

DNA 분석을 이용한 ATP7A 유전자의 새로운 돌연변이 발견과 멘케스병의 산전 진단

¹충남대학교 의과대학 소아과학교실, ²서울아산병원 의학유전학클리닉
³울산대학교 의과대학 서울아산병원 소아과학교실

최진호¹ · 김구환² · 유한욱^{2,3}

Identification of novel mutations of the *ATP7A* gene and prenatal diagnosis of Menkes disease by mutation analysis

Jin-Ho Choi¹, Gu-Hwan Kim², and Han-Wook Yoo^{2,3}

¹Department of Pediatrics, Chungnam National University Hospital, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea
²Medical Genetics Clinic and Laboratory, ³Department of Pediatrics, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : Menkes disease is an X-linked recessively inherited disorder caused by the mutation of the *ATP7A* gene encoding copper-transporting P-type ATPase. The phenotypic features are progressive neurological degeneration, mental retardation, loose skin, and vascular complications. Early diagnosis and treatment are very important for the prognosis of Menkes disease. Here, we describe novel mutations of the *ATP7A* gene and prenatal diagnosis by mutation analysis.

Methods : Five unrelated Korean Menkes patients were included in this study. They presented with depigmented wool-like hair, progressive neurologic deterioration, and hypotonia in infancy. Serum copper and ceruloplasmin levels were decreased. Brain magnetic resonance imaging revealed tortuous intracranial vessels. Mutation analysis has been carried out using cDNA from cultured skin fibroblasts or genomic DNA from peripheral leukocytes. Prenatal diagnosis was performed in two cases using chorionic villi samples or amniocytes.

Results : Four novel mutations have been identified from four different families; c.3511+1G>A (p.E1099_N1171delinsMfsX18), c.4005+5 G>A (p.V1268_R1335del), c.1870_2172del (p.S624_Q724del), and c.3352 G>A (p.G1118S). The remaining one was previously reported (c.1933 C>T (p.V1268_R1335del)). On prenatal DNA analysis, one was diagnosed as normal, while the other turned out to be a female heterozygote with p.S624_Q724del mutation of the *ATP7A* gene.

Conclusion : We identified 4 novel mutations of the *ATP7A* gene. Prenatal diagnosis in families at risk is critical in order to choose preventive options including an early treatment with copper-histidine therapy or therapeutic termination. Most mutations of the *ATP7A* gene were frame-shift mutations and prenatal diagnosis has been successfully carried out.

Key Words : *BATP7A*, Menkes disease, Prenatal diagnosis

서 론

멘케스병(Menkes disease, OMIM 309400)은 X-연관성 열성으로 유전되는 질환으로 copper-transporting P-type ATPase에 부호화된 *ATP7A* 유전자의 돌연변이에 의해 구리 흡수와 운반의 장애로 인하여 발생한다¹⁾. 임상 증상은 구리를 함유하는 여러 가지 효소들의 결핍에 의해 발생하는 데 진행되는 신경계의 퇴행, 정신 지체, 저색소 피부색, 특징적인 머리카락의 이상, 혈관계 합병증을 나타내며, 치료하지 않을 경우 대개 3세 이전에 사망한다²⁾. 멘케스병의 치료는 구리를 비경구적으로 투여하는 것이다. 일부 환자에서 copper-histidine 치료를 조기에 시작하면 질환의 중증도를 감소시키고 생존 기간을 연장시킬 수 있는 것으로 보고되었다³⁾. 치료가 늦어지면 신경학적 증상을 예방할 수 없다. 따라서 조기 진단과 치료가 예후를 결정하는데 중요하다고 할 수 있겠다. 멘케스병의 진단에는 임상 양상과 낮은 혈청 구리 및 세룰로플라즈민 농도를 보인다²⁾. 그러나 생후 첫 2주 이내에는 정상 신생아에서도 혈청 구리 및 세룰로플라즈민 농도가 낮을 수 있으며, 이러한 생화학적 검사로 확진 및 보인자의 진단에 이용할 수 없다⁴⁾. 따라서 멘케스병의 진단은 *ATP7A* 유전자의 염기 서열 분석을 통하여 돌연변이를 증명함으로써 확진할 수 있으며 보인자의 진단 및 돌연변이를 알고 있는 경우 산전 진단에도 응용할 수 있겠다. 본 연구에서는 멘케스병의 임상 양상을 보인 환자에서 *ATP7A* 유전자 분석을 통하여 멘케스병을 확진하고 새로운 돌연변이를 발견하며 이를 보인자의 진단 및 산전 진단에 응용하고자 하였다.

대상 및 방법

영아기에 저색소성 피부, 잘 부서지고 꾸물꾸물한 머리카락, 진행성 신경계 퇴행, 근긴장저하 등의 임상 증세를 보인 비혈연 관계의 5 가계에서 5명의 환자와 그 가족들을 대상으로 하였다. 모든 환자에서 혈청 구리와 세룰로플라즈민 농도를 측정하였으며, 뇌 핵자기공명영상 및 혈관조영술을 시행하였다.

첫 번째 가계의 증례 1은 생후 7일경 수유 곤란으로 일주일간 입원 치료한 병력이 있으며 생후 2개월경 꾸물꾸물한 머리카락, 하얀 피부, 근긴장 저하로 내원하였다. 혈청 구리 5.4 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (70-155), 세룰로플라즈민 2.2 mg/dL (16.5-31.5)

이였으며, 뇌핵자기공명영상 소견상 비틀린 내경동맥과 대뇌 위축이 관찰되었다. 두 번째 가계에서의 증례 4는 2세경부터 잘 부서지는 머리카락과 목가누기, 뒤집기가 되지 않는 발달 지연을 보였으며 우측 서혜부 탈장으로 수술한 병력이 있었다. 혈청 구리는 25 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 세룰로플라즈민 9.0 ng/dL였다. 세 번째 가계의 증례 5는 생후 2개월경 수유량이 감소하면서 잘 울지 않고 처져 보였으며 양측 팔다리의 근간대성 경련이 동반되었다. 담갈색의 머리카락을 보였으며 끝이 잘 부서지고 꼬여 있었다. 혈청 구리는 15.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$, ceruloplasmin 3.9 mg/dL 였으며 뇌 핵자기공명혈관조영술 검사상 기저 동맥이 좌측으로 치우쳐 있으며 양측 특히 좌측의 중뇌동맥이 연장되어 있었고 꼬여 있는 양상을 보이고 있었다. 네 번째 가계의 증례 10은 생후 5개월경부터 발생한 근간대성 경련과 발달 지연을 주소로 생후 15개월경에 내원하였다. 잘 부스러지는 머리카락과 흰 피부색을 보였으며 목가누기가 되지 않았고 근긴장도가 감소되어 있었다. 혈청 구리는 43.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$, ceruloplasmin 15.6 mg/dL였다. 뇌 핵자기공명영상 소견상 대뇌 위축이 관찰되었다. 다섯 번째 가계의 증례 12는 생후 2개월경 경련과 근긴장 저하, 잘 부서지고 꼬이는 머리카락이 관찰되었다. 혈청 구리는 18 $\mu\text{g}/\text{dL}$, ceruloplasmin <7 mg/dL였다. 뇌 핵자기공명영상 검사상 꾸물꾸물한 뇌혈관이 관찰되었다.

모든 환자와 환자의 형제, 모친에서 *ATP7A*에서의 돌연변이 유무를 확인하기 위하여 말초 혈액 백혈구로부터 분리한 genomic DNA를 이용하여 23개의 엑손을 엑손-인트론 경계 부위의 염기 서열을 포함하여 각각의 프라이머(primer)를 이용하여 다중효소연쇄증합법(polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭하였다. 이후 증폭된 활성 유전자의 산물을 이용하여 직접적으로 염기 서열을 분석하였다. 일부 환자에서 배양된 피부 섬유아세포에서 mRNA를 분리하여 RT-PCR을 시행하여 추출한 cDNA를 이용하여 PCR과 염기 서열 분석으로 유전자 분석을 시행하였다. 산전 진단은 2명의 태아에서 시행하였는데 세 번째 가계에서 임신 10주경 융모막 채취를 시행하였고 다섯 번째 가계에서 임신 15주경 양수 검사를 통하여 채취한 양수 세포를 이용하여 *ATP7A* 유전자 분석을 시행하였다.

결 과

4가계의 4명의 환자에서 새로운 돌연변이가 발견되었다

(Table 1). 나머지 1명의 환자에서는 이미 보고된 돌연변이가 발견되었다(c.1933 C>T (p.V1268_R1335del))⁵⁾.

첫 번째 가계에서의 증례 1은 인트론 17의 c.3511+1G>A (p.E1099_N1171delinsMfsX18) 돌연변이가 발견되었으며 이는 splicing 돌연변이를 야기한다. 누나인 증례 3에서는 c.3511+1G>A의 이형접합자로 보인자였다. 모친의 염기 서열 분석 결과 *ATP7A* 유전자의 c.3511+1G>A에 대한 염기 서열이 정상이었다(Fig. 1). 두 번째 가계의 증례 4에서 genomic DNA를 이용하여 염기 서열 분석 결과 인트론 20에

서 c.4005+5 G>A (p.V1268_R1335del) 돌연변이가 발견되었다. 피부 섬유아세포에서 cDNA를 이용하여 염기 서열 분석을 시행하였는데 엑손 20의 skipping이 발견되었다(Fig. 2). 세 번째 가계의 증례 5에서 genomic DNA로 염기 서열 분석을 시행하여 c.1870_2172del (p.S624_Q724del) 돌연변이가 발견되었는데, cDNA 염기 서열 분석 결과 엑손 8과 9의 결실이 관찰되었다. 환자의 모친(증례 6)은 PCR 확인 결과 exon 8, 9 결실에 대한 보인자였다. 환자의 모친이 임신하였을 때 융모막 채취를 시행하여 유전자 분석을 시행하였는데

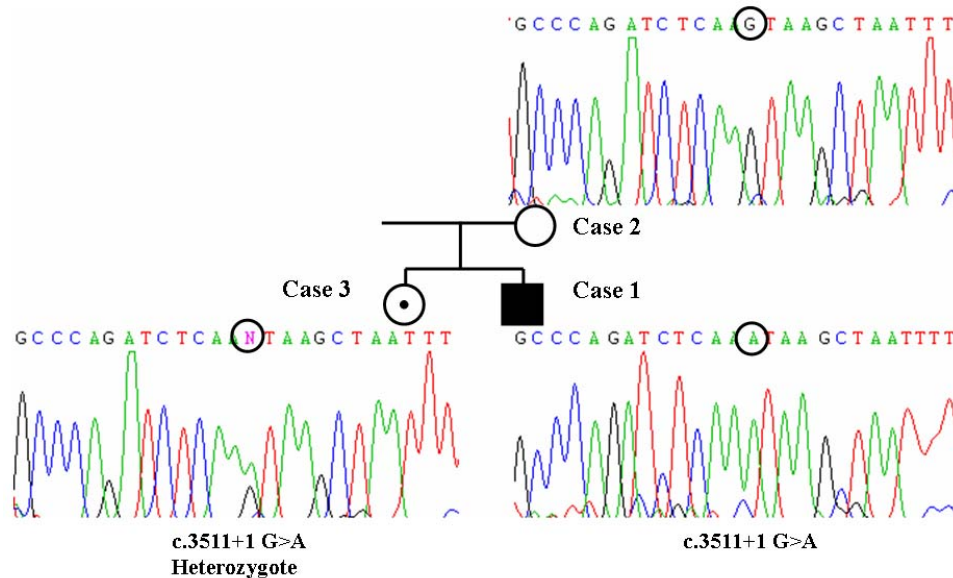


Fig. 1. Partial sequences of the *ATP7A* gene in family 1. Direct sequencing of *ATP7A* in case 1 revealed c.3511 + 1G>A hemizygote, leading to splice site mutation. His sister turned out to be a carrier of the mutation without symptoms of Menkes disease. Genetic analysis of his mother did not show any mutation, suggesting a carrier of germline mosaicism.

Table 1. Clinical characteristics and mutation analysis in patients with Menkes disease and their families

Family	Cases	Sex	Age at presentation	Specimens	Mutation
I	1	M	2 months	Peripheral blood	c.3511 + 1G>A
	2	F	29 years	Peripheral blood	No mutation
	3	F	22 months	Peripheral blood	Carrier
II	4	M	1 year	Peripheral blood	c.4005 + 5G>A
III	5	M	3 years	Peripheral blood	c.1870_2172del
	6	F	30 years	Peripheral blood	Carrier
	7	F	10 weeks of gestation	Chorionic villi	Carrier
IV	8	F	56 years	Peripheral blood	No mutation
	9	F	3 years	Peripheral blood	No mutation
	10	M	16 months	Peripheral blood	c.3352G>A
V	11	F	29 years	Peripheral blood	Carrier
	12	M	2 months	Peripheral blood	c.1933C>T
	13	F	32 years	Peripheral blood	No mutation
	14	M	15 weeks of gestation	Amniocytes	No mutation, SRY(+)

p.S624_Q724del 돌연변이의 이형접합자인 보인자였다. 환자의 외할머니(증례 8)에게서 엑손 8과 9의 결실 돌연변이에 대한 보인 여부를 확인하기 위하여 말초 혈액으로부터 분리된 DNA를 이용하여 PCR을 시행한 결과 결실 돌연변이에 의해 나타나는 600 bp의 band가 나타나지 않았다. 환자의 이란성 쌍둥이 누나(증례 9)에서도 결실 돌연변이에 대한 보인자가 아닌 것으로 증명되었다(Fig. 3). 네 번째 가계의 증례 10에서 genomic DNA의 염기 서열 분석 결과 엑손 17의 c.3352 G>A (p.G1118S) 돌연변이가 발견되었다. 모친은 이형접합자였다(Fig. 4). 다섯 번째 가계의 증례 12에서는 엑손 8의 c.1933 C>T (p.V1268_R1335del) 돌연변이가 발견되었다. 모친(증례 13)에서는 돌연변이가 발견되지 않았으며 임신시 양수 검사로 산전 진단을 시행하였는데 정상 남아로 진단되어 임신을 지속하여 출산하였다(Fig. 5).

고 찰

저자들은 멘케스병 환자에서 *ATP7A* 유전자 분석을 시행하여 4개의 새로운 돌연변이를 발견하였다. *ATP7A* 유전자는 X 염색체의 장완(Xq13.3)에 위치하고 있으며, 1,500개의 아미노산으로 이루어진 copper-transporting P-type ATPase에 암호화되어 있고 23개의 엑손과 약 1,500 kbp의 genomic region으로 구성되어 있다⁶⁾. *ATP7A* 유전자의 결함이 발생하면 장에서의 구리 흡수 장애, 구리의 혈액-뇌 장벽 통과 장애, 세포 내 구리 운반의 장애를 초래하여 장, 신장, 섬유아 세포 내에 구리가 축적되고 혈청, 간, 뇌에서의 구리 농도가 감소한다¹⁾. *ATP7A*는 구리를 세포질로부터 이동시켜 분비되는 여러 가지 구리 의존적인 효소에 결합되어 효소의 활성을 나타내는데 중요한 인자로 작용한다²⁾. 현재까지 멘케스병 환자에서 130개 이상의 다양한 돌연변이가 알려져 있으며 (<http://www.hgmd.org/>), 이들은 모두 단백질의 발현, 구조, 기

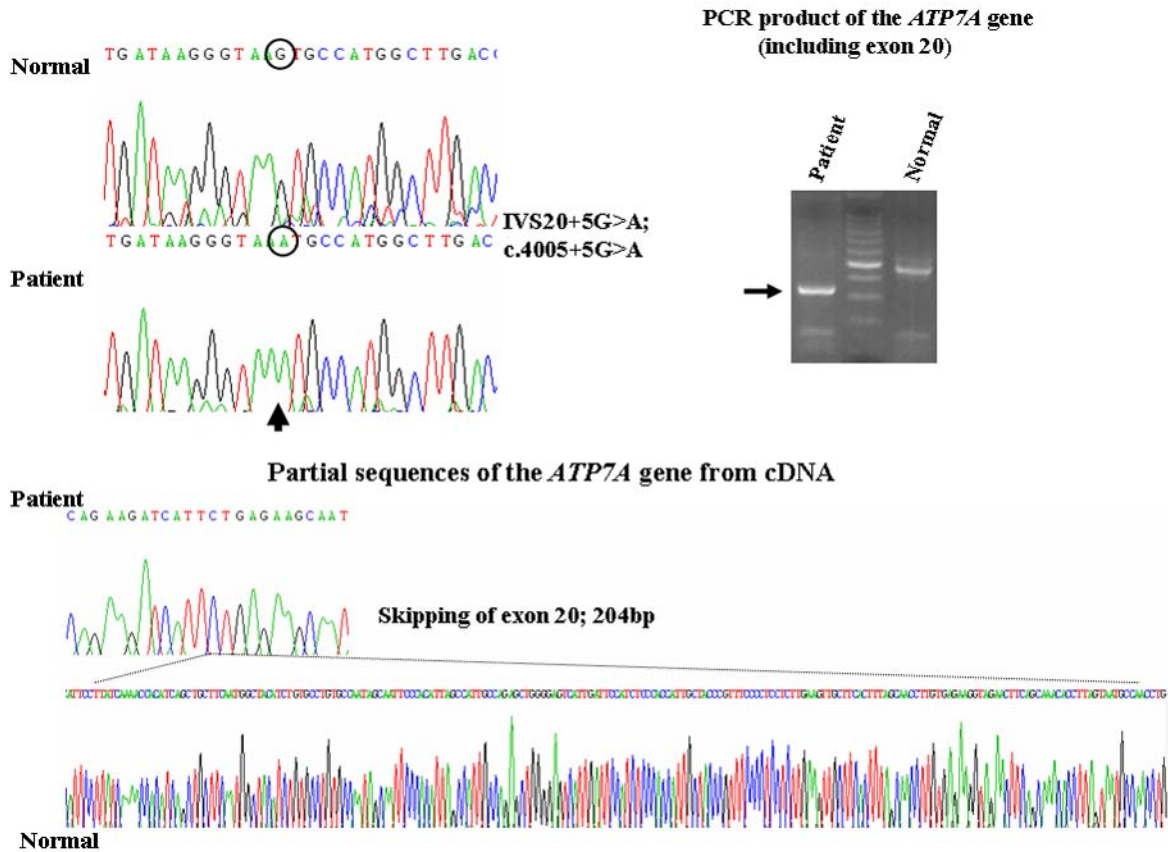


Fig. 2. Partial sequences of the *ATP7A* gene in case 4 using genomic DNA identified c.4005 + 5G>A hemizygote in intron 20. RT-PCR and sequencing of *ATP7A* were performed with mRNA isolated from cultured fibroblasts. Direct sequencing of *ATP7A* using cDNA from cultured fibroblasts identified skipping of exon 20 (204 bp).

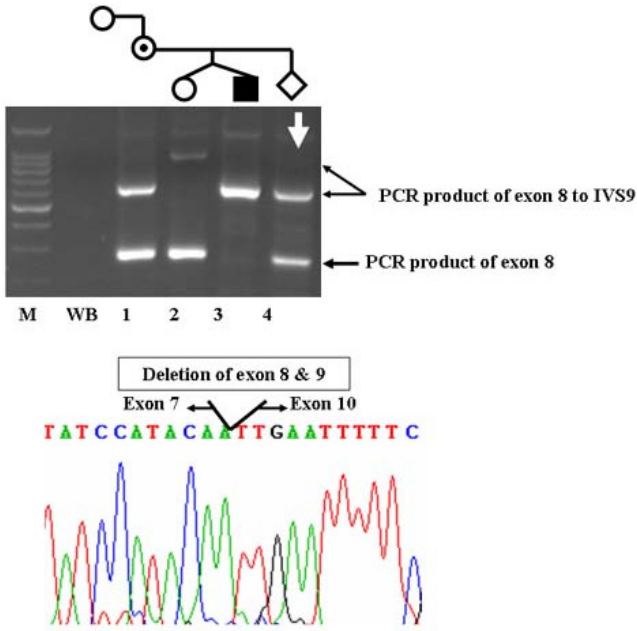


Fig. 3. Partial sequences of the *ATP7A* gene in case 5. Direct sequencing of *ATP7A* using genomic DNA from peripheral blood leukocytes revealed c.1870_2172del hemizygote (p.S624_Q724del). RT-PCR and sequencing of the *ATP7A* gene using cDNA identified deletion of exon 8 and 9 (1,019bp). For prenatal diagnosis in family 3 with Menkes disease, chorionic villi sampling was performed at 10 weeks of gestation, indicating the fetus was a carrier of p.S624_Q724del mutation of the *ATP7A* gene. (Lane M: DNA size marker-100bp ladder, Lane WB: Water blank, Lane 1: case 6 (Mother-Carrier), Lane 2: case 9 (Daughter-Normal), Lane 3: case 5 (Son-Patient), Lane 4: case 7 (Carrier))

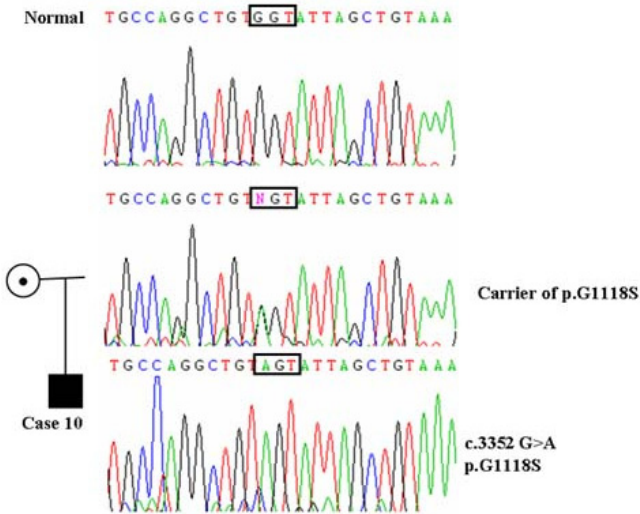


Fig. 4. Partial sequences of the *ATP7A* gene in case 10. Direct sequencing using genomic DNA identified c.3352G>A hemizygote in exon 17 (p.G1118S). His mother was a heterozygote of c.3352G>A mutation. This mutation result in the amino acid changes from hydrophobic to hydrophilic, possibly disrupting *ATP7A* protein structure.

능이 결함을 야기하는 것으로 추정된다. 약 15%의 중증 멘케스병 환자에서 부분적인 비중복 결실(partial nonoverlapping deletions)이 발견되었다⁷⁾. 다른 돌연변이들로는 무의미(nonsense) 돌연변이, 과오(missense) 돌연변이, splice-site 돌연변이, 작은 결실 또는 삽입(small deletion or insertions) 등이 각각의 다른 가계에서 관찰된다^{8, 9)}. 경증의 멘케스병, 특히 occipital horn 증후군에서는 splice site 돌연변이가 발견되었는데, mRNA 염기 서열의 일부에서 적은 양의 정상적인 *ATP7A* 단백질이 발견되어 경미한 증상을 나타낸다^{10, 11)}. 첫 번째 가계에서의 증례 1에서 발견된 c.3511+1G>A (p.E1099_N1171delinsMfsX18) 돌연변이는 splicing 돌연변이를 야기한다. 네 번째 가계의 증례 10에서 발견된 c.3352 G>A (p.G1118S) 돌연변이는 아미노산을 소수성에서 친수성으로 변화시켜 *ATP7A* 단백질의 구조를 변화시키는 것으로 추정된다⁵⁾. 다섯 번째 가계의 증례 12에서는 엑손 8의 c.1933 C>T (p.V1268_R1335del) 돌연변이가 발견되었는데 truncated protein을 야기하는 것으로 추정된다⁵⁾. 세 번째 가계의 증례 5는 생후 3개월째부터 copper-histidine 치료를 시작하였으나 4세경 사망하였으며 다른 환자들은 치료를 계속하면서 생존해 있다.

멘케스병의 진단에는 특징적인 임상 양상과 혈청 구리 및 세룰로플라즈민 등의 생화학적 검사, 분자유전학적 검사 방법으로 확진할 수 있으며, 진단이 확인되면 다른 X-연관성 유전 질환과 마찬가지로 유전 상담이 필요하다. 현재 multiplex PCR, RT-PCR, 직접적인 염기 서열 분석 등의 분자유전학적 기법으로 진단이 가능하여 멘케스병의 정확한 진단 및 보인자 진단, 산전 진단에 이용할 수 있다¹²⁾. 환자의 돌연변이가 이미 증명된 경우 산전 진단과 보인자 발견에 돌연변이 분석을 이용할 수 있다^{13, 14)}. 환자의 모친이 임신한 경우 돌연변이를 알고 있다면 태아의 환자 여부에 대한 산전 진단에 유전자 분석을 통하여 치료적 유산 또는 조기 진단의 목적으로 이용될 수 있다. 임신 9-10주경 융모막 채취를 하거나 15-16주경 양수 검사를 통하여 유전자 분석을 시행한다. 발단자(proband)의 돌연변이가 증명된 경우 DNA 분석을 통하여 보인자 진단에도 유용하게 쓰일 수 있다. 보인자의 유전 상담을 위해 모친이 보인자가 아닌 경우에도 생식 세포 모자이시즘(germline mosaicism)을 배제할 수 없기 때문에 환자를 출생할 수 있다는 것을 주지시켜야 한다^{15, 16)}. 본 연구의 첫 번째 가계에서 환자의 누나는 c.3511+1G>A의 이형접합자로 보인자였지만 모친에서는 정상으로 이는 생식 세포 모

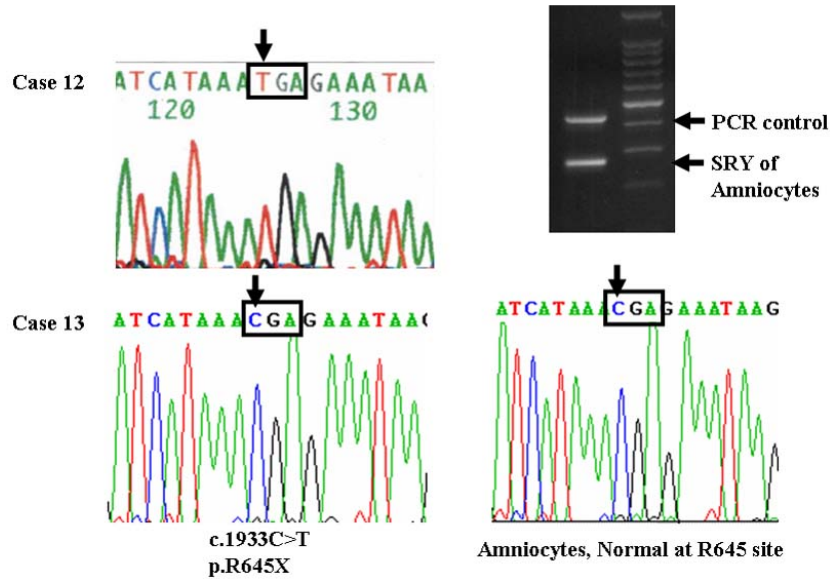


Fig. 5. Partial sequences of the *ATP7A* gene in family 5. Case 12 has c.1933C>T mutation in exon 8 (p.R645X), presumably resulting in truncated protein⁵⁾. On prenatal diagnosis using cultured amniocytes, case 14 was diagnosed as a normal male with positive SRY gene. She kept her pregnancy and had a normal male baby birth without complications.

자이시즘(germline mosaicism)에 의한 보인자의 가능성을 시사한다.

멘케스병의 초기 진단은 임상 양상과 혈청 구리와 세룰로플라즈민 농도가 감소된 것으로 의심할 수 있다. 그러나 이러한 생화학적인 지표들은 생후 2주 후부터 감소하기 시작하여 신생아에서는 해석에 어려움이 있다. 따라서 *ATP7A* 유전자 분석이 멘케스병의 확진에 도움이 되겠다. 그러나 실제 임상에서는 돌연변이의 종류가 가계마다 다양하여 돌연변이가 밝혀져 있는 않은 가계에서는 분자유전학적 방법으로 돌연변이를 증명하는데 상당한 시간이 소요될 수 있다. 본 연구에서 *ATP7A* 유전자 분석에서 4가지 새로운 돌연변이를 발견하였으며 산전 진단은 성공적으로 이루어졌다. 멘케스병의 예후는 조기 진단과 치료가 중요하므로 유전자 분석이 도움이 될 수 있겠다.

요 약

목적 : 멘케스병은 X-연관성 열성으로 유전되는 질환으로 copper-transporting P-type ATPase에 부호화된 *ATP7A* 유전자의 돌연변이에 의해 발생한다. 임상 증상으로 진행성 신경계 퇴행, 정신 지체, 저색소 피부색, 혈관계 합병증을 나타내며, 조기 진단과 치료가 예후에 중요하다. 저자들은

ATP7A 유전자 분석을 통한 새로운 돌연변이와 산전 진단의 사례를 보고하는 바이다.

방법 : 영아기에 꾸불꾸불한 머리카락, 진행성 신경계 퇴행, 근긴장저하를 보인 5명의 멘케스병 환자를 대상으로 하였다. 혈청 구리와 세룰로플라즈민 농도는 모든 환자에서 감소되어 있었으며, 뇌 핵자기공명영상 소견상 꾸불꾸불한 뇌 혈관의 관찰되었다. 배양된 피부 섬유아세포에서 추출한 cDNA 또는 말초 혈액 백혈구에서 분리한 genomic DNA로 유전자 분석을 시행하였다. 산전 진단은 융모막 채취 또는 양수 검사를 통하여 2명의 태아에서 시행하였다.

결과 : 4명의 환자에서 4가지 새로운 돌연변이가 발견되었다(c.3511+1G>A (p.E1099_N1171delinsMfsX18), c.4005+5 G>A (p.V1268_R1335del), c.1870_2172del (p.S624_Q724del), c.3352 G>A (p.G1118S)). 나머지 1명의 환자에서 발견된 돌연변이는 이미 보고된 돌연변이이다(c.1933 C>T (p.V1268_R1335del)). 산전 진단에서 1명은 정상이었으며 다른 1명은 여자 보인자로 진단되었다.

결론 : *ATP7A* 유전자 분석에서 4가지 새로운 돌연변이가 발견되었다. 유전자 분석과 이를 이용한 산전 진단은 조기 진단 또는 치료적 유산을 결정하는데 결정적이다. 본 연구에서 유전자 분석을 시행한 결과 대부분 해독틀(frameshift) 돌연변이였으며 산전 진단은 모두 성공적으로 수행되었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 유전체연구센터 연구비 01-PJ10-PG6-01-GN15-0001의 지원으로 수행되었음.

참고문헌

- 1) Houwen RH. Disorders of metal transport. In: Fernandes J, Saudubray JM, Van den Berghe G, Walter JH, editors. Inborn metabolic diseases. 4th ed. New York: Springer, 2006:468-76.
- 2) Kodama H, Murata Y. Molecular genetics and pathophysiology of Menkes disease. *Pediatr Int* 1999;41:430-5.
- 3) Christodoulou J, Danks DM, Sarkar B, Baerlocher KE, Casey R, Horn N, Tümer Z, Clarke JT. Early treatment of Menkes disease with parenteral copper-histidine: long-term follow-up of four treated patients. *Am J Med Genet* 1998;76:154-64.
- 4) Kaler SG. Diagnosis and therapy of Menkes syndrome, a genetic form of copper deficiency. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(5 Suppl):1029S-34S.
- 5) Hahn S, Cho K, Ryu K, Kim J, Pai K, Kim M, Park H, Yoo O. Identification of four novel mutations in classical Menkes disease and successful prenatal DNA diagnosis. *Mol Genet Metab* 2001;73:86-90.
- 6) Voskoboinik I, Camakaris J. Menkes copper-translocating P-type ATPase (*ATP7A*): biochemical and cell biology properties, and role in Menkes disease. *J Bioenerg Biomembr* 2002;34:363-71.
- 7) Tümer Z, Møller LB, Horn N. Screening of 383 unrelated patients affected with Menkes disease and finding of 57 gross deletions in *ATP7A*. *Hum Mutat* 2003;22:457-64.
- 8) Das S, Levinson B, Whitney S, Vulpe C, Packman S, Gitschier J. Diverse mutations in patients with Menkes disease often lead to exon skipping. *Am J Hum Genet* 1994;55:883-9.
- 9) Tümer Z, Lund C, Tolshave J, Vural B, Tonnesen T, Horn N. Identification of point mutations in 41 unrelated patients affected with Menkes disease. *Am J Hum Genet* 1997;60:63-71.
- 10) Das S, Levinson B, Vulpe C, Whitney S, Gitschier J, Packman S. Similar splicing mutations of the Menkes/mottled copper-transporting ATPase gene in occipital horn syndrome and the blotchy mouse. *Am J Hum Genet* 1995;56:570-6.
- 11) Gu YH, Kodama H, Murata Y, Mochizuki D, Yanagawa Y, Ushijima H, Shiba T, Lee CC. *ATP7A* gene mutations in 16 patients with Menkes disease and a patient with occipital horn syndrome. *Am J Med Genet* 2001;99:217-22.
- 12) Poulsen L, Horn N, Heilstrup H, Lund C, Tümer Z, Møller LB. X-linked recessive Menkes disease: identification of partial gene deletions in affected males. *Clin Genet* 2002;62:449-57.
- 13) Das S, Whitney S, Taylor J, Chen E, Levinson B, Vulpe C, et al. Prenatal diagnosis of Menkes disease by mutation analysis. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:364-5.
- 14) Gu YH, Kodama H, Sato E, Mochizuki D, Yanagawa Y, Takayanagi M, Sato K, Ogawa A, Ushijima H, Lee CC. Prenatal diagnosis of Menkes disease by genetic analysis and copper measurement. *Brain Dev* 2002;24:715-8.
- 15) Poulsen L, Møller LB, Plunkett K, Belmont J, Tümer Z, Horn N. X-linked Menkes disease: first documented report of germ-line mosaicism. *Genet Test* 2004;8:286-91.
- 16) Tümer Z, Møller LB, Horn N. Mutation spectrum of *ATP7A*, the gene defective in Menkes disease. *Adv Exp med Biol* 1999;448:83-95.