

## 한국인 Charcot-Marie-Tooth 환자에서 Myelin Protein Zero (MPZ) 유전자 돌연변이 분석 -임상 및 전기생리학적 특성-

이화여자대학교 의과대학 신경과학교실, 공주대학교 생명과학과\*, 가톨릭대학교 의과대학 신경과학교실<sup>†</sup>, 연세대학교 의과대학 신경과학교실<sup>‡</sup>

최병옥 정기화\* 조현지 박기덕 이광수<sup>†</sup> 김승민<sup>‡</sup> 선우일남<sup>‡</sup>

### Myelin Protein Zero (MPZ) Gene Analysis in Korean Patients with Charcot-Marie-Tooth - Clinical and Electrophysiological Characteristics -

Byung-Ok Choi, M.D., Ki Wha Chung, Ph.D.\* , Hyun Ji Cho, M.D., Kee-Duk Park, M.D., Kwang-Soo Lee, M.D.<sup>†</sup> , Seung-Min Kim, M.D.<sup>‡</sup> , Il Nam Sunwoo, M.D.<sup>‡</sup>

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

*Department of Biological Science, Kongju National University\*, Gongju;*

*Department of Neurology, The Catholic University of Korea College of Medicine<sup>†</sup> , Seoul;*

*Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine<sup>‡</sup> , Seoul, Korea*

**Background:** Mutations in the myelin protein zero (MPZ) gene, which is located on chromosome 1q21-q22, is present in Charcot-Marie-Tooth disease type 1B (CMT1B), CMT type 2, Dejerine-Sottas syndrome, and congenital hypomyelination neuropathy. It is proposed that the nature and position of the MPZ mutations mainly determine the axonal and demyelinating phenotypes. In this study, we investigated to determine the clinical and electrophysiological characteristics in CMT patients with mutations in the MPZ gene.

**Methods:** We examined mutations of MPZ, in 62 Korean families diagnosed as having CMT disease. Mutations were confirmed by through both strands sequencing. Nerve conduction studies were carried out in CMT patients having each mutation.

**Results:** The three mutations (Asp118Asn, c.449-1G>T (3'-splice site), Lys236Glu), determined to be novel, were not detected in the 105 healthy controls. The mutation frequency of MPZ was similar as those found in several European populations. Electrophysiologically, 3'-splice site mutation (449-1G>T) showed the conduction block and moderate slowing nerve conduction velocities like that of CMT1B. However, the other mutations represented the electrophysiological features of CMT type 2.

**Conclusions:** We report the identified three novel MPZ mutations in Korean CMT patients and the phenotype-genotype correlations based on nerve conduction studies.

J Korean Neurol Assoc 23(2):232-240, 2005

**Key Words:** Charcot-Marie-Tooth disease, MPZ, CMT1B, CMT2, Mutation

Received May 14, 2004 Accepted July 16, 2004

\* Il Nam Sunwoo, M.D.,

Department of Neurology, Yonsei University College of Medicine

C.P.O. Box 8044, Seoul, Korea

Tel: +82-2-361-5463, Fax: +82-2-393-0705

E-mail: sunwooin@yumc.yonsei.ac.kr

\* 본 연구는 한국 과학 재단 목적 기초 연구(R01-2003-000-10716-0) 지원으로 수행되었음.

## 서 론

Charcot-Marie-Tooth (CMT) 질환은 임상적 및 전기생리학적으로 상당히 이질적인 질환으로 알려져 있고, 많은 유전자 돌연변이들이 CMT 질환을 일으키는 원인으로 보고되어 있

다.<sup>1,2</sup>

CMT 질환 중에서 말초 신경병증과 관련된 myelin protein zero (P0, MPZ, MIM# 159440) 유전자 돌연변이는 1993년 Hayasaka 등<sup>3</sup>에 의해 탈수초성 신경병증에서 처음으로 보고되었고 이를 CMT1B (MIM# 118200)로 분류하였다. MPZ 유전자 돌연변이는 대부분 CMT1B와 같은 탈수초성 신경병증과 연관되어 있었으나, 일부에서는 CMT2형과 같은 축삭형 신경병증, 그리고 Dejerine-Scottas syndrome (DSS), congenital hypomyelination (CH)에서도 발견되었다.<sup>4-7</sup>

MPZ 유전자 돌연변이가 유발하는 CMT1B와 CMT2형의 두 그룹 간 차이의 발현에는 주로 MPZ 유전자 돌연변이의 위치와 특성이 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다.<sup>8</sup> 하지만 아직 우리나라에서는 분자유전학적검사로 MPZ 유전자 돌연변이가 확인된 CMT 가족에 대한 보고는 없었다.

이에 저자들은 임상적 진찰 소견 및 전기생리학적검사를 CMT 질환으로 진단된 62가족을 대상으로 하여 유전자검사를 하였고, 이들 중 MPZ 유전자의 돌연변이가 발견된 한국인 CMT 환자들을 대상으로 하여 임상적 및 전기생리학적 특성을 찾아보고자 하였다.

## 대상과 방법

### 1. 대상

신경학적 진찰 소견, 전기생리학적검사 및 비복신경 조직검사 등을 하여 CMT 질환으로 진단된 62가족(241명의 한국인 환자 및 가족 구성원)을 대상으로 하였다. 이들 중 상염색체 우성 유전을 하며 전기생리학적검사를 정중신경의 전도속도가 38 m/s 이하인 CMT 1형은 30가족, 상염색체 우성 유전을 하며 정중신경의 전도속도가 38 m/s 이상인 CMT 2형은 19가족, 심한 임상 양상을 보이며 태생 시부터 증상이 시작된 Dejerine-Scottas syndrome으로 생각되는 CMT 3형은 4가족, 상염색체 열성 유전을 하는 CMT 4형 5가족, 그리고 명확하게 분류하기 어려운 경우가 4가족이 있었다. 정상 대조군으로는 임상 진찰 소견 및 전기생리학적검사를 CMT에 합당한 신경병증의 소견이 없으면서 동시에 CMT의 가족력이 없는 105명(남자 43명, 여자 62명)을 선택하여 대조군으로 하였다. 임상 양상을 비교하기 위해서 발병 연령, 질병 기간, CMT로 인한 기능저하척도(FDS; functional disability scale), 근육 위축, 발모양 변형, 척추 측만증 등을 조사하였다. 발병 연령은 운동이나 감각의 저하, 혹은 발모양 변형 등, CMT 질환의 증상이 처음으로 나타났던 시기로 하였다. 저자들은 CMT 질환의 심한 정도를 측정하기 위하

여 9단계로 된 기능저하척도를 사용하였는데 기준은 다음과 같다.<sup>9</sup> 0: 정상, 1: 정상이지만 피로감이나 통증이 있는 경우(normal but with cramps and fatigability), 2: 달리기를 할 수 없는 경우(inability to run), 3: 걷기가 어렵지만 도움 없이 걷는 것이 가능한 경우(walking difficulty but still possible unaided), 4: 지팡이를 가지고 걸을 수 있는 경우(walk with cane), 5: 목발을 가지고 걸을 수 있는 경우(walk with crutches), 6: 보조기를 착용하고 걸을 수 있는 경우(walk with a walker), 7: 휠체어를 타고 다녀야 하는 경우(wheelchair bound), 8: 누워서 생활하는 경우(bedridden).

모든 연구 대상에 대해서는 면접을 실시하고 본 질환에 대하여 충분히 설명하였으며 유전자 검사에 대한 동의를 구하였다. 동의한 환자 및 가족 구성원들과 정상 대조군들을 대상으로 채혈을 통한 유전자 검사를 시행하였다.

### 2. 전기생리학적검사

모든 연구 대상에서 정중신경, 척골신경, 비골신경 및 후경골신경의 운동신경에 대해 신경전도검사를 하였다. 또한 정중신경, 척골신경 및 비복신경의 감각신경에 대한 신경전도검사를 손가락-손목(finger-wrist) 구간에서 하였다. 청각 장애가 의심되는 모든 환자들을 대상으로 전정신경의 이상 유무를 검사하기 위하여 뇌간청각유발전위검사(BAEP; brainstem auditory evoked potential)를 하였다.

### 3. MPZ 유전자의 돌연변이 탐색

MPZ 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 MPZ 유전자의 promoter, exon 1~6 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, sequencing을 하여 구체적인 돌연변이를 검색하였다. MPZ 유전자의 해당 부위를 증폭하기 위한 PCR 반응은 주형 DNA 30-50 ng, 각 primer 10 pmol, dNTPs 200 M, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, Taq polymerase 0.5 unit 및 1X reaction buffer (Promega, USA)가 포함된 50 l의 반응 용액을 이용하여 PCR 증폭 장치(Perkin Elmer PE2700, USA)에서 32회 사이클링으로 실시하였다. 각 유전자 부위의 PCR을 위해 사용된 primer는 Table 1과 같다. PCR 실시 후 증폭된 DNA는 정제한 후 자동염기서열분석기(ABI 3700, USA)에서 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit를 이용하여 양 방향의 염기서열을 결정하고, 서열의 판독은 CHROMAS (Ver. 2.23) 프로그램을 이용하였다. 우성 돌연변이는 정상 서열(wild allele)과 돌연변이 서열(mutant allele)이 혼합되어 있어 염기서열 판독상의 오류를 범

**Table 1.** Primer sequences for PCR amplification of myelin protein zero (*MPZ*) gene

Region	Primer	Primer sequence
Promoter and exon 1	MPZP1F	GGCTTCTTGCTGGAAATAGTCC
	MPZP1R	ACCTGAGTCCCAAGACTCCCAGA
exon 2	MPZ2F	CTGATCTCACTTCCTCTGTATCC
	MPZ2R	CTTTGAAGCACTTTCTGTATCC
exon 3	MPZ3F	ACAGCTGTGTTCTCATTAGGGTC
	MPZ3R	CTCCCAAAGCTTCCCATACC
exon 4, 5	MPZ4F	CTAGGAACCACAGATACAGGGC
	MPZ4R	GGTTCTCCTTCCCATCTTGTC
exon 6	MPZ5F	AACAGTCAAGCCCCAGTCGCTC
	MPZ5R	GTCATCCTTTCGTAGCTCCATC

할 수 있으므로, 새로운 변이가 관찰된 해당 DNA 단편을 TA PCR 클로닝 벡터(Promega, USA)에 삽입시킨 후 10개 이상의 독립적 콜로니로부터 추출된 플라스미드의 DNA 단편의 염기서열을 분석하여 정상 서열과 돌연변이 서열이 모두 검출되는지를 재확인하였다.

## 결 과

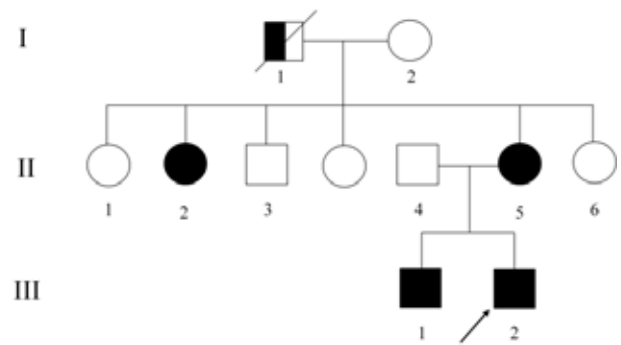
### 1. *MPZ* 유전자 검사

신경학적 진찰 소견 및 전기생리학적검사상 CMT 질환으로 진단된 62가족, 241명과 정상 대조군 105명을 대상으로 하여 *MPZ* 유전자의 돌연변이를 관찰하기 위해서 *MPZ* 유전자의 exon 및 인접 intron 부위를 PCR 방법으로 증폭한 후, 염기서열 분석을 시행하여 구체적인 돌연변이에 대한 분석을 실시한 결과, 3가족에서 이전에 보고되지 않은 새로운 돌연변이를 발견할 수 있었다(Table 2).

FC#19 가족에서 *MPZ* 유전자 분석 결과, 3번째 인트론의 splicing site에서 AG가 AT로 치환이 일어난 3'-splice site 돌연변이(449-1G>T)를 발견하였는데 이는 아직까지 보고된 바가 없었다. 이러한 변이는 인트론(intron)의 마지막 염기서열이 변하여 splicing error를 유발함으로써 단백질 합성에 영향을 미

**Table 2.** Mutations Found in myelin protein zero (*MPZ*) gene

Gene	Patient number	Domain	Amino acid change	Nucleotide change	Inheritance	Phenotype	References
<i>MPZ</i>							
exon 3	FCMT #26	Extracellular	Asp118Asn	c.352G>A	Autosomal dominant	CMT2	This study
intron 3	FCMT #19		3'-splice site	c.449-1G>T	Autosomal dominant	CMT1	This study
exon 5	FCMT #2	Intracellular	Gly200Gly	c.600G>A	Polymorphism	1 case	Bort et al., 1997
exon 6	FCMT #15	Intracellular	Lys236Glu	c.706A>G	Isolated case	CMT2	This study

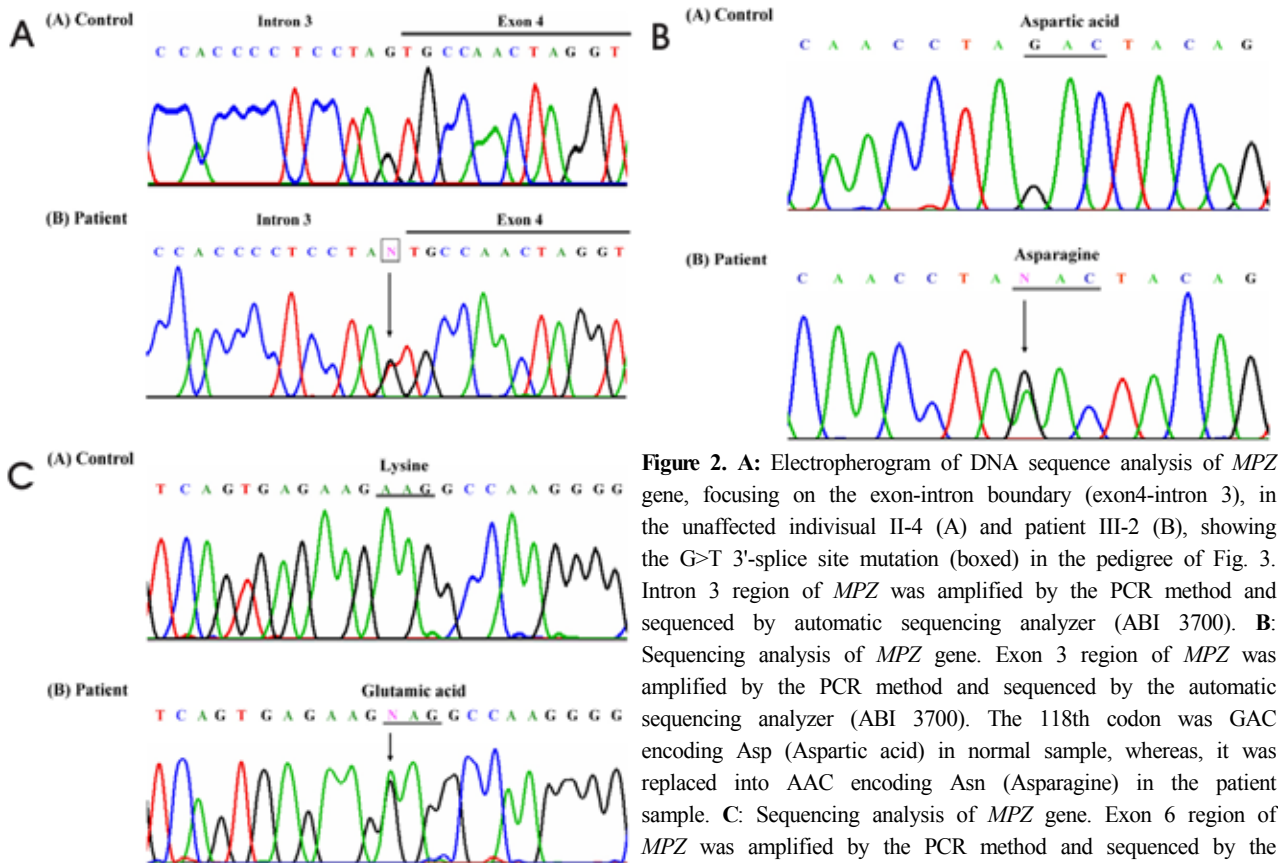


**Figure 1.** Pedigree of Charcot-Marie-Tooth 1B (CMT1B) family with a novel 3'-splice site mutation (449-1G>T) in the *MPZ* gene. The open symbols stand for unaffected males (□) and unaffected females (○). The filled symbols represent affected males (■) and affected females (●). The half-filled symbol (◐) indicates that disease status of individuals were unknown. The arrow indicates proband.

칠 수 있다. 가계도 분석에서 환자의 어머니와 이모, 형에서도 같은 변이를 확인할 수 있었다(Fig. 1, 2-A).

FC#26 가족에서 돌연변이의 탐색 결과, 3번째 exon에 위치하는 118번 아미노산을 암호화하는 코돈이 GAC에서 AAC로 변형되어 아스파라긴산(Aspartic acid: Asp)이 아스파라긴(Asparagine: Asn)으로 변형(Asp118Asn)된 것을 확인하였다(Fig. 2-B). 단백질 내에서 Asp118Asn missense 돌연변이가 위치하는 부위는 세포외 도메인(extracellular domain)에 해당하였다. 가계도 분석에서 Asp118Asn 돌연변이는 환자와 어머니에서 관찰되었으며, 아버지와 남동생에서는 관찰되지 않았다. FC#15 환자에서 돌연변이의 탐색 결과, *MPZ* 유전자의 6번째 exon에 위치하는 236번 아미노산을 암호화하는 코돈이 AAG에서 GAG로 변형이 되어 라이신(Lysine; Lys)이 글루탐산(Glutamic acid; Glu)으로 변형(Lys236Glu)된 것을 확인하였다(Fig. 2-C). 단백질 내에서 Lys236Glu missense 돌연변이가 위치하는 부위는 세포내 도메인(intracellular domain)에 해당하였다.

이들에서 염색체 17p11.2-p12의 중복(duplication)과 peripheral myelin protein 22 (*PMP22*), connexin32 (*Cx32*),



**Figure 2.** A: Electropherogram of DNA sequence analysis of *MPZ* gene, focusing on the exon-intron boundary (exon4-intron 3), in the unaffected individual II-4 (A) and patient III-2 (B), showing the G>T 3'-splice site mutation (boxed) in the pedigree of Fig. 3. Intron 3 region of *MPZ* was amplified by the PCR method and sequenced by automatic sequencing analyzer (ABI 3700). B: Sequencing analysis of *MPZ* gene. Exon 3 region of *MPZ* was amplified by the PCR method and sequenced by the automatic sequencing analyzer (ABI 3700). The 118th codon was GAC encoding Asp (Aspartic acid) in normal sample, whereas, it was replaced into AAC encoding Asn (Asparagine) in the patient sample. C: Sequencing analysis of *MPZ* gene. Exon 6 region of *MPZ* was amplified by the PCR method and sequenced by the automatic sequencing analyzer. The 236th codon was AAG encoding Lys (Lysine) in normal sample, whereas, it was replaced into GAG encoding Glu (Glutamic acid) in the patient sample.

early growth response 2 (*EGR2*), neurofilament light chain (*NEFL*) 유전자의 암호화 부위에 대한 점상 돌연변이를 검사하였는데 모두 정상이었다.

이와 함께 *MPZ* 유전자의 5번째 exon에 위치하는 200번째 아미노산을 암호화하는 706번 코돈에서 A에서 G로의 변형이 일어났으나 단백질은 같은 글리신(Glycine; Gly)으로 변화가 없었고 정상 대조군을 대상으로 검사하였을 때 같은 변이가 존재함을 확인하여 이것이 원인 유전 변이가 아닌 단순한 유전자 다형성(polymorphism)임을 알 수 있었다(Table 2).<sup>10</sup>

## 2. *MPZ* 돌연변이가 있는 CMT 환자들의 임상적 특성

*MPZ* 유전자 변이가 있는 CMT 환자들의 임상양상을 Table 3에 정리하였다.

FC#19 가족인 24세 남자는 군대 입대전 요통 및 우하지 방사통 때문에 진찰을 받던 중 신경전도검사에서 이상 소견이 발견되어 신경과로 의뢰되었다. 환자의 가족 중에서는 환자와 부모

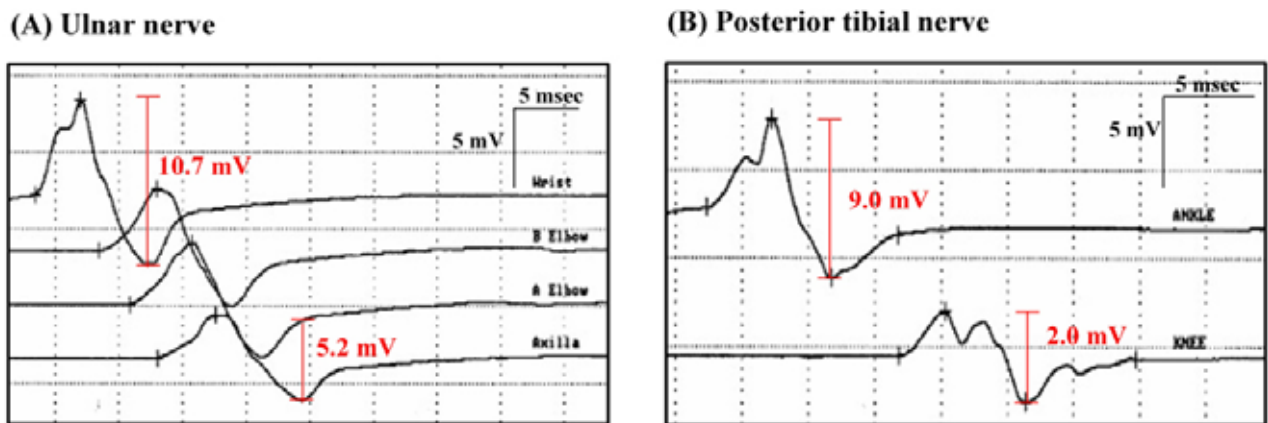
및 2살 위인 형을 진찰할 수 있었다. 환자 및 형은 특별한 근력 감퇴나 감각장애, 발의 기형 등이 없었으며 건강하다고 생각하고 있었다. 그러나 환자의 신경학적 진찰에서 상지 건반사의 저하 및 하지 건반사의 소실이 있었고 환자의 형에서는 상하지 모두에서 건반사의 소실이 관찰되었다. 환자의 모친은 약 5년 전부터 피곤하고 종아리에 쥐가 많이 나기는 하였지만 특별한 근력감퇴 등은 없었다고 하며 신경학적 진찰에서 건반사의 저하 외에는 특별한 이상 소견이 없었다.

FC#26 가족인 13세 여자는 10세 때부터 서서히 진행되는 하지 근력약화와 양측 족하수(foot drop)를 주소로 신경과에 내원하였다. 환자는 10세 이전에는 보행에 별다른 장애가 없었으나 근래에 눈에 띄게 걸거나 달리기를 하는 데 부자연스러워졌다. 내원 당시의 이학적검사상 하지 근위축(leg atrophy), 장도리 발가락(hammer toe), 요족(pes cavus), 및 양측성 족하수 등이 관찰되었다. 근력검사상 양 하지 족관절의 배측 굴곡(dorsiflexion)이 GIV, 엄지발가락의 배측굴곡이 G0으로 근력약화가 관찰되었다. 감각기능은 진동각 및 위치각이 사지의

**Table 3.** Comparison of characteristics in Charcot-Marie-Tooth patients with myelin protein zero (MPZ) mutations

Mutation type	3'-splice site (449-1G>T)			Asp118Asn		Lys236Glu
	Proband	Mother	Brother	Proband	Mother	Proband
Sex	Male	Female	Male	Female	Female	Male
Age (year)	24	52	26	13	37	40
FDS* (%)						
Low (0 or 1)	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Moderate (2)	No	No	No	Yes	No	No
High (≥3)	No	No	No	No	No	No
Muscular atrophy						
U/E	No	No	No	Yes	No	No
L/E	No	No	No	Yes	No	Yes
Foot deformity	No	No	No	Yes	No	Yes
Scoliosis	No	No	No	No	No	No
Deep tendon reflex	Loss	Loss	Loss	Loss	Normal	Loss
Nerve conduction velocity	Abnormal	Abnormal	Abnormal	Abnormal	Normal	Abnormal

Values are mean±SD, and percentages are in parentheses, \*FDS; functional disability scale



**Figure 3.** Nerve conduction studies in Charcot-Marie-Tooth patient with a novel 3'-splice site mutation (449-1G>T) in the MPZ gene. The conduction blocks of right ulnar motor nerve (A) and right posterior tibial nerve (B) are displayed. Scale: vertical dots=5 mV, horizontal dots=5 msec.

원위부 특히 하지에서 더 심하게 저하되었다. 심부 건반사는 사지에서 모두 관찰되지 않았다. 이후 외래에서 추적 관찰 하였는데, 17세에는 무지구 위축(thenar atrophy) 및 소지구 위축(hypothenar atrophy)이 관찰되었고 사지 원위부에서의 근력약화 소견이 뚜렷해졌으며 양 하지 족관절의 배측 굴곡도 G0으로 진행되었다. 환자의 어머니와 아버지를 진찰하였는데 상하지의 심부건반사를 포함한 신경학적검사상 정상이었다.

그리고 FC#15 가족인 남자는 36세 때 시작된 우측 엄지발가락의 배측 굴곡 장애와 40세부터 시작된 하지 저림감(numbness)를 주소로 내원하였다. 환자의 엄지발가락 및 족관절의 배측 굴곡

은 GII였으며 감각 기능은 통각, 촉각, 진동각 및 위치각이 사지의 원위부 특히 하지에서 더 심하게 저하되었다. 하지에서 심부건반사의 소실이 관찰되었다.

### 3. MPZ 돌연변이가 있는 CMT 환자들의 전기 생리학적 특성

FC#19 환자의 신경전도검사에서는 전반적인 경도 내지 중등도의 신경전달속도 지연과 함께 신경활동전위 진폭의 감소가 관찰되었다. 또한 일부 운동신경에서는 비대칭적인 복합근육활

**Table 4.** Comparison of electrophysiological aspects between Charcot-Marie-Tooth patients with myelin protein zero (MPZ) mutations

Mutation type	3'-splice site (449-1G>T)			Asp118Asn		Lys236Glu
	Proband	Mother	Brother	Proband	Mother	Proband
<b>Median motor nerve</b>						
DML (ms)	4.5	5.7	4.6	4.2	ND	4.3
CMAP (mV)	7.6	14.1	12.4	10.0	ND	7.3
MNCV (m/s)	37.7	28.5	41.7	39.6	ND	42.2
<b>Ulnar motor nerve</b>						
DML (ms)	3.4	3.4	2.9	3.4	ND	3.4
CMAP (mV)	10.7	14.9	13.6	11.0	ND	6.4
MNCV (m/s)	45.0	30.5	43.1	51.7	ND	51.2
<b>Peroneal nerve</b>						
DML (ms)	6.8	5.9	4.6	NP	4.4	NP
CMAP (mV)	5.3	2.7	9.5	NP	6.0	NP
MNCV (m/s)	30.0	21.9	30.3	NP	43.9	NP
<b>Tibial nerve</b>						
DML (ms)	7.3	7.0	4.3	NP	4.8	4.8
CMAP (mV)	9.0	7.0	11.4	NP	14.0	10.0
MNCV (m/s)	25.5	24.0	33.3	NP	48.8	41.8
<b>Median sensory nerve</b>						
SNAP ( $\mu$ V)	21.0	11.0	11.0	NP	ND	NP
SNCV (m/s)	33.9	24.8	34.9	NP	ND	NP
<b>Ulnar sensory nerve</b>						
SNAP ( $\mu$ V)	15.0	12.0	13.0	NP	ND	NP
SNCV (m/s)	36.6	27.9	32.6	NP	ND	NP
<b>Sural nerve</b>						
SNAP ( $\mu$ V)	17.0	2.0	12.0	NP	3.2	NP
SNCV (m/s)	22.0	16.9	35.8	NP	36.0	NP

DML; distal motor latency, CMAP; compound muscle action potential, MNCV; motor nerve conduction velocity, SNAP; sensory nerve action potential, SNCV; sensory nerve conduction velocity, ND; not done, NP; no potential

동전위(compound muscle action potentials; CMAP) 진폭의 감소와 함께 현저한 전도차단(conduction block) 소견이 검출되었는데 특히 우측 척골신경과 양측 후경골신경에서 뚜렷하였다(Fig. 3). 가족 중 환자의 부모와 형에서 신경전도검사를 하였는데 환자의 형과 모친의 신경전도검사에서도 이상 소견이 검출되었다.

FC#26 환자의 신경전도검사상 정중신경 및 척골신경의 경도의 말단 잠시 지연과 함께 운동 신경 전도 속도가 저하되었고 비골신경 및 후경골신경에서는 복합근육 활동전위가 검출되지 않았다. 감각신경검사에서는 정중신경, 척골신경, 비복신경에서 모두 감각신경 활동전위(sensory nerve action potentials; SNAP)가 검출되지 않았다. 신경전도의 변화를 5년 동안 5차례 추적 검사를 하였는데 Table 5에서 보는 바와 같이 신경 전도 속도 및 말단 잠시에서는 뚜렷한 변화가 없었으나 복합근육 활동전위 진폭의 감소가 현저하였다. 환자와 같은 MPZ 유전자 변

이를 가진 어머니에서는 하지에서만 신경전도검사를 하였는데 정상이었다.

그리고 FC#15 환자의 신경전도검사상 정중신경, 척골신경 및 후경골신경에서는 경도의 말단 잠시 지연과 함께 운동 신경 전도 속도가 저하되었고 비골신경에서는 복합근육활동전위가 검출되지 않았다. 감각신경검사상 정중신경 및 척골신경에서는 감각신경 전도 속도가 저하되었고, 비복신경에서는 감각신경 활동전위가 검출되지 않았다(Table 4). MPZ 유전자 변이를 가진 CMT 환자군에서는 뇌간척각유발전위검사상 이상 소견을 가진 경우를 발견할 수 없었다.

## 고 찰

저자들은 한국인 CMT 환자들에서 CMT 질환을 일으키는 원인 유전자 중 하나인 MPZ 유전자를 분석하여 3가족에서 이제까

**Table 5.** Nerve conduction studies (NCS) of right upper and lower extremities in Charcot-Marie-Tooth patients with a novel missense mutation (Asp118Asn) in the *MPZ* gene

NCS (year)	Asp118Asn		
	11 year-old	12 year-old	16 year-old
<b>Median motor</b>			
DML (ms)	4.2	4.3	4.6
CMAP (mV)	10.0	7.7	2.3
MNCV (m/s)	39.6	41.3	57.1
<b>Ulnar motor</b>			
DML (ms)	3.4	3.4	3.2
CMAP (mV)	11.0	9.5	6.3
MNCV (m/s)	51.7	43.5	39.0
<b>Peroneal nerve</b>			
DML (ms)	NP	NP	NP
CMAP (mV)	NP	NP	NP
MNCV (m/s)	NP	NP	NP
<b>Tibial nerve</b>			
DML (ms)	NP	NP	NP
CMAP (mV)	NP	NP	NP
MNCV (m/s)	NP	NP	NP
<b>Median sensory</b>			
SNAP (μV)	NP	NP	NP
SNCV (m/s)	NP	NP	NP
<b>Ulnar sensory</b>			
SNAP (μV)	NP	NP	NP
SNCV (m/s)	NP	NP	NP
<b>Sural nerve</b>			
SNAP (μV)	NP	NP	NP
SNCV (m/s)	NP	NP	NP

DML; distal motor latency, CMAP; compound muscle action potential, MNCV; motor nerve conduction velocity, SNAP; sensory nerve action potential, SNCV; sensory nerve conduction velocity, NP; no potential

지 보고되지 않았던 새로운 돌연변이(Asp118Asn, c.449-1G>T (3'-splice site), Lys236Glu)들을 확인하였고 이들을 *MPZ* 유전자 돌연변이형으로 추가하게 되었다. 이 결과는 CMT 질환의 발병 및 진행 과정에 대한 분자유전학적 기초를 이해하는 데 도움이 되며, 진단 키트 및 치료법을 개발하는 데 기여할 것으로 사료된다.

Myelin prtotein zero (*MPZ*: P0)는 말초신경 수초를 형성하는 단백질들 중 가장 많은 전체 수초 무게의 50%를 차지하는 주요 구성 단백질이다.<sup>1</sup> *MPZ*의 구조는 248개의 아미노산으로 구성되어 있으며 세포내 영역과 한 개의 세포막 통과 부위를 포함하는 세포외 영역으로 구성되어있다.<sup>11</sup> 또한 *MPZ*은 소치밀선 (intraprotein line)에서 수초의 밀집화(compaction)에 중요한 역할을 하는 동종친화성 접착 분자(homophilic adhesion molecule)로써의 기능을 한다.<sup>1,12</sup> 이와 같은 *MPZ*를 만드는 유전자에 돌연변이가 발생하면 탈수초성 신경병증을 가지는

CMT1B와 축삭형 신경병증을 가지는 CMT2형, 그리고 DSS, CH 등의 다양한 임상 양상으로 발현된다고 알려져 있다.<sup>13</sup>

본 연구에서 *MPZ* 유전자의 돌연변이를 보인 경우는 전체 CMT 62 가족 중 PMP22 유전자의 중복(duplication)이 있었던 17가족을 제외한 45가족 중 3가족으로 6.7%에 해당하였다. 이 수치는 같은 아시아 국가인 일본<sup>14,15</sup>의 5.6~7.1%와 유사하며 유럽 국가들인 핀란드<sup>16</sup>(4.8%), 러시아<sup>17</sup>(5.2%), 이탈리아<sup>18</sup>(5.6%), 독일<sup>19</sup>(7.1%), 스페인<sup>10</sup>(10.6%) 등과 비교해 볼 때 유사한 빈도로서 동양인과 서양인에서 차이가 없었다. 이 결과는 CMTX를 일으키는 Cx32 유전자 돌연변이의 빈도가 아시아 국가에서는 유럽 국가들에 비해서 절반도 안되는 뚜렷한 차이가 있다는 사실과 비교된다.<sup>20</sup>

FC#19 가족에서 저자들이 발견한 새로운 3'-splice site 돌연변이(449-1G>T)는 3번째 intron의 3'-말단의 splicing acceptor site에서 AG가 AT로 치환되는 오류가 발생하여 splicing error를 유발함으로써 단백질 합성에 영향을 미칠 수 있다.<sup>4,19,21</sup> *MPZ*에서 모든 인트론의 시작과 끝은 "GT.....AG"로 되어 있으며, 이 GT/AG의 돌연변이는 정상적인 splicing이 불가능하므로, 단백질의 합성 및 기능에 영향을 미치게 되는 것이다.<sup>21</sup> 이 유전자 돌연변이 부위에 대하여 정상 대조군 105명을 검사하였으나 동일한 변이는 관찰되지 않았다. 그리고 CMT 유전자 돌연변이 사이트(<http://molgen-www.uia.ac.be/CMTMutations>)에서 확인한 바에 따르면 아직 보고되지 않은 새로운 돌연변이임을 확인할 수 있었다. 동일한 부위인 499-1에서 G가 C로 치환된 보고가 스페인 CMT 환자에서 있었지만 G가 T로 치환된 경우는 없었다.<sup>10</sup> 이 환자에서는 돌연변이 판정의 정확성을 기하기 위하여 PCR 산물을 TA 벡터(Promega, USA)에 삽입한 후 염기서열을 알아보는 이중 검증을 실시하여 재확인하였다. 이 변이가 단순한 다형성이 아닌 병인 돌연변이임을 증명하기 위해서 대조군의 염기서열을 비교해 보았지만, 동일 변이는 발견되지 않는 것으로 볼 때, 449-1G>T 돌연변이가 환자의 유전적 원인으로 작용했을 가능성이 높다.

저자들이 발견한 또 다른 *MPZ* 유전자의 새로운 돌연변이들인 Asp118Asn (352G>A)과 Lys236Glu (706A>G) 역시 정상 대조군 105명에서 염기서열을 검사하였으나 동일한 변이는 관찰되지 않았으므로 단순한 다형성이 아닌 환자의 CMT 발병에 대한 유전적 원인으로 작용했을 가능성이 매우 높다고 할 수 있다.

CMT 질환은 2500명 중 1명의 빈도로 발생한다고 알려져 있으며 유전성 신경질환 중에서 가장 흔하게 볼 수 있는 질환이다.<sup>1</sup> 대개는 상염색체 우성유전을 하지만 상염색체 열성유전, 혹은 X 염색체 우성유전 양상으로 유전되기도 한다.<sup>22,23</sup> 상염색

체 우성 유전을 하면서 탈수초성 신경병증인 경우는 CMT1형, 그리고 축삭형 신경병증을 가지는 경우는 CMT2형으로 나누는데, CMT1형에서는 정중신경 전도 속도가 38 m/s 이하인 기준이 절단치(cut-off value)로써 유용하지만 CMT2형인 경우는 임상 및 전기생리학적 특성이 보다 다양하기 때문에 진단하기가 쉽지 않은 경우가 있다. 그래서 유럽CMT협회(consortium)에서 1997년에 CMT2형을 분류하는 가이드라인을 제시하였고 FC#15와 26가족은 이 기준에 따라 CMT2형으로 분류하였다.<sup>24</sup>

이 분류 기준의 적용에 있어서 문제가 된 것이 FC#19 가족인데 환자와 어머니에서는 정중신경 전도 속도가 38 m/s 이하였으나 큰 아들은 전도 속도가 38 m/s 이상이었다. 그렇지만 이 들에서 전도차단(conduction block) 등의 탈수초성 신경병증의 소견이 뚜렷이 관찰되었으므로 탈수초성 신경병증에 해당한다고 생각되었다. 뿐만 아니라 병리 소견 및 신경 전도 속도는 검사할 당시의 연령 및 질병의 기간에 비례한다는 것을 감안한다면 두 아들이 어머니와 같이 40세 이후에, 혹은 분명한 CMT의 임상 증상을 나타낼 때가 되면 전도 속도는 현재보다 더 심하게 느려져 있을 것으로 예상된다.<sup>8</sup> 탈수초성 병증 이외에 이 가족에서 보이는 또 하나의 특성은 늦은 나이에 발병한다는 것인데, 특히 MPZ 유전자 변이인 경우에는 늦은 나이에 발병(late-onset)하는 경우들이 보고되어 있다.<sup>25</sup> 보다 많은 증례에 의한 연구가 있어야겠지만 본 증례에서 보이는 3'-splice site 돌연변이(449-1G>T)가 늦은 나이에 발병하는 MPZ 돌연변이 종류 중의 하나일 것으로 생각된다.

Hattori 등<sup>8</sup>에 의하면 MPZ 돌연변이의 경우에 축삭형과 탈수초형 임상 양상은 주로 MPZ 유전자 변이의 위치에 의해서 결정된다고 하며, 이외의 환경적 요인 등은 거의 영향을 주지 못한다고 보고하였다. 그리고 Warner 등<sup>13</sup>과 Kurihara 등<sup>26</sup>은 같은 MPZ 유전자 돌연변이형에서도 이형접합성(heterozygote) 변이형에서는 축삭형 신경병증을, 그리고 동형접합성(homozygote) 변이형에서는 탈수초성 신경병증을 보인 경우를 보고하여 MPZ 유전자 변이의 특성에 따라 표현형이 달라질 수 있음을 보여주었다. FC#26 가족에서는 5년 동안 5번에 걸친 신경전도검사를 하였을 때 모두 정중신경의 전도 속도가 38 m/s 이상이었으며 전도 차단 등의 탈수초성 신경병증의 소견은 관찰되지 않았고 5년 뒤에 신경 전도 속도에는 별다른 변화가 없었으나 복합근육 활동전위의 감소가 현저하게 관찰되었다는 점 등을 고려해 볼 때 축삭형 신경병증에 해당한다고 생각된다. 그러나 같은 유전자변이를 보인 환자의 어머니는 임상 소견과 신경전도검사가 정상이었는 데 이와 같이 MPZ 유전자 변이를 가지고 있으면서 임상과 전기생리학적검사상 정상 소견을 보이는 무증상 돌연변이 보인자(asymptomatic mutation carrier)는 이미 보고되어

있다.<sup>5</sup> 그리고 유럽CMT협회의 가이드라인에서도 가족 구성원들 중 적어도 한 사람은 정중신경 전도 속도가 38 m/s 이상이라야 한다는 포함 기준(inclusion criteria)에도 해당하므로, 본 FC#26 가족에서의 MPZ 유전자 Asp118Asn의 이형접합성 변이형은 CMT2형을 일으키는 것으로 생각된다.<sup>24</sup> 또한 FC#15 환자의 신경전도검사 결과 운동신경 및 감각신경 전도 속도가 모두 CMT2형에 해당하므로 Lys236Glu의 이형접합성 변이형 역시 CMT2형을 일으키는 변이형일 것으로 생각된다.

저자들은 한국인 CMT 환자들에서 MPZ 유전자 돌연변이를 검사하여 3개의 새로운 유전자형을 발견할 수 있었다. 그리고 FC#19 가족과 같이 MPZ 유전자 변이가 늦은 나이에 발병할 수 있으므로 정상인과의 감별에서 심부건만사 및 전기생리학적검사 결과가 도움이 될 것으로 생각하였다. 또한 FC#26 환자의 어머니에서와 같이 임상 양상 및 전기생리학적검사상 정상 소견을 보이는 MPZ 유전자 변이(Asp118Asn)가 있을 수 있으므로 표현형이 CMT2형이면서 MPZ 변이가 의심되는 경우에는 임상 소견 및 신경전도검사의 결과에 관계없이 모든 가족들에 대한 유전자검사가 필요할 것으로 생각한다.

## REFERENCES

- Berger P, Young P, Suter U. Molecular cell biology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurogenetics* 2002;4:1-15.
- Harding AE. From the syndrome of Charcot, Marie and Toth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995;118:809-818.
- Hayasaka K, Himoro M, Sato W, Takada G, Uyemura K, Shimizu N, et al. Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1B is associated with mutations of the myelin P0 gene. *Nat Genet* 1993;5:31-34.
- Ekici AB, Schweitzer D, Park O, Lorek D, Rautenstrauss B, Kruger G, et al. Charcot-Marie-Tooth disease and related peripheral neuropathies: novel mutations in the peripheral myelin genes connexin 32 (Cx32), peripheral myelin protein 22 (PMP22), and peripheral myelin protein zero (MPZ). *Neurogenetics* 2000;3:49-50.
- De Jonghe P, Timmerman V, Ceuterick C, Nelis E, De Vriendt E, Löfgren A, et al. The Thr124Met mutation in the peripheral myelin protein zero (MPZ) gene is associated with a clinically distinct Charcot-Marie-Tooth phenotype. *Brain* 1999;122:281-290.
- Hayasaka K, Himoro M, Sawashi Y, Nanao K, Takahashi T, Takada G, et al. De novo mutation of the myelin P0 gene in Dejerine-Sottas disease (hereditary motor and sensory neuropathy type III). *Nat Genet* 1993;5:266-268.
- Mandich P, Mancardi GL, Varese A, Soriani S, Di Maria E, Bellone E, et al. Congenital hypomyelination due to myelin protein zero Q215X mutation. *Ann Neurol* 1999;45:676-678.
- Hattori N, Yamamoto M, Yoshihara T, Koike H, Nakagawa M, Yoshikawa H, et al. Demyelinating and axonal features of Charcot-Marie-Tooth disease with mutations of myelin-related



- proteins (PMP22, MPZ and Cx32): a clinicopathological study of 205 Japanese patients. *Brain* 2003;126:134-151.
9. Birouk N, LeGuern E, Maisnobe 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.
  10. Bort S, Nelis E, Timmerman V, Sevilla T, Cruz-Martinez A, Martinez F, et al. Mutational analysis of the MPZ, PMP22 and Cx32 genes in patients of Spanish ancestry with Charcot-Marie-Tooth disease and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Hum Genet* 1997;99:746-754.
  11. Shy ME, Garbern JY, Kamholz J. Hereditary motor and sensory neuropathies: a biological perspective. *Lancet Neurol* 2002;1:110-118.
  12. Chance PF, Pleasure D. Charcot-Marie-Tooth syndrome. *Arch Neurol* 1993;50:1180-1184.
  13. Warner LE, Hilz MJ, Appel SH, Killian JM, Kolodry EH, Karpatis G, et al. Clinical phenotypes of different MPZ (P0) mutations may include Charcot-Marie-Tooth type 1B, Dejerine-Sottas, and congenital hypomyelination. *Neuron* 1996;17:451-460.
  14. Yoshihara T, Yamamoto M, Doyu M, Mis KI, Hattori N, Hasegawa Y, et al. Mutations in the peripheral myelin protein zero and connexin32 genes detected by non-isotopic RNase cleavage assay and their phenotypes in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mutat* 2000;16:177-178.
  15. Numakura C, Lin C, Ikegami T, Guldborg P, Hayasaka K. Molecular analysis in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease: DGGE analysis for PMP22, MPZ, and Cx32/GJB1 mutations. *Hum Mutat* 2002;20:392-398.
  16. Silander K, Meretoja P, Juvonen V, Ignatius J, Pihko H, Saarinen A, et al. Spectrum of mutations in Finnish patients with Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies. *Hum Mutat* 1998;12:59-68.
  17. Mersianova IV, Ismailov SM, Polyakov AV, Dadali EL, Fedotov VP, Nelis E, et al. Screening for mutations in the peripheral myelin genes PMP22, MPZ and Cx32 (GJB1) in Russian Charcot-Marie-Tooth neuropathy patients. *Hum Mutat* 2000;15:340-347.
  18. Mostacciuolo ML, Righetti E, Zorzea M, Bosello V, Schiavon F, Vallo L, et al. Charcot-Marie-Tooth disease type I and related demyelinating neuropathies: Mutation analysis in a large cohort of Italian families. *Hum Mutat* 2001;18:32-41.
  19. Huehne K, Benes V, Thiel C, Kraus C, Kress W, Hoeltzenbein M, et al. Novel mutations in the Charcot-Marie-Tooth disease genes PMP22, MPZ, and GJB1. *Hum Mutat* 2003;21:100.
  20. Choi BO, Lee MS, Shin SH, Hwang JH, Choi KG, Kim WK, et al. Mutational analysis of PMP22, MPZ, Cx32, EGR2 and NEFL in Korean Charcot-Marie-Tooth neuropathy patients. *Hum Mutat* 2004;24:185-186.
  21. Nelis E, Timmerman V, De Jonghe P, Van Broeckhoven C. Identification of a 5' splice site mutation in the PMP-22 gene in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *Hum Mol Genet* 1994;3:515-516.
  22. 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.
  23. 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.
  24. De Jonghe P, Timmerman V, Broeckhoven CV, and workshop participants. 2nd Workshop of the European CMT Consortium: 53rd ENMC International Workshop on Classification and Diagnostic Guidelines for Charcot-Marie-Tooth Type 2 (CMT2HMSN II) and Distal Hereditary Motor Neuropathy (distal HMN-Spinal CMT): 2628 September 1997, Naarden, The Netherlands. *Neuromusc Disord* 1998;8:426-431.
  25. Auer-Grumbach M, Strasser-Fuchs S, Robl T, Windpassinger C, Wagner K. Late onset Charcot-Marie-Tooth 2 syndrome caused by two novel mutations in the MPZ gene. *Neurology* 2003;61:1435-1437.
  26. Kurihara S, Adachi Y, Wada K, Adachi A, Ohama E, Nakashima K. Axonal and demyelinating forms of the MPZ Thr124Met mutation. *Acta Neurol Scand* 2003;108:157-160.