

## X-linked Charcot-Marie-Tooth 환자에서 새로이 발견된 Connexin32 유전자의 Missense 돌연변이 Cys168Arg

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실, 연세대학교 의과대학 신경과학교실\*, 공주대학교 생명과학과†

최병옥 선우일남\* 박기덕 김용재 최경규 이미선† 황정희† 정기화†

### X-linked Charcot-Marie-Tooth Patient with a Novel Cys168Arg Missense Mutation in the Connexin32 Gene

Byung-Ok Choi, M.D., Il Nam Sunwoo, M.D.\*, Kee-Duk Park, M.D., Yong-Jae Kim, M.D.,  
Kyoung-Gyu Choi, M.D., Mi Sun Lee<sup>†</sup>, Jung Hee Hwang, M.Sc.<sup>†</sup>, Ki Wha Chung, Ph.D.<sup>†</sup>

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

*Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine\*, Seoul;*

*Department of Biological Science, Kongju National University<sup>†</sup>, Gongju, Korea*

X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX) disease is a clinically heterogeneous hereditary motor and sensory neuropathy. The X-linked inheritance showed an absence of male-to-male transmission and a more severe disease phenotype in affected males compared to that in affected female. A missense mutation, Cys168Arg, was found in connexin 32 gene (Cx32/GJB1) from a patient with CMTX neuropathy. The familial history of this patient also suggested that the disease is X-linked CMT. Thus, we report a CMTX family having the novel Cys168Arg mutation in the Cx32 gene.

J Korean Neurol Assoc 22(1):76~79, 2004

**Key Words:** X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX), Connexin 32, Missense mutation

하지 비골근육(peroneal muscle)에서 서서히 진행되는 근력 약화와 위축을 특징으로 하는 Charcot-Marie-Tooth (CMT) 중에서 X 염색체에 위치하며 간극 결합(gap junction)을 형성하는 connexin32 (Cx32) 유전자의 변이에 의한 X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX)는 1993년에 Bergoffen 등<sup>1</sup>에 의해 유전자 돌연변이가 처음으로 보고되었다. CMTX는 유전자 변이가 X 염색체에 위치하므로 아버지에서 아들로는 유전되지 않

며, 남자 환자는 여자 환자보다 신경전도 속도의 저하 및 임상 양상이 심하게 나타나는 특징이 있다.<sup>2,3</sup> 저자들은 X 염색체의 Cx32 유전자의 돌연변이를 가진 한국인 CMTX 환자에서 이전에 보고되지 않았던 Cys168Arg의 새로운 돌연변이를 확인하였으므로 이를 보고하는 바이다.

### 증례

36세 남자가 26세부터 시작된 양쪽 손과 발의 근력 약화를 주소로 내원하였다. 환자는 상지의 손끝부터 근력 약화를 보여 젓가락질을 하거나 글씨를 쓰는 데 불편을 느꼈고, 하지의 근력 약화로 보행에 장애를 느꼈다. 이후 증상이 점차 심해져서 손과 발의 근육이 위축되고 장도리 발가락(hammer toe)과 요족(pes cavus)이 생겼다. 양손에 진전(tremor)이 나타나 점차 심해지는 양상을 보였다. 36세가 되어서는 손가락과 발가락의 감각이 둔하다고 느끼게 되었으며 작업을 하는 데 장애를 느끼게 되어

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

**Table 1.** Nerve conduction studies of right upper and lower extremities in CMTX patient with Cys168Arg mutation in the Cx32 gene

| NCS                              | Variable        | Value |
|----------------------------------|-----------------|-------|
| Median motor<br>(wrist-elbow)    | TL (ms)         | 4.8   |
|                                  | CMAP (mV)       | 1.6   |
|                                  | MNCV (m/s)      | 30.7  |
| Ulnar motor<br>(wrist-elbow)     | TL (ms)         | 2.4   |
|                                  | CMAP (mV)       | 3.9   |
|                                  | MNCV (m/s)      | 32.0  |
| Peroneal motor<br>(ankle-knee)   | TL (ms)         | *     |
|                                  | CMAP (mV)       | *     |
|                                  | MNCV (m/s)      | *     |
| Posterior tibial<br>(ankle-knee) | TL (ms)         | 5.2   |
|                                  | CMAP (mV)       | 0.5   |
|                                  | MNCV (m/s)      | 25.2  |
| Median sensory<br>(wrist-elbow)  | SNAP ( $\mu$ V) | 20.4  |
|                                  | SNCV (m/s)      | 35.0  |
| Ulnar sensory<br>(wrist-elbow)   | SNAP ( $\mu$ V) | 10.0  |
|                                  | SNCV (m/s)      | 34.2  |
| Sural nerve                      | SNAP ( $\mu$ V) | 6.0   |
|                                  | SNCV (m/s)      | 22.2  |

TL; terminal latency, CMAP; compound muscle action potentials, MNCV; motor nerve conduction velocity, SNAP; sensory nerve action potentials, SNCV; sensory nerve conduction velocity  
\* no potential

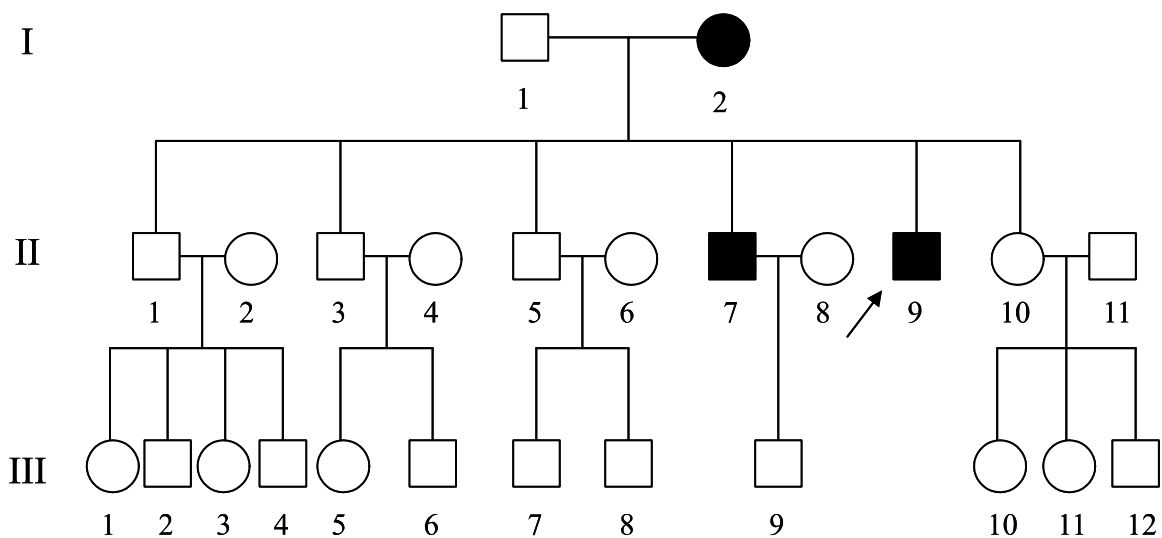
내원하였다.

내원 당시 이학적검사상 원위부 근위축, 장도리 발가락 및 요족 등을 보였으나 속삭연축(fasciculation)은 관찰되지 않았고, 안면근육의 마비도 없었다. 근력검사상 손의 악력은 GIV/GIV이었으며, 손가락의 외전과 내전은 각각 GIV를 보였고, 손목의 신전과 굴곡도 GIV였다. 양하지(발목관절)의 배측 굴곡은 G0~I이었고 족저 굴곡은 GV였으며 이외에는 정상 근력 소견을 보였다. 감각신경 검사상 촉각 및 진동각은 상하지의 원위부에서 저하되었다. 심부건반사는 발목 반사에서만 저하되었으나 그 외의 부위에서는 정상이었고 병적인 반사도 보이지 않았다.

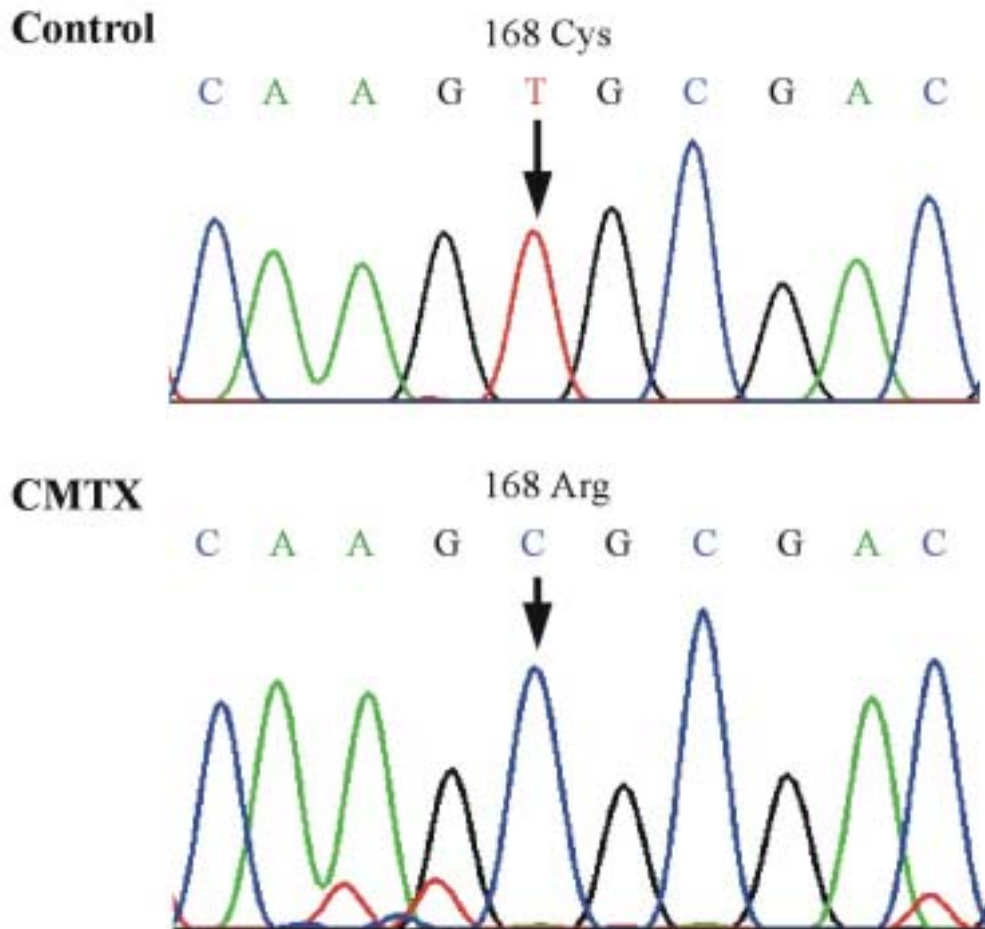
신경전도검사상 정중신경의 말단 잠복기가 길어졌고, 비골신경에서는 복합근육활동전위를 관찰할 수 없었다. 그리고 정중신경, 척골신경 및 후경골신경에서 복합근육활동전위 진폭이 감소되고 운동신경 전도 속도가 저하되었다. 감각신경검사상 정중신경과 척골신경, 비복신경에서 감각신경 전도 속도가 저하되었다. H-reflex는 양하지에서 모두 관찰되지 않았다(Table 1). 비복신경의 조직검사상 semithin section에서는 양파 껍질 (onion bulb) 모양의 구조를 보였고 신경 섬유는 탈수초가 심하고, 결체조직으로 바뀌어 가는 것을 관찰할 수 있었다.

가족력상 환자의 어머니(I-2)와 형(II-7)도 손의 진전과 하지의 근력 약화 및 보행장애가 있었고, 어머니는 증상이 두 아들에 비해서 훨씬 경미하였고 형의 경우에 아들에게로는 유전되지 않는 양상으로 보아 전형적인 X염색체 우성 유전의 양상을 보여주었다(Fig. 1).

Cx32 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 Cx32 유전자의 promoter (P1 및 P2), exon 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, 염기서열 분석을 하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. 환자는 X 염색체 상의



**Figure 1.** Pedigree of X-linked Charcot-Marie-Tooth (CMTX) family with the Cys168Arg missense mutation in the Cx32 gene. This figure illustrates an absence of male-to-male transmission. The black symbols indicate affected individuals (arrow: proband).



**Figure 2.** Sequencing analysis of Cx32 gene. Exon 2 region of Cx32 is amplified by the PCR method and sequenced by the automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 168th codon is TGC encoding Cys (cysteine) in control sample, whereas, it is replaced into CGC encoding Arg (arginine) in the patient sample. Green lines; adenosine residues (A), blue lines; cytosine (C), black lines; guanine (G), red lines; thymine (T).

Cx32 유전자의 2번째 exon의 168번 아미노산을 암호화하는 부분에서 TGC가 CGC로 변하여 시스테인(cysteine; Cys)이 아르기닌(arginine; Arg)으로 치환된 것을 확인하여 CMTX로 진단할 수 있었다(Fig. 2). 본 환자에서 염색체 17p11.2-p12의 복제(duplication)와 myelin protein zero (MPZ), peripheral myelin protein 22 (PMP22) 유전자의 암호화 부위에 대한 점상 돌연변이를 검사하였는데 모두 정상이었다.

## 고 찰

말초신경계 질환은 그 원인이 다양하고 적절한 연구 모델이 없어서 발생 기전을 밝히기 어려운 경우가 대부분이었으나, 분자유전학의 발전으로 이제까지 확실하지 않던 여러 유전성 질환의 본질이 규명되면서 질병에 대한 진단과 치료의 개념이 변화하고 있으며, 질병의 분류도 많이 달라지고 있는데 그 중 가장 대표적인 것이 CMT이다.<sup>45</sup> CMT는 2500명 중 1명의 빈도로 발생한다

고 알려져 있어 유전성 신경 질환 중에서 가장 흔하게 볼 수 있는 질환이며 대개는 상염색체 우성으로 유전하지만 상염색체 열성 유전, 혹은 X 염색체 우성으로 유전하기도 한다.<sup>6</sup> CMT의 원인들이 분자유전학적 측면에서 밝혀지면서, 신경을 둘러싸는 수초단백의 구성 요소들이 보다 더 다양할 것으로 생각되고 있으며, 현재는 이러한 병인에 의해 CMT의 분류 체계가 새롭게 정립되어 가고 있다.<sup>7</sup>

CMT는 상염색체 우성 유전을 하는 CMT1과 2가 있고 병리학적 소견에 의하여 탈수초성 신경병증인 CMT1형과 축삭형 신경병증인 CMT2형으로 나누는데, CMT1형은 다시 유전자 변이에 따라 CMT1A, 1B, 1C로 구분하며 CMT2형은 2A, 2B, 2C, 2D, 2E로 나눌 수 있다.<sup>8</sup> 그리고 상염색체 열성 유전을 하는 CMT3형인 Dejerine-Sottas 신경병증(neuropathy)과 CMT4형이 있다. CMT4형은 다시 유전자 변이형에 따라 CMT4A에서 4F까지 분류된다.<sup>9</sup> 그리고 X 염색체의 변이에 의하여 X 염색체 우성 유전을 하는 CMTX형이 있다.<sup>10</sup> CMTX는

CMT1A 다음으로 높은 빈도를 차지하는 것으로 보고되어 있으며 간극 결합(gap junction)을 형성하는 Cx32 유전자의 변이에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다.<sup>10</sup>

저자들이 발견한 새로운 돌연변이(Cys168Arg)는 CMT 유전자 돌연변이 사이트(<http://molgen-www.uia.ac.be/CMTMutations>)에서 확인한 바에 따르면(2003년 8월 기준) 아직 보고되지 않은 새로운 돌연변이를 확인할 수 있었다. 이 환자에서 돌연변이 관정의 정확성을 기하기 위하여 해당 부위의 PCR 산물을 TA 벡터(Promega, USA)에 삽입한 후 염기서열을 알아보는 이중 검증을 실시하였는데, 4개의 클론이 모두 C 염기서열(돌연변이형)을 보여 해당 missense 돌연변이가 hemizygote 상태를 재확인할 수 있었다. Cys168Arg 돌연변이는 유전암호가 TGC에서 CGC로 변하여 시스테인이 아르기닌으로 치환되어 아미노산의 특성적 차이가 뚜렷하고, 아울러 다른 CMT 환자 50명과 정상 대조군 96명(남자 45명, 여자 51명)을 검사하였으나 동일한 변이가 관찰되지 않는 것으로 볼 때 Cys168Arg가 단순한 다형성(polymorphism)이 아니라 질병 유발 돌연변이로서 환자의 유전적 원인으로 작용했을 가능성이 높다.

본 환자의 가족력은 전형적인 X 염색체 유전 양상을 보여주고 있다. 환자의 어머니와 형에서도 손의 진전과 하지의 근력 약화 등이 관찰되며, 어머니는 증상이 두 아들에 비해서 훨씬 경미하다는 것과 형의 가족에서 남자에서 남자로는 전이되지 않는 현상은 X 염색체 우성 유전을 시사하는 것이라고 할 수 있겠다. 본 연구를 통하여 한국인에서 CMT를 유발하는 돌연변이나 새로운 유전자를 찾게 된 것은 CMT의 발병 및 진행 과정에 대한 분자유전학적 기초를 이해하는 데 큰 도움이 되며, 이와 함께 한국인에게 적합한 CMT 진단 및 치료법을 개발하는데 도움이 될 것이다. 아울러 본 연구의 결과는 CMTX 가계의 중요한 유전상담 자료로 활용될 수 있을 것이다. 즉, 어느 가계가 X 염색체와 연관된 Cx32 유전자의 돌연변이로 원인이 밝혀졌다면, 아버지의 질병은 100% 딸에게 전달되지만, 아들에게는 질병이 전혀 전달되지 않을 것이다.

CMTX는 말초신경의 수초 단백질 장애로 인해 발생하는 질환이지만 일부 학자들은 축삭형 신경병증을 보인다고 주장한 반면, 일부에서는 탈수초성 신경병증이라고 보고하였다.<sup>2</sup> 또한 CMTX 환자의 신경전도검사상 남자에서는 25~40 m/s, 여자에서는 25~50 m/s를 보인다고 알려져 있으며 CMT1형과 CMT2형의 중간형에 해당한다고 하는 보고도 있었다.<sup>2,3</sup> 그런데 이번엔 저자들이 관찰한 환자에서는 정중신경의 신경전도속도가 38 m/s

이하였고 신경조직검사상 양과 껍질 변성이 현저하게 보인 점 등으로 보아 탈수초성 신경병증이라고 하는 것이 보다 타당할 것으로 생각된다. 그러나 이 부분에 대해서는 보다 많은 한국인 CMTX 환자들을 대상으로 조사하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

저자들은 X 염색체의 Cx32 유전자의 돌연변이를 가진 한국인 CMTX 환자에서 이전에 보고 되지 않았던 Cys168Arg의 새로운 돌연변이를 확인하여 CMTX와 관련된 Cx32 유전자 돌연변이형으로 추가하게 되었다.

## REFERENCES

1. 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.
2. Hahn AF, Bolton CF, White CM, Brown WF, Tuuha SE, Tan CC et al. Genotype/phenotype correlations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Ann N Y Acad Sci* 1999;883:366-382.
3. Vital A, Ferrer X, Lagueny 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.
4. Harding AE. From the syndrome of Charcot, Marie and Tooth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995;118:809-818.
5. Chance PF, Pleasure D. Charcot-Marie-Tooth syndrome. *Arch Neurol* 1993;50:1180-1184.
6. Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slaugenhaupt S, Pentao L, Guzzetta V, Trask BJ, et al. DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* 1991;66:219-232.
7. Maier M, Berger P, Suter U. Understanding Schwann cell-neurone interactions: the key to Charcot-Marie-Tooth disease? *J Anat* 2002;200:357-366.
8. 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.
9. 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.
10. Bomont P, Cavalier L, Blondeau F, Ben Hamida C, Belal S, Tazir M, et al. The gene encoding gigaxonin, a new member of the cytoskeletal BTB/kelch repeat family, is mutated in giant axonal neuropathy. *Nat Genet* 2000;26:370-374.