

드라베 증후군의 *SCN1A* 유전자 변이 양상

연세대학교 의과대학 소아과학교실 세브란스 어린이병원 소아신경과¹, 연세대학교 의과대학 세브란스병원 진단검사의학과², 국민건강보험공단 일산병원 소아청소년과³, 연세대학교 의과대학 강남세브란스병원 소아신경과⁴

조민정¹ · 권순성² · 이승태² · 김홍동¹ · 정희정³ · 이준수¹ · 이영목⁴ · 김세희¹ · 강훈철¹

SCN1A Variants in Patients with Dravet Syndrome

Purpose: The aim of this study is to examine the *SCN1A* variants in Korean patients with Dravet syndrome.

Methods: We conducted a retrospective study of clinically confirmed thirty-nine patients with Dravet syndrome who visit our hospital from January 2007 to May 2015. We analyzed the *SCN1A* variants by direct sequencing. We analyzed and classified *SCN1A* variants according to ACMG/AMP (American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology) guideline.

Results: A total thirty-nine patients (female 22, male 17) were included. Among them, twenty patients (51.2%) with Dravet syndrome had pathogenic or likely pathogenic *SCN1A* mutations including fifteen truncating mutations (12 nonsense and 3 splice region mutations), 5 missense mutations. The remained variants in nineteen patients with Dravet syndrome classified into ten variants of unknown significances, and 9 benign variants. In our study, truncation mutations are located whole span of *SCN1A* protein, while half of missense mutations are located at higher density on pore loop (S5-S6) regions.

Conclusion: Unlike previous known study, lower positive rate of *SCN1A* mutation of Dravet syndrome was revealed in our study. The importance of parental test (trio test) and other additional tests have been emphasized.

Key Words: Dravet syndrome, *SCN1A* mutation

Min Jung Cho, MD¹, Soon Sung Kwon, MD², Seung-Tae Lee, MD, PhD², Heung Dong Kim, MD, PhD¹, Hee Jung Chung, MD, PhD³, Joon Soo Lee, MD, PhD¹, Young Mock Lee, MD, PhD⁴, Se Hee Kim, MD¹, Hoon-Chul Kang, MD, PhD¹

¹Division of Pediatric Neurology, Department of Pediatrics, Severance Children's Hospital, Yonsei University College of Medicine, Epilepsy Research Institute, Seoul, Korea, ²Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, ³Departments Pediatrics of National Health Insurance Service Ilsan Hospital, Goyang, Korea, ⁴Department of Pediatrics, Gangnam Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

서론

드라베 증후군은 생후 첫 1년 내에 발생한 열성 또는 비열성 경련, 열에 의해 유발되는 잦은 경련, 정상 발달이었으나 점차 진행되는 발달지연 등을 특징으로 가지는 소아에서 발생하는 난치성 뇌전증의 하나이다^{1,2)}. 일반적으로 드라베 증후군의 70%에서 *SCN1A* 돌연변이가 확인된다³⁾. 그 외 *PCDH19*, *GABRG2*, *SCN9A* 돌연변이 등이 드라베 증후군과 관련있다고 알려져 있다⁴⁾. *SCN1A*는 소듐 통로를 구성하는 유전자로서 *SCN1A*의 돌연변이는 신경 세포의 활성 전위(action potential)에 영향을 끼쳐 드라베 증후군을 일으킨다. *SCN1A* 돌연변이가 단백질 발현에 미치는 영향에 따라 결절(truncation) 돌연변이와 과오(missense) 돌연변이로 분류할 수 있다. *SCN1A* 유전자는 4개의 영역(domain, DI-DIV), 전압 센서(voltage sensor, S4)와 구멍 고리 지역(pore loop region)을 구성하는 부분(segment, S5-S6)을 포함한 여섯 개의 막 경유 부분(transmembrane segments, S1-S6)와 각각의 segment와 domain을 잇는 세포질 고리(cytoplasmic loop)나 연결(linker)로 구성되어 있으며^{5,6)}, *SCN1A* 돌연변이의

This research was supported by a grant of the Korea Health Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), funded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant number : HI15C1601).

Submitted: 9 March, 2017

Revised: 20 March, 2017

Accepted: 21 March, 2017

Correspondence to Hoon-Chul Kang, MD, PhD
Department of Pediatrics, Severance Children's Hospital, Yonsei University College of Medicine, 50-1, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-2050, Fax: +82-2-393-9118
E-mail: hipo0207@yuhs.ac

종류에 따라 돌연변이가 호발하는 위치가 다르다⁷⁾.

본 연구에서는 단일 기관에서의 39명 드라베 증후군 환자의 *SCN1A* 유전자 변이를 분석하였으며 이를 통해 *SCN1A*의 돌연변이 양상과 위치 및 특성을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2007년 1월부터 2015년 5월까지 세브란스병원 소아신경과에 내원한 전형적인 임상 증상을 가진 드라베 증후군 환자를 대상으로 하였다. 타병원에서 진단 후 전원온 경우는 제외하였으며 세브란스 병원에서 새로 진단된 환자, 유전자 검사 결과지가 있는 경우만 포함하여 총 39명의 드라베 증후군 환자를 대상으로 하였다. 드라베 증후군의 진단은 ILAE (International League Against Epilepsy)⁸⁾이 제시한 진단 기준을 참고하여 1) 생후 첫 1년 내에 발생한 열성 또는 비열성 경련이 있으며, 2) 근간대성 경련을 포함한 여러 종류의 경련이 있고, 3) 열에 의해 유발되는 잦은 경련이 있고, 4) 정상 발달이었으나 점차 진행되는 발달지연이 동반된 경우로 정의하였고, 모든 환자는 상기 조건을 만족하였다.

본 연구는 연세대학교 병원 임상 윤리 위원회의 승인을 받아 진행하였다(IRB number: 4-2016-0921).

2. 방법

본 연구는 39명의 드라베 증후군 대상 환자의 의무기록을 바탕으로 후향적으로 조사하였다. 대상 환자는 모두 *SCN1A* 유전자 검사를 진행하였으며 그 결과는 직접 염기 서열 분석법을 이용하여 분석하였고 유전자 변이는 ACMG/AMP (American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology)⁹⁾ 가이드라인에 따라 해석하고 분류하였다. 그 중 확인된 돌연변이는 결절 돌연변이와 한 아미노산의 변이만을 초래하는 과오 돌연변이로 분류하였다. 유전자 변이의 위치는 자동화된 분석 웹사이트인 <http://www.uniprot.org>를 이용하여 표기하였다.

결과

대상 환자 총 39명 중 17명이 남자, 22명이 여자였다. ACMG/AMP 가이드라인에 따라 질환 유발/질환 유발 가능(pathogenic/likely pathogenic) 20명은 돌연변이 군으로 분류하였고, 의미 불확실 변이

(VOUS, variants of unknown significance) 10명과 양성(benign) 9명은 비돌연변이 군으로 분류하였다. 총 39명의 대상 환자 중 *SCN1A* 유전자 돌연변이 양성률은 51.2%이었다. 돌연변이 군과 비돌연변이 군의 임상정보를 비교하여 Table 1에 정리하였다. 성별에 대한 차이는 돌연변이 군 20명중 여성은 14명, 남성은 6명이었으며, 비돌연변이 군 19명중 여성은 8명, 남성은 11명이었으며 두 군에서 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($P=0.079$). 경련 시작 연령과 관련하여 돌연변이 군은 5.16 ± 2.04 개월이었으며 비돌연변이 군은 9.12 ± 9.24 개월으로 돌연변이 군에서 더 어린 나이에 경련을 시작하였고 통계적으로 이는 유의한 차이를 보였다($P=0.005$). 드라베 증후군을 진단받은 연령은 돌연변이 군에서 52.80 ± 64.68 개월이었으며 비돌연변이 군에서 48.00 ± 45.72 개월로 두 군에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.790$).

돌연변이 군(pathogenic/likely pathogenic group) 20명과 비돌연변이 군(VOUS, benign group) 19명의 유전자 분석 결과를 Table 2에 정리하였다. 돌연변이 군은 결절 돌연변이 15명과 과오 돌연변이 5명으로 구성되었으며, 이 중 결절 돌연변이 15명은 5명의 무의미(nonsense) 돌연변이, 7명의 틀 이동(frameshift) 돌연변이, 3명의 접합 부위(splice site) 돌연변이로 분석되었다.

각 *SCN1A* 유전자 돌연변이의 위치는 Fig. 1에 표시하였다. 결절 돌연변이는 *SCN1A* 단백질의 전 구역에 걸쳐 위치하고 있었으며, 반면 60%의 과오 돌연변이는 특정 pore loop (S5-S6) 구역에 밀집하여 위치해 있었다.

고찰

각 돌연변이의 호발하는 위치는 기존의 연구와 다름없이, 결절 돌연변이는 *SCN1A* 단백질의 전 구역에 걸쳐 위치하고 있었으며 과오 돌연변이의 60%는 특정 pore loop (S5-S6) 구역에 밀집하여 위치하였다⁷⁾.

일반적으로 드라베 증후군의 70%에서 *SCN1A* 돌연변이가 있는 것으로 알려져 있다³⁾. 그러나 본 연구에서는 ILAE 기준을 만족한 임상적 드라베 증후군 환자에서의 *SCN1A* 유전자 돌연변이의 양성률은

Table 1. Characteristics of Patients according to *SCN1A* Mutation

	Mutation	Non-mutation	P-value
Sex	F14, M6	F8, M11	0.079
Sz onset age (mo)	5.16 ± 2.04	9.12 ± 9.24	0.005
Age diagnosed with DS (mo)	52.80 ± 64.68	48.00 ± 45.72	0.790

F, female; M, male; DS, Dravet syndrome.

Values are presented as mean±standard deviation or number.

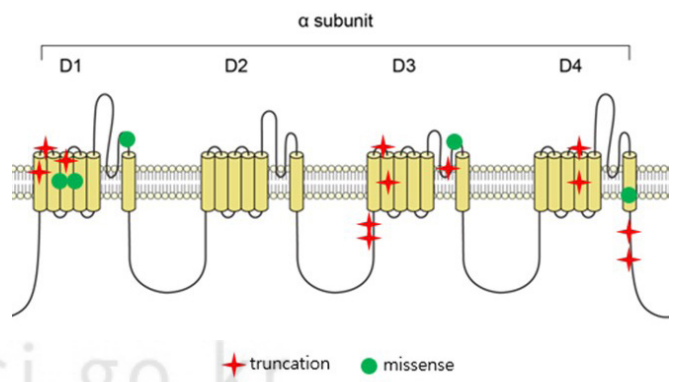


Fig. 1. Location of *SCN1A* mutations on the protein

Table 2. *SCN1A* Mutational Analysis of the Mutation Groups (pathogenic + likely pathogenic)

Patient	cDNA	protein	type	ACMG/AMP	location
Truncation mutations					
1	c.3733C>T	p.R1245X	Nonsense	P	DIII S1-S2
2	c.3633T>A	p.C1211X	Nonsense	LP	DII-DIII
3	c.4933C>T	p.R1645X	Nonsense	LP	DIV S4
4	c.4219C>T	p.R1407X	Nonsense	P	DIII S5-S6
5	c.459G>A	p.W153X	Nonsense	LP	DI S1-S2
6	c.3576_3580delTCAAA	p.I1194CfsX21	Frameshift	LP	DII-DIII
7	c.5536_5539del	p.K1846SfsX11	Frameshift	P	C-terminal
8	c.596_602+3delCATTTCGCGTA	p.T199SfsX15	Frameshift	LP	DI S1-S2
9	c.5390delC	p.A1797EfsX4	Frameshift	LP	C-terminal
10	c.408delinsGA	p.C136WfsX14	Frameshift	LP	DI S1
11	c.3800dupT	p.M1267fsX27	Frameshift	LP	DIII S2
12	c.4900_4901delCT	p.L1634VfsX8	Frameshift	LP	DIV S3-S4
13	c.2415+1G>A		Splice site	LP	
14	c.965-2A>G		Splice site	LP	
15	c.2589+2T>C		Splice site	LP	
Missense mutations					
16	c.580G>A	p.D194N	Missense	LP	DI S3
17	c.580G>A	p.D194N	Missense	LP	DI S3
18	c.5341T>C	p.Y1781H	Missense	LP	DIV S6
19	c.4261G>T	p.Gly1421Trp	Missense	LP	DIII S5-S6
20	c.1178G>A	p.R393H	Missense	P	DI S5-S6

ACMG/AMP, American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology; P, pathogenic; LP, likely pathogenic.

51.2%로 기존의 연구에서 알려진 양성률보다 낮게 나왔다. 그 이유로는 2015년 마지막으로 개정된 ACMG/AMP 가이드라인에 따라 *SCN1A* 유전자 변이의 결과를 해석하면 pathogenic/likely pathogenic 을 만족시키는 요건을 충족시키는 것이 어려웠던 점이 주원인으로 생각된다. 본 연구에서 VOUS로 분류된 10명의 환자는 부모 검사(trio test)나 기능 검사(functional study)가 뒷받침되면 VOUS가 likely pathogenic으로 유전자 변이의 해석 결과가 달라져서, 비돌연변이가 돌연변이로 바뀌어 *SCN1A* 돌연변이 양성률이 높아지게 된다. 본 연구에서는 39명의 환자 중 부모 검사(trio test)를 진행한 경우는 없었으며, 한 명의 환자에서 피부 섬유아세포(fibroblast)로 역분화줄기세포(iPSC, induced pluripotent stem cells) 모델을 만들어 시행한 기능 검사를 실시했으며 해당 환자의 VOUS가 likely pathogenic으로 바뀌었다^{10,11}. 이는 본 연구의 분류에서 돌연변이가 비돌연변이로 잘못 분류되었을 가능성을 내포하고 있다.

실제로 임상에서 임상적으로 진단이 확실한 드라베 증후군에서 부모 검사(trio test)를 불필요하다고 생각하는 경우가 많고, 기능 검사는 검사 자체의 어려움으로 인하여 많은 경우에 실시되고 있지 못하다.

최근 많은 연구에서 *SCN1A* 돌연변이가 발달 지연, 언어, 경련의 심각성 및 빈도, 보행 등 환자의 표현형에 독립적인 많은 영향을 가진다고 밝혀지고 있다^{12,13}. 따라서 질병의 특성 및 환자의 표현형을 파악하고 이를 치료에 적용하기 위해서는 유전자 변이의 분류를 명확하게 하여야 한다. 이를 위해 VOUS 등의 유전자 변이에 대하여 추가적인 부모 검사(trio test)나 기능 검사를 통하여 새로운(de novo) 돌연변이임을 밝혀 진단을 명확히 하여야 한다¹⁴. 일반적으로 드라베 증후

군에서 *SCN1A*의 de novo 돌연변이는 약 80-90%의 높은 비율로 발견되고 있다^{7,15}.

드라베 증후군의 약 16-25%에서 *PCDH19* 유전자 돌연변이가 확인되며 소수에서 드라베 증후군의 발생 기전과 관련된 GABA_A 수용체와 관련된 *GABRG2* 유전자의 돌연변이, *SCN1B* 유전자의 돌연변이, *SCN9A* 유전자 돌연변이 등이 드라베 증후군과 관련있다고 알려져 있다^{4,16-19}. *SCN1A* 외 유전자의 돌연변이를 가진 드라베 환자는 시간이 경과함에 따라 약간 다른 임상 경과를 가질 수 있다²⁰. 그러나 실제 임상에서는 드라베 증후군이 의심되는 경우에 검사 결과를 기다리는 시간이나 비용, 보험, 판독 등의 이유로 다른 유전자도 동시에 확인할 수 있는 유전자 패널(gene panel), 전장 유전체 염기 서열 분석법(whole genome sequencing), 전장 엑솜 염기 서열 분석법(whole exome sequencing) 등을 시행하지 않고 단일 *SCN1A* 유전자만 검사하는 경우가 절대적으로 많다. 최근 유전자 진단의 분야가 커지고 중요도가 높아지면서 국내에서도 유전자 패널 검사를 실시하는 병원이 늘어나는 추세인데, 최근 진행되는 이러한 검사들은 다양한 유전자 돌연변이를 찾는 데 큰 도움이 될 것이라 생각된다.

드라베 증후군의 진단, 표현형의 파악 및 치료를 위해서는 *SCN1A* 변이에 대해 부모 검사(trio test)와 기능 검사 등을 통해 정확한 진단을 해야하며 환자에서 단일 *SCN1A* 유전자 항목만 검사하기보다, *SCN1A* 외에도 다양한 유전자 돌연변이가 드라베 증후군을 야기할 수 있으므로 보다 포괄적인 범위의 유전자 검사의 시행을 권장한다.

요약

목적: 이 연구는 드라베 증후군으로 진단받은 소아 환자들을 대상으로 *SCN1A* 돌연변이의 특성에 대해 살펴보고자 하였다.

방법: 2007년 1월부터 2015년 5월까지 임상적으로 드라베 증후군으로 확진된 환자 39명을 대상으로 후향적 연구를 진행하였다. *SCN1A* 변이는 직접 염기 서열 분석법을 이용하여 분석하였고 ACMG/AMP 가이드라인에 따라 분류하였다.

결과: 39명의 환자가 포함되었으며 여아는 22명, 남아는 17명이었다. 총 20명(51.2%)의 드라베 증후군 환자에서 *SCN1A* 병적 돌연변이가 발견되었으며 그 중 15명이 결절 돌연변이, 5명이 과오 돌연변이를 가지고 있었다. 나머지 19명의 드라베 증후군 환자들은 10명에서 임상적 의미를 알 수 없는 변이가 관찰되었고 9명에서 양성 소견을 가지고 있었다. 결절 돌연변이는 *SCN1A* 단백질의 전체 구역에 분포하고 있지만, 과오 돌연변이는 pore loop (S5-S6) regions에 좀 더 높은 비율로 위치하고 있었다.

결론: 기존의 연구와 달리 본 연구에서는 드라베 증후군 환자의 *SCN1A* 돌연변이의 양성률이 낮게 나왔다. 부모 검사(trio test) 및 추가적인 검사의 중요성이 강조된다.

References

- 1) Connolly MB. Dravet syndrome: diagnosis and long-term course. *Can J Neurol Sci* 2016;43 Suppl 3:S3-8.
- 2) Dravet C, Bureau M, Oguni H, Fukuyama Y, Cokar O. Severe myoclonic epilepsy in infancy (Dravet syndrome) In: Roger J, Bureau M, Dravet C, Genton P, Tassinari C, Wolf P, editors. *Epileptic Syndromes in Infancy, Childhood and Adolescence*. 3rd ed. London: John Libbey; 2002;81-103.
- 3) Ceulemans BP, Claes LR, Lagae LG. Clinical correlations of mutations in the *SCN1A* gene: from febrile seizures to severe myoclonic epilepsy in infancy. *Pediatr Neurol* 2004; 30:236-43.
- 4) Marini C, Scheffer IE, Nabbout R, Suls A, De Jonghe P, Zara F, et al. The genetics of Dravet syndrome. *Epilepsia* 2011;52 Suppl 2:24-9.
- 5) Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P. De novo mutations in sodium-channel gene *SCN1A* cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet* 2001;68:1327-32.
- 6) Wallace RH, Hodgson BL, Grinton BE, Gardiner RM, Robinson R, Rodriguez-Casero V, et al. Sodium channel alpha1-subunit mutations in severe myoclonic epilepsy of infancy and infantile spasms. *Neurology* 2003;61:765-9.
- 7) Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF. Clinical implications of *SCN1A* missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia* 2017;58: 282-90.
- 8) Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51:676-85.
- 9) Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-24.
- 10) Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-72.
- 11) Higurashi N, Uchida T, Lossin C, Misumi Y, Okada Y, Akamatsu W, et al. A human Dravet syndrome model from patient induced pluripotent stem cells. *Mol Brain* 2013;6:19.
- 12) Nabbout R, Chemaly N, Chipaux M, Barcia G, Bouis C, Dubouché C, et al. Encephalopathy in children with Dravet syndrome is not a pure consequence of epilepsy. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:176.
- 13) De Liso P, Chemaly N, Laschet J, Barnerias C, Hully M, Leunen D, et al. Patients with dravet syndrome in the era of stiripentol: a French cohort cross-sectional study. *Epilepsy Res* 2016;125:42-6.
- 14) Veltman JA, Brunner HG. De novo mutations in human genetic disease. *Nature Reviews Genetics* 2012;13:565-75.
- 15) Lim BC, Hwang H, Chae JH, Choi JE, Hwang YS, Kang SH, et al. *SCN1A* mutational analysis in Korean patients with Dravet syndrome. *Seizure* 2011;20:789-94.
- 16) Singh NA, Pappas C, Dahle EJ, Claes LR, Pruess TH, De Jonghe P, et al. A role of *SCN9A* in human epilepsies, as a cause of febrile seizures and as a potential modifier of Dravet syndrome. *PLoS Genet* 2009;5:e1000649.
- 17) Marini C, Mei D, Parmeggiani L, Norci V, Calado E, Ferrari A, et al. Protocadherin 19 mutations in girls with infantile-onset epilepsy. *Neurology* 2010;75:646-53.
- 18) Harkin LA, Bowser DN, Dibbens LM, Singh R, Phillips F, Wallace RH, et al. Truncation of the GABA(A)-receptor gamma2 subunit in a family with generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am J Hum Genet* 2002;70:530-6.
- 19) Patino GA, Claes LR, Lopez-Santiago LF, Slat EA, Dondeti RS, Chen C, et al. A functional null mutation of *SCN1B* in a patient with Dravet syndrome. *J Neurosci* 2009;29:10764-78.
- 20) De Jonghe P. Molecular genetics of Dravet syndrome. *Dev Med Child Neurol* 2011;53 Suppl 2:7-10.