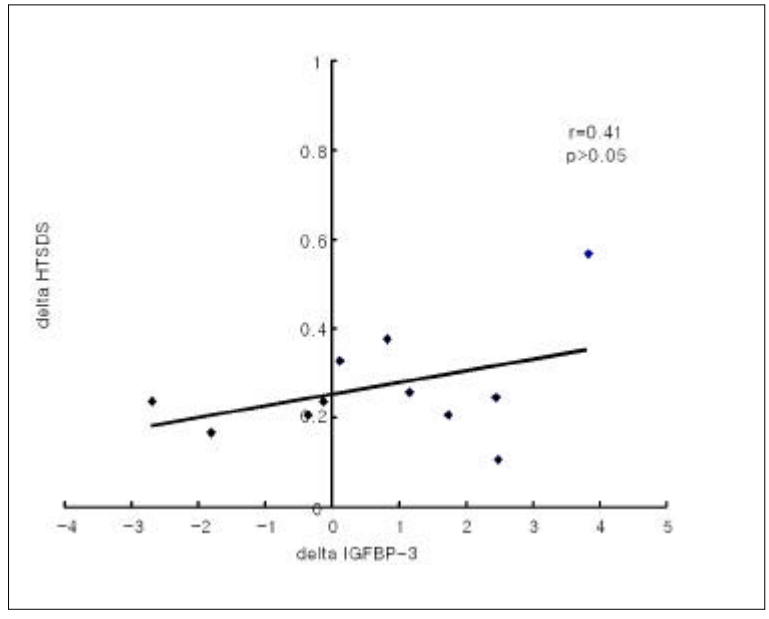


**Fig. 2.** Correlation of delta IGFBP-3 and delta HTSDS. There was no significant correlation between delta IGFBP-3 and delta HTSDS after GH treatment.

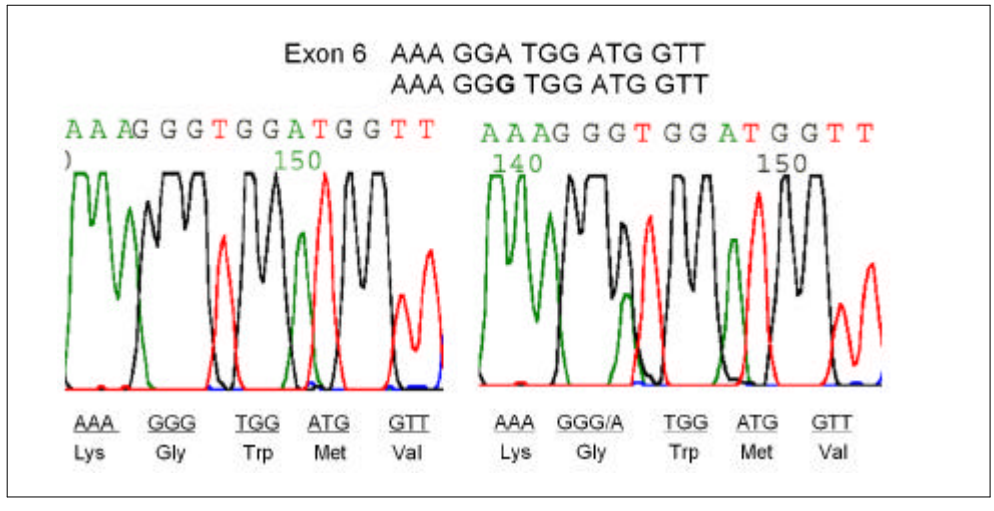


**Fig. 3.** Electropherogram showing the DNA sequence of G168, which is guanine or heterozygous in position 3 of codon 168.

Exon 6의 염기서열상 새로운 돌연변이는 관찰되지 않았으나 Exon 6에 있는 168번째 아미노산을 이루는 염기서열의 세번째 염기 adenine이 guanine으로 치환된 점돌연변이가 존재하는 것을 확인하였다. 합성되는 아미노산은 같은 polymorphism으로 추정되는 소견으로

본 연구에서는 guanine이 55명 전원에서 확인되었다(Fig. 3). 특발성 저신장증 환아 25명 중 19명은 guanine이었고 6명은 guanine/adenine 이형접합체였다. 정상 대조군 30명 중 25명은 guanine이었으며 5명은 guanine/adenine 이형접합체였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 이형접합체가 차지하는 비율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

Exon 10상의 526번째 아미노산을 이루는 첫번째 염기는 adenine과 cytosine 두 가지가 확인되어 우리나라에 L526I variant가 존재함을 확인하였다(Fig. 4). 특발성 저신장증 환아 중

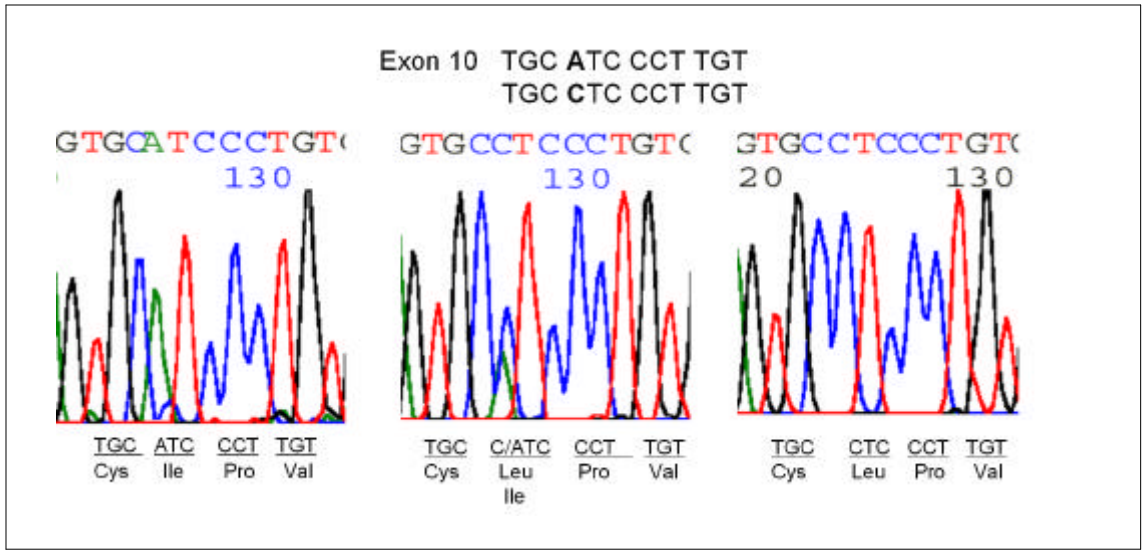


**Fig. 4.** Electropherogram showing the DNA sequence of codon 526, which is adenine or cytosine or heterozygous in position 1.

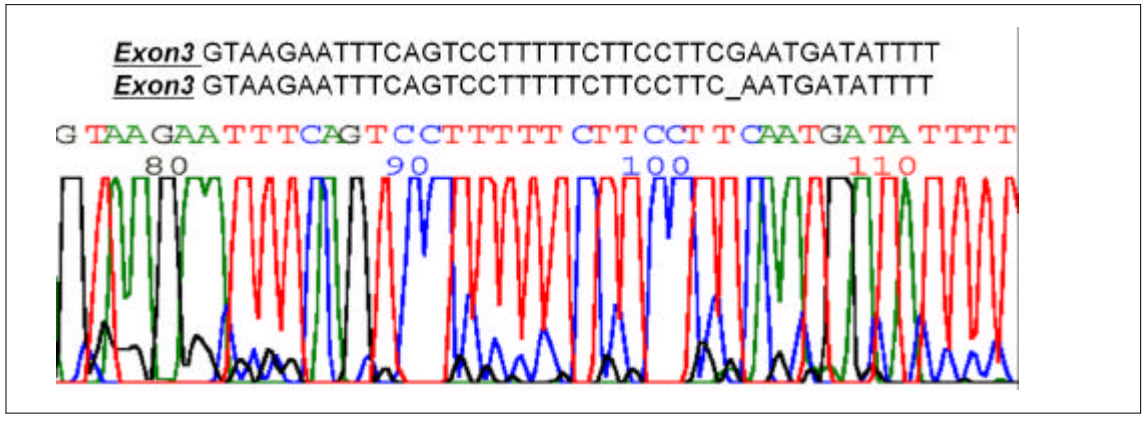


**Fig. 5.** Electropherogram showing the DNA sequence of exon 3 flanking region. Upper lane is the DNA sequence reported previously and the lower lane is the newly identified sequence.

4명은 ATC로 Isoleucine이었고 8명은 CTC로 Leucine을 가지고 있었고 12명은 cytosine과 adenine이 함께 존재하는 이형접합체였다. 정상 대조군중 3명은 ATC로 Isoleucine였고 12명은 CTC로 Leucine이었고 나머지 11명은 cytosine과 adenine이 함께 존재하는 이형접합체였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 cytosine과 adenine이 차지하는 비율은 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

Exon 3의 돌연변이는 발견되지 않았다. 그러나 특발성 저신장증 환아 및 대조군 모두에서 exon 근접부 intron의 염기서열이 기존의 보고와는 달리 하나의 guanine 염기의 결실이 있음이 확인되었다(Fig. 5).

Exon 8의 돌연변이는 발견되지 않았으나 특발성 저신장증 환아 및 대조군 모두에서 exon

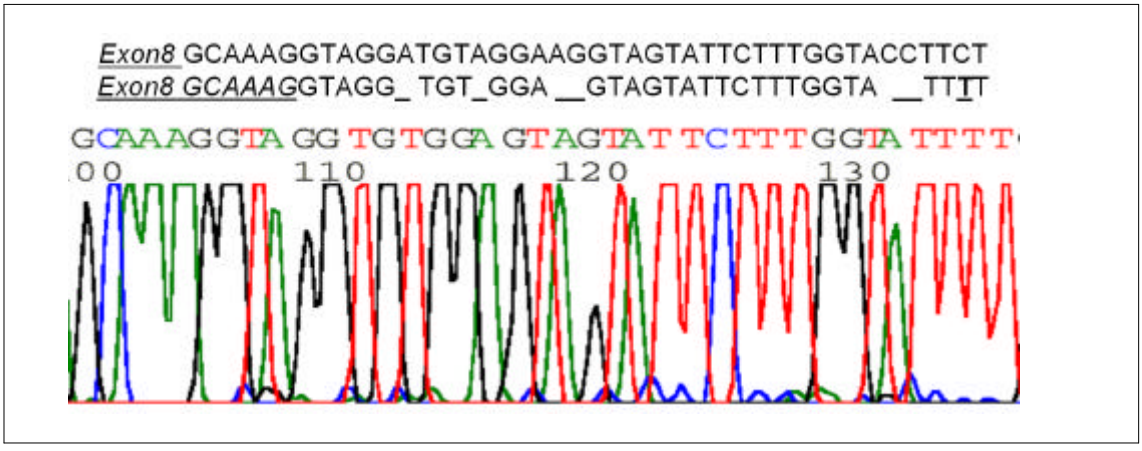


**Fig. 6.** Electropherogram showing the DNA sequence of exon 8 flanking region. The nucleotide deletions and mismatched nucleotide are shown with bars.

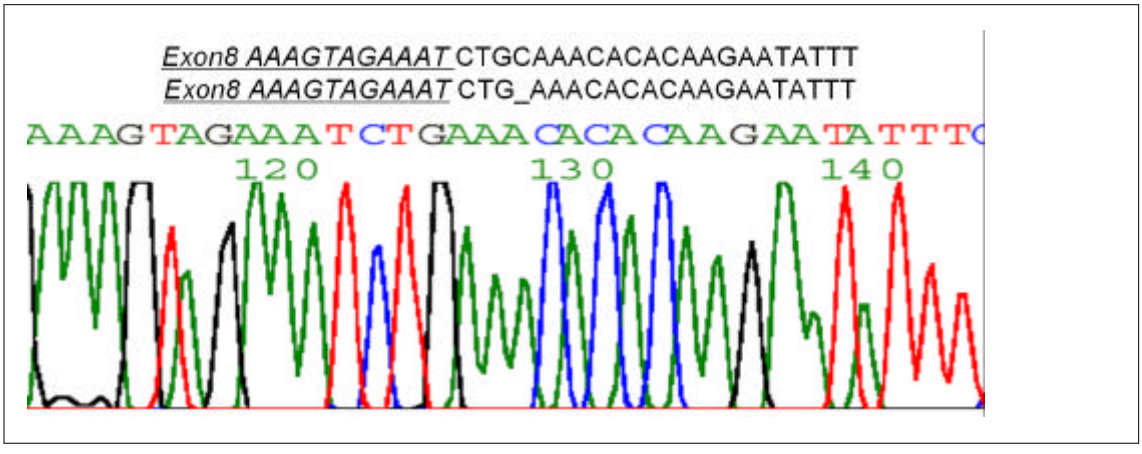


**Fig. 7.** Electropherogram showing the reverse DNA sequence of exon 8 flanking region.

근접부 intron의 염기서열이 기존의 보고와는 달리 5군데에서 1개 혹은 2개 염기 결실이 있으며 한곳에서 cytosine이 thymine으로 전환된 점돌연변이가 관찰되었다(Fig. 6, 7). 나머지 exon상의 돌연변이는 관찰되지 않았다.

## IV. 고 찰

가족성 혹은 비가족성으로 나타나는 특발성 저신장증의 원인은 아직 규명되지 않은 상태이며 다양한 원인 중에 성장호르몬 수용체의 이상과 관련된 성장호르몬 저항성이 포함된다.[2] 특발성 저신장증에서 성장호르몬 부분저항성은 Laron 증후군과는 달리 임상증상이 뚜렷하지 않고 생화학적 지표로도 확인하기 어려워 분자유전학적인 방법으로 직접 유전자의 이상을 확인하는 방법이 사용되고 있다.[24] 본 연구에서 특발성 저신장증환아에서 성장호르몬 수용체 유전자의 돌연변이를 조사한 결과 exon 6과 exon 10상에서 polymorphism이 존재하고 exon 3과 exon 8 근접부 intron의 염기서열상 이상이 존재함이 확인되었다.

뇌하수체 전엽에서 분비되는 성장호르몬은 시상하부의 자극 및 억제 조절을 받고 있으며 다른 신경 및 호르몬에 의한 영향도 받고 있다. 혈중 성장호르몬은 유리상태 혹은 성장호르몬 결합단백에 결합된 상태로 존재한다. 성장호르몬 결합단백은 성장호르몬 수용체와 같은 유전자에서 기원하고 proteolytic cleavage에 의해서 생성되며 성장호르몬 수용체의 세포외 부분을 반영하므로 혈중에 존재하는 성장호르몬 수용체로 생각되었다.[8] 그러나 성장호르몬 결합단백은 성장호르몬과 결합하는 능력은 가지고 있으나 성장호르몬 수용체와는 달리 신호전달과정 및 IGF-I 생성을 유도하는 기능은 없다.

성장호르몬이 작용하기 위해서는 세포면에 존재하는 성장호르몬 수용체와 결합해야 한다. 한 분자의 성장호르몬은 두 분자의 성장호르몬 수용체와 결합하는 특징을 갖는다.[25] 이와 같은 성장호르몬 수용체의 dimerization은 성장호르몬의 작용이 일어나기 위한 필수과정이며 세포내 신호전달과정의 시작이다.

성장호르몬 수용체는 cytokine receptor family에 속하는 single membrane spanning protein이며 620개의 아미노산으로 구성되어 있다. 성장호르몬 수용체 유전자는 5번 염색체 단완에 존재하며 1987년 Leung에 의하여 cloning되었다.[8] 성장호르몬 수용체 유전자는 exon 2부터 10까지 9개의 exon으로 구성되며 exon 2는 signal sequence이고, exon 3부터 exon 7까지는 세포외 부분을, exon 8은 세포막을 통과하는 세포막내 부분을, exon 9과 exon 10은 세포내 부분을 구성한다. N-terminal쪽 세포외 부분은 246개의 아미노산으로 이루어져 있고, 세포막에 걸쳐있는 부분은 24개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 나머지 세포내 부분은 350개의 아미노산으로 이루어져 있다.[8] 성장호르몬 수용체의 세포외 부분에 cysteine rich 부분을 중심으로 4개의 성장호르몬 결합부위가 존재하며 세포내 부분에 신호전달에 중요한 부위가 존재한다.[13]

성장호르몬의 작용은 신호전달과정을 통하여 IGF-I 생성으로 이어진다. 성장호르몬 수용체 자체는 tyrosine kinase 활성을 가지고 있지 않으나 Janus kinase (JAK) 가족에 속하는 tyrosine kinase와 연결되어 있다. 호르몬이 수용체에 결합하면 수용체 dimerization이 유도되며 이는 두 개의 JAK kinase를 근접시켜 서로 상대편을 교차인산화하여 활성화시킨다. 활성화된 JAK2 kinase가 표적단백질을 인산화하므로써 신호전달이 시작된다. 활성화된 JAK2 kinase들은 STAT (signal transducers and activators of transcription) 단백질을 인산화하는데 STAT 단백질은 $SH_2$ domain을 가지고 있으며 리간드 결합에 반응하여 인산화되는 tyrosine 잔기를 단 한 개 가지고 있다. STAT이 인산화되면, 전사를 촉진하는 다른 STAT이나 또는 다른 단백질과 heterodimer 또는 homodimer로서 DNA에 결합하여 전사를 촉진한다.[26] 성장호르몬의 신호전달과정에는 JAK kinase, STAT 단백질외에 mitogen activated protein kinase (MAPK) cascade, insulin receptor substrates (IRS) 및 phosphoinositide 3-OH kinase (PI-3K) 등이 관련되는 것으로 알려져 있다.[26]

성장호르몬 수용체 유전자의 이상이 있는 경우는 성장호르몬을 투여하여도 효과가 일어나지 않는 저항성으로 표현된다. 성장호르몬 저항성은 IGF-I 생성검사를 이용하여 예측할 수 있다.[27-29] 원래 IGF-I 생성검사는 성장호르몬을 4일간 연속으로 투여하고 IGF-I 및 IGFBP-3 농도의 변화를 측정하여 성장호르몬에 대한 반응을 보는 것으로, 성장호르몬 결핍증 환아를 비롯하여 성장호르몬 치료시 앞으로의 성장효과를 예측하기 위한 검사로 사용되어왔다.[30-32]

특발성 저신장증 환아에서 성장호르몬 투여시 그 효과는 성장호르몬 결핍증 환아에서 보이는 효과에 훨씬 미치지 못한다. 성장호르몬에 대한 반응 예민도가 감소되어 있으며,[3] 성장호르몬 결핍증에서 투여되고 있는 용량보다 고용량으로 성장호르몬을 투여해야 성장효과를 볼 수 있고 개인적인 차이도 많다.[3]

성장호르몬 결핍증에서는 혈중 성장호르몬 농도가 매우 낮고 IGF-I 농도도 매우 낮으며 성장호르몬 투여에 따른 반응도가 매우 좋다. 반면 Laron 증후군에서는 성장호르몬 농도가 매우 높고 IGF-I 농도가 매우 낮으며 성장호르몬 투여시 반응도가 매우 낮아 성장효과가 나타나지 않는다. 특발성 저신장증 환아중에서 성장호르몬농도는 정상범위 이상으로 높고 IGF-I 농도가 낮은 편에 속하고, 성장호르몬을 투여하면 성장이 촉진되는 효과를 관찰할 수 있다.[2] 성장호르몬에 대한 반응정도는 다양하게 나타나며 IGF-I 및 IGFBP-3의 분포도 넓다. 이 중 성장호르몬에 대한 반응도가 낮은 군에게 부분적 성장호르몬 저항성의 개념을 적용할 수 있고 반응도가 높은 편에 속하는 군은 부분적 성장호르몬 결핍증로 생각할 수 있다.[2] 성장호르몬 결핍증과 성장호르몬 저항증후군은 하나의 spectrum상 양극단에 해당하는 질환 군으로 정상과 구별이 쉽다. 그러나 부분적 성장호르몬 저항증후군은 중간에 속하는 군으로 감별하기 용이하지 않다.

이들에서 성장호르몬 농도가 정상 혹은 증가되어 있는 것은 성장호르몬 수용체 단계에

서 반응도가 상대적으로 낮기 때문에 정상성장을 하기 위해서는 보다 많은 양의 성장호르몬을 필요로 하므로 보상적으로 증가할 수 있다고 볼 수 있다. 반응도가 비교적 좋은 사람의 경우에는 낮은 성장호르몬 농도로도 정상성장을 할 수 있으나 반응도가 낮은 경우에는 고농도의 성장호르몬을 필요로 하는 것이다.

부분적 성장호르몬 저항성으로 추정되는 환자들은 정상인과 임상적인 차이가 거의 없으며 진단에 이용할 수 있는 생화학적 지표가 없다. Laron 증후군의 진단에는 심한 저신장증, 저혈당증, 돌출 된 두개골, 낮은 코 등의 특징적인 안면모양, high pitched voice, 소음경 등의 임상증상과 측정 가능한 혈중 생화학적 인자, 즉, 성장호르몬농도, IGF-I 및 IGFBP-3과 IGF-I 생성검사, 성장호르몬 결합단백을 기준으로 한 점수제를 사용하기도 한다.[33] 7개 항목 중 5점 이상이면 성장호르몬 저항증후군로 진단한다. 이와같은 진단기준을 부분적 성장호르몬 저항성 진단에 사용할 수는 없다. 더욱이 최근 성장호르몬 결합단백 측정은 Laron 증후군에서도 약 25% 환자에서 낮지 않고 오히려 증가되어 있는 환자도 발견이 됨에 따라서 그 진단적인 가치를 잃게 되어[10] 바로 분자 유전학적인 접근을 시도해 분자유전학적인 병리 규명이 필요하게 되었다.

부분적 성장호르몬 저항증후군으로 추정되는 환아들에게 이상이 있을 수 있는 단계는 첫째, 성장호르몬 수용체의 문제, 둘째, post receptor level인 signal transduction의 문제, 셋째, IGF-I 생성을 위한 IGF-I 유전자의 문제 등 3 단계로 생각할 수 있다.

성장호르몬 수용체 유전자가 cloning된 이후[8] 성장호르몬 수용체 분자학적 병리가 규명되었다. 전형적인 Laron 증후군에서 성장호르몬 결합단백이 낮은 경우를 중심으로 연구가 선행되어 성장호르몬 수용체의 세포외 부분의 돌연변이가 보고되었다.[14-19] 성장호르몬 결합단백이 정상인 경우는 세포막 혹은 세포내 부분의 돌연변이가 확인되므로써[10,11] 선별검사로서의 성장호르몬 결합단백측정의 필요성이 없어지고 성장호르몬 수용체 자체에 관심이 높아졌다. 성장호르몬 수용체의 검사는 exon도 많고 일일이 검색하는데 시간과 노력이 매우 많이 소요된다. 따라서 일정부위를 목표로 삼아 각각 연구를 하며 인종간의 특징이나 phenotype과의 관계를 중심으로 연구가 진행되고 있다. 현재까지 nonsense/missense, splicing mutation 및 small deletion이 포함한 다양한 성장호르몬 수용체 돌연변이가 알려져 있다.[10,11,14-19]

Laron 증후군은 대부분 동형접합체 성장호르몬 수용체 이상이 원인으로 알려졌다. 성장호르몬 수용체 돌연변이는 동형접합체뿐 아니라 이형접합체의 형태로도 존재하며[34] 부분적 성장호르몬 저항증후군에서는 전형적인 동형접합체외에 이형접합체도 존재하며 이형접합체 형태가 흔할 것으로 추정되고 있다.[35,36]

Goddard 등[24,36]은 100명의 특발성 저신장증환아를 검사한 결과 8명에서 이형접합체 성장호르몬 수용체 돌연변이가 발견하였고 102명의 정상 자원자에서는 발견되지 않았다고 보고하였다. 기능검사에서 수용체발현 감소와 성장호르몬 결합친화력 감소가 확인되었다.[24,36]

가족성 저신장증에서 세포내 부분인 exon 9의 이형접합 돌연변이로 인한 저신장증이 보고되었고 성장호르몬 수용체의 이형접합 돌연변이가 성장호르몬 수용체 기능상 dominant-negative 효과를 초래할 수 있음이 증명되었다.[20,21] 특발성 저신장증 환아중에는 상기와 같은 성장호르몬 수용체의 이형접합 돌연변이에 의한 dominant negative 효과가 원인인 부분적 성장호르몬 저항증후군 환자가 포함되어 있을 것으로 받아들여지고 있다.

성장호르몬이 매우 높다는 것만으로 성장호르몬 저항증후군을 진단할 수 없다. IGF-I 생성검사 결과와 함께 비교하여 부분적 성장호르몬 저항성의 특징으로 그 의미를 부여하고자 하였고, IGF-I 생성검사상 IGF-I의 변화보다 IGFBP-3의 변화가 더 중요하며[28] 상대적인 증가보다는 절대값의 증가가 더 중요하다고 보고되기도 하였다.[33,37] 그러나 Cotterill 등[38]은 IGF-I 생성검사도 부분적 성장호르몬 저항증후군을 구별하여 진단하는데는 한계가 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 성장호르몬 투여에 대한 반응도와 신장표준편차지수변화의 상관성을 분석하였으나 통계적으로 유의한 결과를 얻지 못하였다(Fig. 1, 2). 이것은 특발성 저신장증 환아에서 성장호르몬의 부분저항성으로 인하여 성장호르몬의 효과가 뚜렷하지 않은 것으로 생각된다. 그렇지만 본 연구에서는 성장호르몬의 투여기간이 짧았으므로 앞으로 많은 인원을 대상으로 장기간동안의 투여효과에 대한 평가가 있어야 하겠다.

Goddard 등[36]은 특발성 저신장증환아에서 부분적 성장호르몬 저항증후군의 진단가능성을 높이기 위하여 신장표준편차지수, 최고 성장호르몬 농도, IGF-I 표준편차지수, 성장호르몬 결합단백 표준편차지수, 성장호르몬 투여전의 성장속도를 기준으로 점수를 주는 방법을 사용하였다. 단지 성장호르몬 농도가 정상이상이라는 점에서 시작하면 특발성 저신장 환자 중 약 2%에서 성장호르몬 수용체가 발견될 뿐이나 상기 기준을 사용하면 약 30%에서 성장호르몬 수용체 돌연변이를 찾을 수 있다고 하였다.[36] 그러나 현재 우리나라에는 정확한 소아의 연령별 정상 IGF-I의 백분위수가 확립되어 있지 않으며 성장호르몬 결합단백을 측정할 수 없어 임상에서 이 방법을 사용할 수 없는 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 신장을 측정하여 신장표준편차지수를 구하였고 특히 가족력상 부모의 키가 −2SDS인 경우 포함하였으며, 성장호르몬 농도를 측정하여 성장호르몬 결핍증을 제외하였고, IGF-I 및 IGFBP-3를 측정하였으며, 성장호르몬 수용체의 유전자 분석을 진행하였다. 일부 환아에서 IGF-I 생성검사를 시행하였다.

성장호르몬 수용체 유전자의 polymorphism으로 알려진 부위로는 G168, T77, C422F, P561T, S473, P477T, I526L 등이 있다.[36] 본 연구에서는 G168과 I526L이 확인되었다.

Exon 6상의 168번째 아미노산을 coding하는 염기서열은 GGA로 보고되어있고 3번째 염기가 adenine이 guanine으로 치환된 변이형이 있다고 알려져 있다. 현재까지 알려져 있는 성장호르몬 수용체 유전자의 polymorphism중 G168은 rarer allele frequency가 대조군에서 0.2인데 비하여 특발성 저신장증에서 0.3으로 유의한 차이를 보이는 변이형이다.[36] 본 연구결과에서 특발성 저신장증환아 25명 중 19명은 GGG였고 6명은 GGG/A로 이형접합체였다.

정상대조군 30명 중 25명은 GGG였으며 5명은 GGG/A로 이형접합체였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 이형접합체가 차지하는 비율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Allele frequency는 대조군과 환자군에서 유의한 차이는 없었다. 성장호르몬 유전자분석을 시행한 55명 전원에서 G가 확인되었으며 그중 11명에서는 A/G로 이형접합체였다. 한국인에서 A와 G가 차지하는 비율이 서구 사람에 비하여 차이를 보이는 것은 서구인에 비하여 신장이 작은 것과 관련이 있을 가능성을 의미할 수 있으므로 보다 많은 수의 환자 및 정상인을 대상으로 하는 연구가 이루어져야 하겠다.

I526L의 경우는 526번째 아미노산의 첫 번째 염기가 adenine인 경우 Isoleucine이 합성되나 cytosine인 경우는 Leucine이 합성된다. 이 유전자의 allele frequency는 Goddard 등[36]의 보고에서는 대조군에서 0.44, 환자군에서 0.49로 유의한 차이는 없었고 Johnston 등[39]도 allele frequency를 0.53이며 기능장애로 이어지는 효과는 적을 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서는 특발성 저신장증 환아중 4명은 ATC로 Isoleucine였고 8명은 CTC로 Leucine을 가지고 있었고 12명은 C/A로 두 염기가 함께 존재하는 이형접합체였다. Allele frequency는 대조군과 환자군에서 유의한 차이는 없었다. 전체 대상아의 allele frequency 0.37이었으며 I526L 변이형의 빈도는 기존의 보고와 유의한 차이가 없었다.

성장호르몬 수용체의 이형접합 돌연변이는 임상증상으로 저신장증을 나타낸다.[24] 그렇지만 이형접합일 경우 표현형은 동형접합체에 비하면 경하게 나타난다.[40] 이형접합체 보인자는 비보인자 형제(noncarrier sibling)에 비하여 유의한 신장의 차이를 보이고 신장치의 분포영역도 넓다.[40] 이형접합체 보인자에서의 임상증상 발현에는 polymorphism으로 알려져 있는 G168과 같은 유전자 변이들이 관여할 수 있다.[36] 또한 터너증후군에서 연구되고 있는 SHOX (short stature homeobox-containing gene) 유전자를 비롯한 GH-IGF-I 축 이외의 다른 유전자도 함께 작용할 수 있을 것으로 추정되고 있다.[41,42] 본 연구에서 확인된 G168 및 I526L 변이형과 이형접합체가 갖는 임상적 의의는 앞으로 연구할 과제이다.

Exon 3과 Exon 8증폭이 많이 인용되고 있는 Berg 등[22]의 방법과 다른 염기서열을 이용한 primer[23]를 사용해야 가능하였고 확인된 염기 서열이 기존의 보고와[4,8] 다르며 일본인과 동일하였다.[23] 이것은 일본인과 한국인에서 서구인과 다른 염기서열이 존재함을 의미하며 이런 차이가 인종간의 차이를 나타내는 것일 수 있다고 생각된다.

서양인에 비하여 동양인에서 성장호르몬 저항증후군의 보고는 많지 않다.[11,44,45] 더욱이 부분적 성장호르몬 저항증에 대한 연구는 없다. 최근 우리나라에서도 저신장증에 대한 관심은 높아지고 있으나 그 원인을 밝혀낼 수 있는 검사 여건은 아직 열악하다. 먼저 한국인에서 정상 소아를 대상으로 연령 및 성별에 따른 IGF-I 및 IGFBP-3를 비롯한 성장인자들의 백분위수가 확립되어야 하겠다. IGF-I 생성검사는 성장호르몬치료에 대한 반응을 예상하는데 효과적인 검사다.[27-32] 아직 우리나라에서 성장호르몬 치료 전에 IGF-I 생성검사를 시행하여 성장호르몬에 대한 반응을 예상한 자료가 없다. 적극적으로 IGF-I 생성검사가 시행되

어야하며, IGF-I 생성검사에서 반응이 낮은 경우 좀더 고용량의 성장호르몬을 투여하여 부분 저항성을 극복하도록 하고, 성장호르몬 수용체의 이상을 비롯한 저항성의 원인을 규명하여야 할 것이다. 또한 성장호르몬 저항성이 확인된다면 IGF-I 치료를 고려해 볼 수 있겠다.

본 연구결과 일본인과 한국인에서 공통된 intron 염기서열이 있다는 점, polymorphism으로 생각되는 G168은 변이형의 빈도가 서양의 보고와 많이 차이를 보인다는 사실 등은 한국인의 성장호르몬 수용체 유전자의 특징으로 생각된다. 앞으로 성장호르몬 수용체 유전자 분석에서 이형접합체, intron을 포함하여 단일 염기서열의 변화에도 관심을 높여야 하겠으며 나아가 기능변화로 연결되는지 밝혀내는 연구가 진행되어야 하겠다.

## V. 결 론

특발성 저신장증 환아의 저신장의 원인으로 부분적 성장호르몬 저항성 유무를 조사하고, 성장호르몬 저항성이 성장호르몬 수용체 유전자의 이상에서 기인되는지 알아보고자 특발성 저신장증 환아들의 성장호르몬 투여에 대한 반응을 평가하고, 성장호르몬 수용체 유전자를 분석한 결과, 특발성 저신장증에는 부분적 성장호르몬 저항성이 존재하는 것으로 생각되었다. 그러나 성장호르몬 저항성이 성장호르몬 수용체 유전자의 돌연변이만으로 설명되지는 못하였다. 특발성 저신장증 환아 및 대조군에서 exon 6상 168번째 아미노산의 점돌연변이와 exon 10상 526번째 아미노산의 점돌연변이가 존재하는 것을 확인하였다. 본 연구에서 확인한 168번째 아미노산의 점돌연변이의 빈도는 외국보고에 비하여 높은 빈도였다. 526번째 아미노산의 염기서열 중 첫 번째 염기가 adenine 및 cytosine 두 가지 임이 모두 확인되어 L526I 변이형을 확인하였으며 이형접합체의 존재도 확인하였다. Exon 3과 exon 8상의 돌연변이는 발견되지 않았으나 기존의 서구인을 기준으로한 보고와는 다른, 그러나 일본인과 동일한 intron 염기서열을 가지고 있음을 확인하였다. 특발성 저신장증 환아군과 대조군에서 동일하게 서구인과 다른 염기서열이 존재한다는 사실은 성장호르몬 수용체 유전자의 인종간의 차이를 나타내는 것으로 판단된다. 성장호르몬 수용체의 polymorphism으로 알려져 있는 부위에서 이형접합형이 다수 존재하며 변이형의 빈도가 외국에 비하여 높다는 점은 평균 신장치가 인종간의 차이를 보인다는 사실과 관련지어 생각될 수 있겠다.

## 참 고 문 헌

1. Ranke MB. Towards a consensus on the definition of idiopathic short stature. Horm Res 1996; 45 Suppl 2:64-6.

2. Attie KM, Carlsson LMA, Rundle AC, Sherman B, for the National Cooperative Growth study. Evidence for partial growth hormone insensitivity among patients with idiopathic short stature. J Pediatr 1995;127:244-50.
3. Carlsson LM. Partial growth hormone insensitivity in childhood. In: Ross RJM, Savage MO, eds. Growth hormone resistance. Baillieres Clinical Endocrinology and metabolism. London: Bailliere Tindall, 1996:389-400.
4. Laron Z, Pertzelan A, Mannheimer S. Genetic pituitary dwarfism with high serum concentation of growth hormone-a new inborn error of metabolism? Isr J Med Sci 1966;2:152-5.
5. Laron Z, Blum WF, Chatelain PG. Classification of growth hormone insensitivity syndrome. J Pediatr 1993;122:241.
6. Rosenbloom AL. Growth hormone insensitivity: physiologic and genetic basis, phenotype, and treatment. J Pediatr 1999;135:280-9.
7. Eshet R, Laron Z, Pertzelan A, Arnon R, Dintzman M. Defect of human growth hormone receptors in the liver of two patients with Laron-type dwarfism. Isr J Med Sci 1984;20:8-11.
8. Leung DW, Spencer SA, Cachianes G. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. Nature 1987;330:537-43.
9. Baumann G, Stolar MW, Amburn K. A specific growth hormone binding protein in human plasma: Initial characterization. J Clin Endocrinol Metab 1986;62:134-41.
10. Carlsson LMS, Attie KM, Compton PG. Reduced concentration of serum Growth hormone binding protein in children with idiopathic short stature. J Clin Endocrinol Metab 1994;78: 1325-30.
11. Woods KA, Fraser NC, Postel-Vinay MC, Savage MO, Clark AJ. A homozygous splice site mutation affecting the intracellular domain of the growth hormone (GH) receptor resulting in Laron syndrome with elevated GH-binding protein. J Clin Endocrinol Metab 1996;81:1686-90.
12. Kou K, Lajara R, Rotwein P. Amino acid substitutions in the intracellular portion of the growth hormone receptor in patient with Laron syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1993;76:54-9.
13. Murakami M, Narazaki M, Hibi M, Yawata H, Yasukawa K, Hamaguchi M, et al. Critical cytoplasmic region of the interleukin 6 signal transducer gp130 is conserved in the cytokine receptor family. Proc Natl Acad Sci U S A 1991;88:11349-53.
14. Amselem S, Sobrier ML, Dastot F, Duquesnoy P, Duriez B, Goossens M. Molecular basis of inherited growth hormone resistance in childhood. Baillieres Clin Endocrinol Metab 1996; 10:353-69.
15. Amselem S, Sobrier ML, Duquesnoy P, Rappaport R, Postel-Vinay MC, Gourmelen M, et al. Recurrent nonsense mutations in the growth hormone receptor from patients with Laron dwarfism. J Clin Invest 1991;87:1098-102.
16. Berg MA, Peoples R, Perez-Jurado L, Guevara-Aguirre J, Rosenbloom AL, Laron Z, et al. Receptor mutations and haplotypes in growth hormone receptor deficiency: a global survey

and identification of the Ecuadorean E180splice mutation in an oriental Jewish patient. Acta Paediatr Suppl 1994;399:112-4.
17. Amselem S, Duquesnoy P, Duriez B, Dastot F, Sobrier ML, Valleix S, et al. Spectrum of growth hormone receptor mutations and associated haplotypes in Laron syndrome. Hum Mol Genet 1993;2:355-9.
18. Berg MA, Argente J, Chernausek S, Gracia R, Guevara-Aguirre J, Hopp M, et al. Diverse growth hormone receptor gene mutations in Laron syndrome. Am J Hum Genet 1993;52: 998-1005.
19. Duquesnoy P, Sobrier ML, Duriez B, Dastot F, Buchanan CR, Savage MO, et al. A single amino acid substitution in the exoplasmic domain of the human growth hormone (GH) receptor confers familial GH resistance (Laron syndrome) with positive GH-binding activity by abolishing receptor homodimerization. EMBO J 1994;13:1386-95.
20. Ayling RM, Ross R, Towner P, Von Laue S, Finidori J, Moutoussamy S, et al. A dominant-negative mutation of the growth hormone receptor causes familial short stature. Nat Genet 1997;16:13-4.
21. Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Nose O, Okimura Y, Abe H, et al. Growth hormone (GH) insensitivity syndrome with high serum GH-binding protein levels caused by a heterozygous splice site mutation of the GH receptor gene producing a lack of intracellular domain. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:531-7.
22. Berg MA, Guevara-Aguirre J, Rosenbloom AL, Rosenfeld RG, Francke U. Mutation creating a new splice site in the growth hormone receptor genes of 37 Ecuadorean patients with Laron syndrome. Hum Mutat 1992;1:24-32.
23. Yamamoto Y, Katsumata N, Koga J, Tanaka T. Selective amplification of exons 3 and 8 of the human growth hormone receptor (hGHR) gene based on newly identified intron sequences. Endocr J 1999;46:415-9.
24. Goddard AD, Covello R, Luoh S-M, Clackson T, Attie KM. Mutations of the growth hormone receptor in children with idopathic short stature. N Engl J Med 1995;333:1093-98.
25. de Vos AM, Ultsch M, Kossiakoff AA. Human growth hormone and extracellular domain of its receptor: crystal structure of the complex. Science 1992;255:306-12.
26. Clayton PE, Freeth JS, Norman MR. Congenital growth hormone insensitivity syndromes and their relevance to idiopathic short stature. Clin Endocrinol (Oxf) 1999;50:275-83.
27. Soliman AT, El Banna N, Ansari BM. GH response to provocation and circulating IGF-I and IGF-binding protein-3 concentrations, the IGF-I generation test and clinical response to GH therapy in children with beta-thalassaemia. Eur J Endocrinol 1998;138:394-400.
28. Thalange NK, Price DA, Gill MS, Whatmore AJ, Addison GM, Clayton PE. Insulin-like growth factor binding protein-3 generation: an index of growth hormone insensitivity. Pediatr Res 1996;39:849-55.

29. Schwarze CP, Wollmann HA, Binder G, Ranke MB. Short-term increments of insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 predict the growth response to growth hormone (GH) therapy in GH-sensitive children. Acta Paediatr Suppl 1999;88:200-8.
30. Rosenfeld RG, Kemp SF, Hintz RL. Constancy of somatomedin response to growth hormone treatment of hypopituitary dwarfism, and lack of correlation with growth rate. J Clin Endocrinol Metab 1981;53:611-7.
31. Albertsson-Wikland K, Hall K. Growth hormone treatment in short children: relationship between growth and serum insulin-like growth factor I and II levels. J Clin Endocrinol Metab 1987;65:671-8.
32. Cotterill AM, Camacho-Hubner C, Woods K, Martinelli C, Duquesnoy P, Savage MO. The insulin-like growth factor I generation test in the investigation of short stature. Acta Paediatr Suppl 1994;399:128-30.
33. Blum WF, Cotterill AM, Postel-Vinay MC, Ranke MB, Savage MO, Wilton P. Improvement of diagnostic criteria in growth hormone insensitivity syndrome: solutions and pitfalls. Pharmacia Study Group on Insulin-like Growth Factor I Treatment in Growth Hormone Insensitivity Syndromes. Acta Paediatr Suppl 1994;399:117-24.
34. Tauber MT, Porra V, Dastot F, Molinas C, Amselem S, Cholin S, Rochiccioli P, Bieth E. Heterozygous mutation in the WSXWS equivalaent motif of the growth hormone receptor in a child with poor response to growth hormone therapy. Growth Horm IGF Res 1998;8:211-6.
35. Sanchez JE, Perera E, Baumbach L, Cleveland WW. Growth hormone receptor mutations in children with idiopathic short stature. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:4079-83.
36. Goddard AD, Dowd P, Chernausek S, Geffner M, Gertner J, Hintz R, et al. Partial growth-hormone insensitivity: the role of growth-hormone receptor mutations in idiopathic short stature. J Pediatr 1997;131:S51-5.
37. Blum WF, Ranke MB, Savage MO, Hall K. Insulin-like growth factors and their binding proteins in patients with growth hormone receptor deficiency: suggestions for new diagnostic criteria. The Kabi Pharmacia Study Group on Insulin-like Growth Factor I Treatment in Growth Hormone Insensitivity Syndromes. Acta Paediatr Suppl 1992;383:125-6.
38. Cotterill AM, Camacho-Hubner C, Duquesnoy P, Savage MO. Changes in serum IGF-I and IGFBP-3 concentrations during the IGF-I generation test performed prospectively in children with short stature. Clin Endocrinol (Oxf) 1998;48:719-24.
39. Johnston LB, Pashankar F, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJ. Analysis of the intracellular signalling domain of the human growth hormone receptor in children with idiopathic short stature. Clin Endocrinol (Oxf) 2000;52:463-9.
40. Rosenfeld RG, Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J. Growth hormone (GH) insensitivity due to primary GH receptor deficiency. Endocr Rev 1994;15:369-90.
41. Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, et al. Pseudoautosomal deletions

encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. Nat Genet 1997;16:54-63.
42. Ellison JW, Wardak Z, Young MF, Gehron Robey P, Laig-Webster M, Chiong W. PHOG, a candidate gene for involvement in the short stature of Turner syndrome. Hum Mol Genet 1997;6:1341-7.
43. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, et al. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. Proc Natl Acad Sci U S A 1989;86:8083-7.
44. Kaji H, Nose O, Tajiri H, Takahashi Y, Iida K, Takahashi T, et al. Novel compound heterozygous mutations of growth hormone (GH) receptor gene in a patient with GH insensitivity syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:3705-9.
45. **김흥식**. Growth hormone insensitivity syndrome (Laron syndrome) 2**예**. **대한소아내분비학회지** 1999;4:23-5.

**Abstract**

## Growth hormone receptor mutation and partial growth hormone insensitivity in children with idiopathic short stature

**Sochung Chung**

*Brain Korea 21 Project for Medical Sciences*
*The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Duk Hee Kim)

The children with idiopathic short stature are classified on the base of exclusion criteria (dysmorphic features, endocrine diseases, chromosomal abnormalities, malnutrition and underlying systemic illness). Short stature with normal or increased circulating growth hormone and low IGF-I levels indicates that partial growth hormone insensitivity may play a role in idiopathic short stature. As in Laron syndrome which growth hormone receptor defects are responsible for the short stature, some heterozygous defects of the growth hormone receptor gene were reported in idiopathic short stature.

The present study was performed to investigate whether partial growth hormone insensitivity is observed in children with idiopathic short stature and whether partial growth hormone insensitivity is related to growth hormone receptor defect.

Twenty-five children with idiopathic short stature were studied and 30 normal children were enrolled as control. Anthropometric measurement and IGF-I generation test were performed. The growth hormone receptor gene was amplified by PCR, from leukocyte-derived DNA and sequenced directly.

Despite increased IGF-I after growth hormone treatment, there was no significant correlation between delta IGF-I and delta HTSDS, as well as between delta IGFBP-3 and delta HTSDS indicating partial growth hormone insensitivity in children with idiopathic short stature. When growth hormone receptor gene were analyzed, polymorphism was observed. That is, adenine which is third base for 168th amino acid was guanine. Furthermore this finding was observed in 100% of 55 children examined, which was quite higher incidence compared to previous report from other country. The first base of 526th amino acid was either adenine or cytosine or heterozygous of adenine and cytosine, suggesting an occurrence of I526L variant. Deletions of one or two bases in flanking region of exon 3 and 8 were confirmed in Korean, the same as it occurs in Japanese. There are differences in the sequences of human growth hormone receptor gene among different ethnic populations. Wide

variation of phenotype in idiopathic short stature cannot clearly be explained by growth hormone receptor gene alone. Variation or polymorphism of growth hormone receptor gene remains to be functionally analysed.

In conclusion, idiopathic short stature might due to the partial growth hormone insensitivity which is resulted by mutation of growth hormone receptor gene.

---

Key Words: idiopathic short stature, growth hormone, growth hormone receptor, growth hormone insensitivity