



저신장 환아에서 발견한 TRAPPC2 유전자 돌연변이의 기능 검사를 통한 해석 1예 보고

Interpretation of the TRAPPC2 Mutation Found in a Child with Short Stature Using a Functional Study: A Case Report

이소진¹ · 김수진² · 원동주¹ · 신새암¹ · 권아름² · 이승태¹ · 최종락¹

SoJin Lee, M.D.¹, Sujin Kim, M.D.², Dongju Won, M.D.¹, Saeam Shin, M.D.¹, Ahreum Kwon, M.D.², Seung-Tae Lee, M.D.¹, Jong Rak Choi, M.D.¹

연세대학교 의과대학 진단검사의학과¹, 소아청소년과²

Department of Laboratory Medicine¹, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul; Department of Pediatrics², Severance Children's Hospital, Endocrine Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Spondyloepiphyseal dysplasia tarda (SEDТ) is a rare, X-chromosome-linked recessive osteochondrodysplasia caused by mutations in the TRAPPC2 gene. Molecular methods are helpful for diagnosis because short stature and degenerative joint diseases develop in late childhood. We report a case of interpreting the pathogenicity of TRAPPC2 gene mutation, which includes intronic region deletion, using a functional study. The conflicting results of mRNA sequencing and the automated program predicting splice mutations emphasize the importance of functional studies.

Key Words: TRAPPC2, Spondyloepiphyseal dysplasia tarda, Short stature, Functional study

서론

만발성 척추골단형성이상(spondyloepiphyseal dysplasia tarda, SEDТ)은 X 염색체 연관 열성으로 유전되는 드문 골연골이형성장애이다(MIM 313400) [1]. 10대 초반에 나타나는 이 질환은 목과 몸통이 짧은 불균형한 작은 키와 술통가슴(barrel chest)이 발생할

수 있고, 영상검사서 척추의 전방 꺾기(wedging)와 척추체(vertebral body)의 중심부와 후방의 혹(hump)이 특징이다[2].

TRAPPC2 유전자의 병적인 변이가 SEDТ를 일으킨다고 알려져 있으며, TRAPPC2 유전자는 염색체 Xp22 위치의 약 20 kb의 게놈 DNA에 걸쳐있는 6개의 엑손을 포함한다[3]. 코딩영역(open reading frame, ORF)은 420 bp의 크기이고 엑손 3, 4, 5, 6이 포함된다. TRAPPC2 단백질은 기능이 명확하게 밝혀지지 않았으나 소포체에서 골지체로의 소포수송에 관여하는 것으로 추정되며, 140개의 아미노산으로 구성되어 있다[1]. SEDТ는 5-10세경 늦은 아동기에 발병되고 전신 대사 이상이 없기 때문에 임상적 진단은 어려울 수 있으며 유전적 진단이 질병의 조기진단과 관리에서 중요하다[4].

본 연구에서는 저신장 환아에서 차세대염기서열분석(next-generation sequencing, NGS) 검사를 통해 발견된 TRAPPC2 유전자의 인트론 변이에 대하여 기능 검사(functional study)를 통해 병원성(pathogenicity)을 판정한 사례를 소개한다. 본 연구는 연세대학교병원 기관생명윤리위원회의 승인을 받았다(IRB No. 4-2022-1583).

Corresponding author: Dongju Won, M.D.

<https://orcid.org/0000-0002-0084-0216>

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Severance Hospital, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-2453, Fax: +82-2-2227-8353, E-mail: WDJBABO@yuhs.ac

Co-corresponding author: Ahreum Kwon, M.D.

<https://orcid.org/0000-0002-9692-2135>

Department of Pediatrics, Yonsei University College of Medicine, Severance Hospital, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-8203, Fax: +82-2-393-9118, E-mail: arnea@yuhs.ac

Received: March 7, 2023

Revision received: May 8, 2023

Accepted: May 8, 2023

This article is available from <https://www.labmedonline.org>

© 2024, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

증례

특이 과거력이 없는 9세 남아가 저신장과 과체중을 주소로 비만, 성조숙증 및 성장 평가를 위하여 내원하였다. 키와 몸무게는 각각

124.8 cm (3-5 백분위), 39.9 kg (75-90 백분위)이었고, 체질량지수는 25.62 (>95 백분위)이었다. 또한 연간성장률은 2-3 cm/년으로 나이에 비해 떨어져있었다. 아버지, 어머니의 키는 각각 183 cm, 159 cm이었고, 외조부, 외조모의 키는 155 cm이었고, 외삼촌(38세)의 키는 156 cm이었다. 환아는 신체 검진과 흉부 X-ray상 오목가슴(pectus carinatum)이 있었으나 폐와 심장에 기능적인 문제가 없어 외래 추적관찰 중이었다. 본원에서 시행한 whole spine X-ray에서 'mild plastypondyly with bullet shaped vertebral bodies' 소견을 보였고, 골격 이형성증에 대해 선천적인 원인을 파악하기 위해 환아의 말초혈액 검체를 이용하여 NGS를 기반으로 한 대사장애패널 검사를 진행하였다(NextSeq 550Dx System; Illumina, San Diego, CA, USA). 해당 패널에는 TRAPPC2 유전자를 포함하여 대사 장애질환과 연관된 약 4,853개의 유전자가 포함되어 있다.

환아의 NGS 검사 결과 복제 수 변이는 발견되지 않았고, 2015 American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology (ACMG/AMP) guidelines [5]에 따라, VOUS (variant of unknown significance)로 해석되는 염기서열변이가 발견되었다. 이 중에서 반접합체(hemizygote) 형태로 발견된 TRAPPC2 유전자의 c.239-10_239-7del (accession #: NM_001011658.4) 변이는 환아의 임상 증상과 연관 가능성이 높았고 (PP4), gnomAD/ExAC (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), 1000 Genomes Project (<http://1000genomes.org>), Korean Reference Genome Database (KRGDB, <http://codan.nih.go.kr/coda/KRGDB/index.jsp>) 등의 데이터베이스에서도 빈도가 검색되지 않는 희귀 변이었다(PP2). ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)에서는 'conflicting interpretations of pathogenicity'로 간주하고 있었으나(VCV001332782.2) 여러 문헌에서 SEDT와 관련하여 보고된 바 있는 변이었다(PP5) [4]. 하지만 이 인트론 변이의 스플라이싱 효과(splicing effect)에 관한 문헌이 없었고, 딥 러닝 기반으로 스플라이싱의 높은 예측력을 보인다고 알려진 SpliceAI (<https://github.com/Illumina/SpliceAI>)에서 스플라이싱에 영향을 줄 가능성이 낮을 것으로 예측되었다(score <0.2). 따라서 이 변이에 대한 병원성 판정을 위해 RNA sequencing 및 cDNA Sanger sequencing 검사를 시행하여 스플라이싱 변이에 대한 영향을 평가했다. 환아에서 발견된 TRAPPC2 변이는 인트론 4에 위치하여 엑손 5에 근접하고 있었기 때문에 cDNA Sanger sequencing 검사는 엑손 5의 건너뛰(skiping)를 예측하기 위한 프라이머(primer)를 사용하였다[4, 6]. 검사 결과 환아의 RNA sequencing에서는 TRAPPC2 유전자의 TPM (transcripts per million)이 13.8로 정상대조군의 TPM 20.9보다 발현량이 떨어져 있음이 확인되었고(Fig. 1A), cDNA Sanger sequencing에서는 인트론 4의 일부가 포함되면서 엑손 5의 비정상적인 건너뛰(r.[238_239ins238+1_238+115;239_324del])이 발

생하는 현상이 확인되었다(Fig. 1B). mRNA를 이용한 기능 검사를 통해 PS3의 근거를 포함하여 최종적으로 TRAPPC2 유전자의 c.239-10_239-7del 변이는 병적일 가능성이 있는 변이(likely pathogenic)로 판정하였다. 외삼촌도 DNA Sanger sequencing 검사를 통해 환아와 같은 변이가 반접합체 형태로 있음을 확인하였다(Fig. 1C). 환아는 genotropin (somatropin)과 diphereline (triptorelin acetate)을 투약하며 경과 관찰 중이다.

고찰

SEDT는 일차적인 골격이형성증으로 영상검사에서도 특징적인 소견이 있으나 청소년기까지 발현이 안되어 진단이 늦어질 수 있다. 대부분의 남성 환자는 심각한 골관절염이 발생하고, 고관절 교체수술까지 고려해야 한다. 여성 보인자의 경우 하나의 정상 대립 유전자가 필수 기능을 유지하기에 충분하기 때문에 일반적으로 명확한 증상은 보이지 않는다. 본 연구에서 보고한 TRAPPC2 변이는 SEDT 환자에서 보고된 바 있었으나[4], 병원성 변이(pathogenic/likely pathogenic)로 판단하기에는 근거가 부족하였다. 또한 *in-silico* 분석에서는 스플라이싱에 영향을 줄 가능성이 낮았기 때문에 실제로 스플라이싱에 대한 영향을 확인하는 과정이 필요하였다. 그 결과 인트론 4의 일부를 포함하고 엑손 5를 포함하지 않는 비정상 mRNA가 생성(r.[238_239ins238+1_238+115;239_324del])되어 번역과정의 조기 종료(early termination)를 일으킬 것으로 예측되었다. 또한 외삼촌에서 같은 변이가 발견되었고, 해당 변이가 X 연관 유전되고 있음을 확인하였다. 외삼촌의 평균보다 작은 키 외의 다른 병력청취가 불가능하여 표현형과 일치시키기는 어려웠다. 분자진단 방법을 통한 SEDT 진단은 본 증례의 환아처럼 SEDT의 증상이 발생하기 전에 질환을 진단하고 질병의 심각도를 완화시킬 수 있으며, 중국의 가족연구에서처럼, 가족력이 있는 경우 산전 진단을 통해 SEDT의 조기 발견이 가능하다[7].

현재까지 ClinVar 데이터베이스에 50 bp 미만의 짧은 변이 중 25개의 병원성 변이가 등재되어있고, 그중 스플라이싱 부위와 관련된 병원성 변이는 4개이다. 본 증례의 변이는 ClinVar 데이터베이스에서 병원성 해석이 상충적(conflicting interpretations of pathogenicity)이었다. 그러나 mRNA를 이용한 분자검사를 통하여 스플라이싱에 영향을 주는 변이임을 확인하여 변이의 해석을 재분류하였다.

결론적으로, 본 증례는 TRAPPC2 유전자의 mRNA의 분자검사를 통해 스플라이싱에 미치는 영향을 확인하였고, 기존에 VUS로 해석했던 변이를 likely pathogenic으로 상향하였다. 또한 컴퓨터를 이용한 스플라이싱 변이의 예측과 실제 산물의 차이를 보여줌으로써 기능 검사의 중요성을 강조하고, 질병을 유발하는 메커니즘을 이해하기 위한 후속연구의 발판이 될 것이라 생각된다.

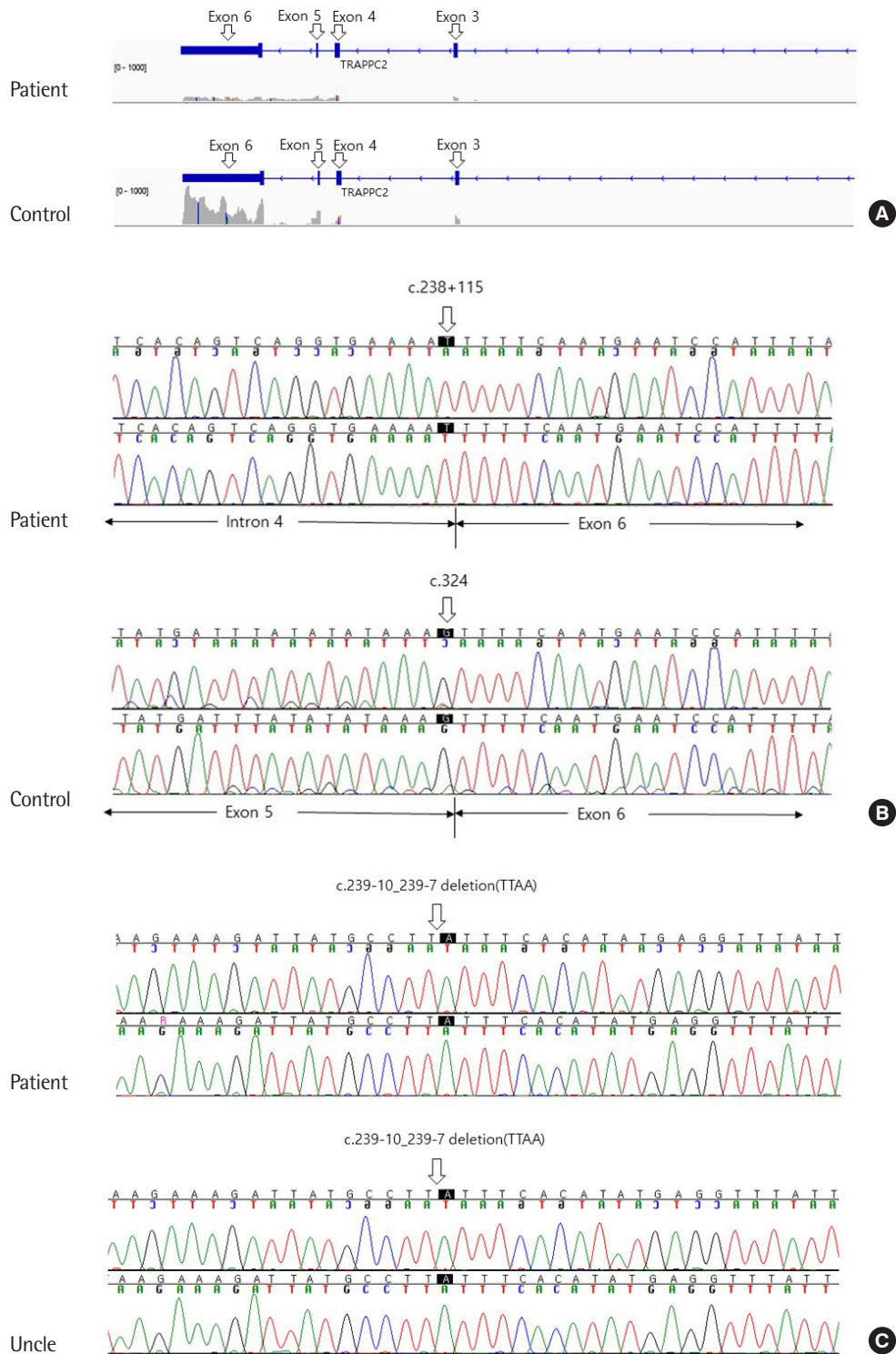


Fig. 1. (A) IGV coverage of the *TRAPPC2* region in the patient (top) and the control individual (bottom). The expression of the *TRAPPC2* was lower in patient than in the control individual. The TPM of the *TRAPPC2* was 13.8 in the patient and 20.9 in the control individual. (B) cDNA Sanger sequencing of the patient (top) and the control individual (bottom). Abnormal skipping of the *TRAPPC2* from intron 4 to exon 6 [r.(c.238_239ins238+1_238+115;239_324del)] was found in the patient. (C) DNA Sanger sequencing of the patient (top) and the uncle (bottom). The c.239-10_239-7del variant was found in both cases with the deletion of TTAA located in intron 4 of the *TRAPPC2*. Abbreviations: IGV, Integrative Genomics Viewer; TPM, transcripts per million.

요약

만발성 척추골단형성이상은 *TRAPPC2* 유전자의 변이로 인한 드문 X 염색체 연관 열성으로 유전되는 골연골이형성장애이다. 작은 키와 퇴행성 관절염이 늦은 청소년기에 발현되므로 분자생물학적 검사가 진단에 도움이 된다. *TRAPPC2* 유전자의 인트론 부위의 결실변이인 c.239-10_239-7del에 대하여 기능 검사를 이용하여 병원성을 해석한 사례를 보고한다. RNA sequencing과 cDNA Sanger sequencing을 이용하여, *TRAPPC2* 유전자의 mRNA 발현량 감소와 대체 스플라이싱을 확인하였다. mRNA 분석과 스플라이싱 변이를 예측하는 자동화 프로그램의 상충되는 결과는 기능 검사의 중요성을 강조한다.

이해관계

저자들은 본연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

본 연구는 연세의료원 산하 하남정밀의료센터의 지원을 받아 진행하였습니다.

REFERENCES

- Gedeon AK, Colley A, Jamieson R, Thompson EM, Rogers J, Sillence D, et al. Identification of the gene (*SEDL*) causing X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda. *Nat Genet* 1999;22:400-4.
- MacKenzie JJ, Fitzpatrick J, Babyn P, Ferrero GB, Ballabio A, Billingsley G, et al. X linked spondyloepiphyseal dysplasia: a clinical, radiological, and molecular study of a large kindred. *J Med Genet* 1996;33:823-8.
- Géczy J, Hillman MA, Gedeon AK, Cox TC, Baker E, Mulley JC. Gene structure and expression study of the *SEDL* gene for spondyloepiphyseal dysplasia tarda. *Genomics* 2000;69:242-51.
- Gedeon AK, Tiller GE, Le Merrer M, Heuertz S, Tranebjaerg L, Chitayat D, et al. The molecular basis of X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda. *Am J Hum Genet* 2001;68:1386-97.
- 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.
- Shaw MA, Brunetti-Pierri N, Kádasi L, Kováčová V, Van Maldergem L, De Brasi D, et al. Identification of three novel *SEDL* mutations, including mutation in the rare, non-canonical splice site of exon 4. *Clin Genet* 2003;64:235-42.
- Wang H, Wu W, Xu Z, Xie J. A novel splicing mutation in the *SEDL* gene causes spondyloepiphyseal dysplasia tarda in a large Chinese pedigree. *Clin Chim Acta* 2013;425:30-3.