

선천성 정신지체가 있는 der(8)t(8;13)(p23.3;q32.1) 핵형의 성인여성

함춘여성클리닉 불임유전연구소

이수민 · 이동숙 · 정현아 · 김기철 · 황도영

Unbalanced translocation der(8)t(8;13)(p23.3;q32.1)dn identified by array CGH and subtelomeric FISH in a patient with mental retardation

Soomin Lee, Dongsuk Lee, Hyunah Jeong, Kichul Kim, and Doyeong Hwang

Hamchoon Institute of Fertility & Genetics
Hamchoon Women's Clinic, Seoul, Korea

Molecular cytogenetics allows the identification of unknown chromosome rearrangements, which is clinically useful in patients with mental retardation and/or development delay. We report on a 31-year-old woman with severe mental retardation, behavior development delay, and verbal performance delay. Conventional cytogenetic analysis showed a 46,XX,add(8)(p23.3) karyotype. To determine the origin of this unbalanced translocation, we performed array CGH and subtelomeric FISH. The results showed that the distal region of chromosome 8p was added to the terminal of chromosome 13q. This was confirmed the final result of 46,XX,der(8)t(8;13)(p23.3;q32.1)dn.

Key Words : Unbalanced translocation, Molecular cytogenetics, Subtelomeric FISH, Array-CGH

서 론

염색체 말단부위의 결실, 혹은 중복 등의 재배열은 정신지체나 기형의 중요한 원인이 되며, 정신지체 환자 2,500명 중에서 5% 미만으로 보고되고 있다. 그러나 일반적으로 행하여지는 핵형 분석으로는 미세한 염색체의 재배열을 정확히 설명하기 어렵다^{1, 4, 6, 8, 9)}.

기존에 이루어지는 염색체 분석은 높은 신뢰도를 보이나, 그 기원을 알 수 없는 marker 염색체를 확인하거나, subtelomeric rearrangement와 같은 문제 분석 시 그 한계점을 가지고 있다.

현재의 분자 세포 유전학의 개념과 기술적인 발달은 일반

적인 세포 유전학 분석을 보완하여 고도의 정밀성과 고용량 처리가 가능하게 하였다.

본 보고는 심각한 정신지체와 발달 장애를 보이는 환자의 염색체 불균형 전좌의 분석을 위해 fluorescence in situ hybridization(FISH) 또는 array-based comparative genomic hybridization(array-CGH)과 같은 분자유전학적인 방법을 적절하게 사용하여 그 분석이 가능하였던 증례보고이다.

증 례

표현형상 나타나는 특이 증상은 없으나 심각한 정신지체, 행동과 언어 발달 장애를 보이는 31세 성인 여성이 원인 분석을 위하여 본 함춘여성클리닉 외래에 내원하였다. 그리고 환자의 말초혈액을 이용한 염색체 분석이 본 연구소에 의뢰되었다.

책임저자: 황도영, 서울 서초구 서초1동 1621-7
함춘여성클리닉 불임유전연구소
Tel: 02)2182-3400, Fax: 02)522-2388
E-mail: doyhwang@hamchoon.com

일반적인 세포유전학 분석을 위해 함춘 유전학 연구소 표준방법에 의해 배양하였으며, 20개의 중기세포를 GTG banding법을 이용하여 550 bands의 해상도에서 함춘 유전학 연구소 분석 기준에 따라 분석하였고, International System for Cytogenetic Nomenclature(2005)에 준하여 표기하였다.

일반적인 염색체 분석결과는 46,XX,add(8)(p23.3)이었으며, 그 기원을 찾기 위한 첫 번째 방법으로 가족력을 확인하였다. 환자의 부모 염색체 분석을 실시하였으나, 부모는 모두 정상으로 환자에게서만 나타나는 de novo 임을 확인하였다 (Fig. 1).

기원을 알 수 없는 첨가된 염색체의 기원을 찾기 위한 분자유전학 분석은 macrogen BAC chip H1440을 이용하였으며, FISH로 재확인하였다.

이러한 분석을 통하여, 8번 염색체 단완에 추가된 기원을 알 수 없는 염색체의 일부는 13번 염색체 장완의 말단 부위임을 확인할 수 있었으며(Fig. 2), 또한 이를 FISH분석을 통해 재확인하였다. FISH분석은 함춘 유전학 연구소의 지침에 따라 시행되었으며, 8번 염색체 단완과 13번 염색체 장완에 대한 signal을 각각 2개, 3개로 확인하였다⁷⁾.

이에 따라, 본 연구소는 이 환자에 대한 최종 염색체 분석 결과를 46,XX,der(8)t(8;13)(p23.3;q32.1)dn으로 확인보고 하였다.

고 찰

Hwang 등¹⁴⁾의 많은 보고자들에 따르면 염색체 말단부위의 결실, 혹은 중복 등의 재배열은 정신지체나 기형의 주요한 원인이 된다고 보고하고 있다. 그러나 이러한 재배열에 의한 불균형 전좌이거나, 기원을 알 수 없는 marker 염색체 등의 분석은 높은 신뢰도를 보이는 일반적인 염색체 분석법이라 하더라도 분석 시 많은 한계점을 가지게 된다. 따라서 FISH, PCR, array-CGH 등의 분자유전학적 방법의 적용은 정확한 정보를 제공하는 적절한 보조적인 방법이 된다.

본 증례는 array-CGH와 FISH를 보조적인 방법으로 이용하여, 성인 여성의 말초혈액 검체를 대상으로 세포유전학적 방법을 이용한 분석 시 염색체 8번 단완의 끝에 존재하는 알 수 없는 염색체 조각의 기원을 분석한 보고이다.

분자유전학적인 분석법 중 하나인 array-CGH는 현미경으로 분석하기 어려운 수준의 염색체 추가나 소실을 규명하는데 있어서 교잡기법의 하나로 염색체 전체가 분석 가능하다. 본 보고에서는 전체 염색체에 해당하는 1440 BAC 클론으로 이루어진 macrogen BAC chip H1440을 이용하였다^{2, 3, 10)}. 또한 실험 상 오류를 최소화 하기 위해 사용하는 염색 시료 Cy3와 Cy5를 검체 DNA와 대조 DNA에 바꿔서 표지하는 dye swap이라는 기법을 적용하여 분석 결과를 대조 확인 하였으며, 일치하는 결과를 얻었다(Fig. 2).

FISH법 또한 marker 염색체나 미세한 불균형 상호 전좌의 기원을 확인하는데 있어서 유용한 한 방법이나, FISH에 이용되는 probe선택에 있어서 연관된 염색체에 대한 정보가 충분해야 한다^{5, 11-13)}. 따라서 macrogen BAC chip H1440으로 확

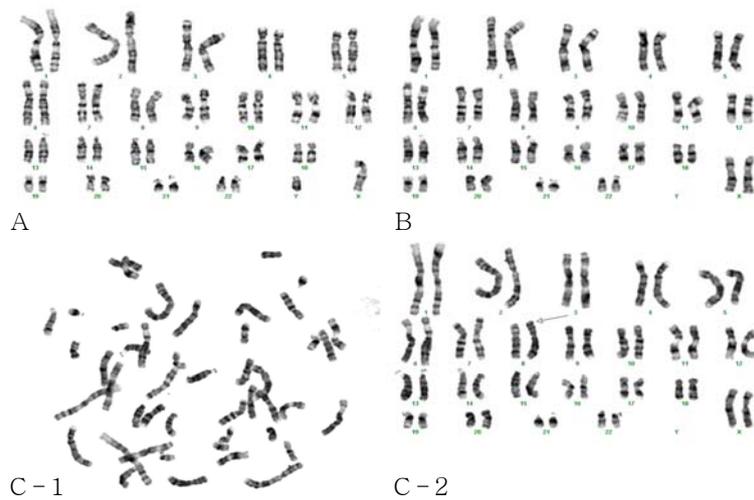


Fig. 1. The result of cytogenetic analysis. The result of conventional cytogenetic analysis of the patient was 46,XX,add(8)(p23.3) (C) while her parents were normal (A, B). An arrow indicates the derivative chromosome.

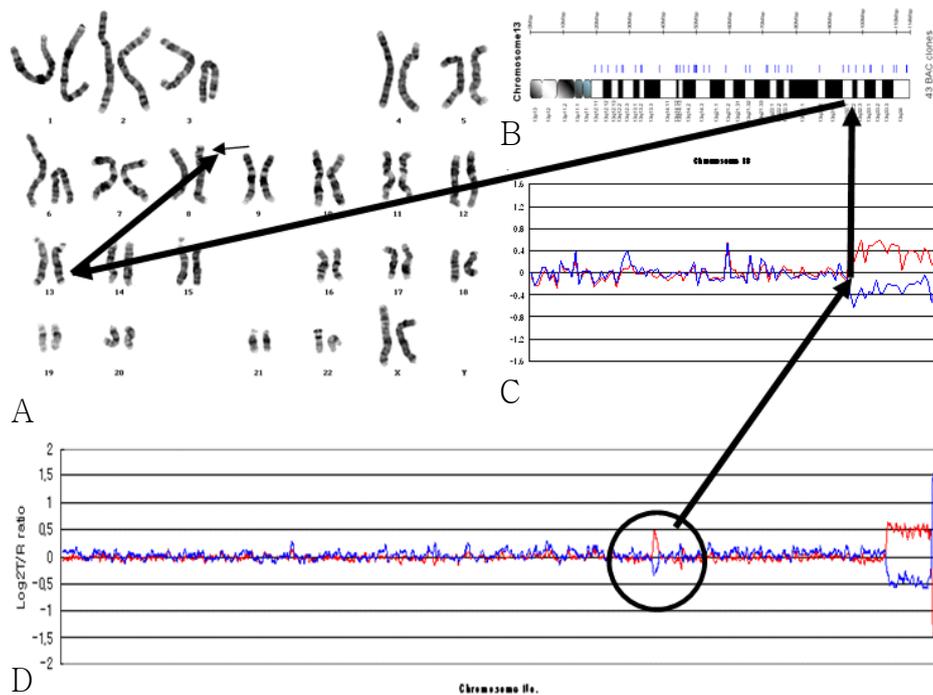


Fig. 2. The results of array comparative genomic hybridization (CGH). (A) Karyotype result (B) Idiogram (C, D) DNA chip result and Dye swap test result. The test and control samples were labeled with Cy5 and Cy3 (or Cy3 and Cy5). It shows that the profile of DNA chip is accord with the result of DNA swap test labeled conversely.



Fig. 3. Fluorescence in situ hybridization(FISH) using subtelomeric probe for chromosome 8p terminal and 13q terminal (Kreatech biotechnology, Sweden). We confirm two signals for chromosome 8p (Green, RH65733X2) and three signals for chromosome 13q (Red, D13S1160X3).

인된 결과에 준하여 13번 장완 말단부위와 8번 단완 말단부위에 해당하는 8pter(RH65733, Kreatech biotechnology, Sweden), 13qter(D13S1160, Kreatech biotechnology, Sweden) probes를 선택하여 FISH로 재확인 검사하였다(Fig. 3). 현미경 검경 시 염색체 8번 단완의 말단부위의 signals에서 한쪽 형광의 크기가 다소 작거나 하나만 확인 되는 경우가 있었으나, 함춘 유전학 연구소의 분석 지침에 준하면 그 비율이 정

상의 범위에 속하여 2개의 signal로 분석하였다¹⁴⁾. 그러나 간혹 확인되는 형광 크기의 차이는 말단부위가 절단점이기 이러한 불안정한 반응이 나타난다고 판단되었다.

앞에서의 결과로, 의뢰된 환자의 임상증상은 염색체 13번 장완 말단부위의 부분적인 trisomy의 영향이라고 보인다.

결론적으로 기존에 사용되는 세포유전학적 방법은 높은 신뢰도를 보이기는 하나 기원을 알 수 없어 난감한 증례의 경우

Array-CGH, FISH, PCR 등과 같은 분자 유전학적인 방법을 보조적인 방법으로 적절하게 적용한다면 정확하고 빠른 정보를 제공하는데 유용한 방법이라 할 수 있다.

한글요약

염색체 말단부위의 결실, 혹은 중복 등의 재배열은 정신지체나 기형의 중요한 원인이 되며, 정신지체 환자 2,500명에서 5%미만으로 보고되고 있다. 그러나 일반적으로 행하여지는 핵형 분석으로는 미세한 염색체의 재배열을 정확히 설명하기 어렵다.

본 증례는 불균형 전좌를 가진 성인여성의 정확한 핵형 분석을 위해 말초혈액의 분석 시 기존의 세포유전학적인 방법에 분자유전학적인 방법을 함께 병행한 보고이다.

환자는 31세 여성으로 심각한 정신지체, 행동발달과 언어 발달 장애를 보였으며, 그 원인분석을 위해 Trypsin과 Giemsa를 이용한 GTG 염색법으로 핵형분석을 시행하였다. 그 결과, 46,XX,add(8)(p23.3)으로 확인되었으며, 기원을 확인하기 위하여 부모 염색체 검사를 통해 유전력의 여부를 확인하고, array CGH와 FISH를 시행하여 기원을 알 수 없는 염색체 조각의 기원을 확인한 결과 46,XX,der(8)t(8;13)(p23.3;q32.1)dn의 최종 핵형을 확인하였다.

따라서, FISH 또는 array-CGH 등의 분자유전학적 방법의 적절하고 적극적인 적용은 기존의 세포유전학적 방법을 보완하여, 환자의 정보를 빠르고 정확하게 보고하는데 매우 유용하고, 효과적인 방법이라 하겠다.

참고문헌

- 1) Beich HG, Recharadson SA, Baird D, Horobin G, Ilsley R. Mental subnormality in the community: A clinical and epidemiological study. Baltimore: Willwams and Wilkins. 1970.
- 2) Cho YL, Bae SM, Koo MS, Kim KM, Chun HJ, Kim CK, et al. Array comparative genomic hybridization analysis of uterine leiomyosarcoma. *Cynecol Oncol* 2005;99:545-51.
- 3) Choe J, Kang JK, Bae CJ, Lee DS, Hwang D, Kim KC. Identification of origin of unknown derivative chromosomes by array-based comparative genomic hybridization using pre- and postnatal clinical samples. *J Hum Genet* 2007;52:934-42.
- 4) de Vries BB, Winter R, Schinzel A, van Ravenswaaij-Arts C. Telomeres: A diagnosis at the end of the chromosomes. *J Med Genet* 2003;40:385-98.
- 5) Eggermann K, Mau UA, Bujdosó G, Koltai E, Engels H, Schubert R, et al. Supernumerary marker chromosomes derived from chromosome 15: analysis of 32 new cases. *Clin Genet* 2002;62:89-93.
- 6) Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet* 1995;9:132-14.
- 7) JR Batanian, MI Hussain. An unbalanced half-cryptic translocation involving the 6q subtelomeric region and 2p25.3 in a child with mental retardation: uses and limitations of fluorescence in situ hybridization *Clinical Genetics* 1999;55:265-8.
- 8) Knight SJL, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet* 1999;354:1671-81.
- 9) Hwang KS, Margaret AP, Skiewicz PP, Alan LM, Lance C, Jessica Wu, et al. Cryptic unbalanced translocation t(17;18)(p13.2;q22.3) identified by subtelomeric FISH and defined by array-based comparative genomic hybridization in a patient with mental retardation and dysmorphic features *Am J Med Genet* 2005;137A:88-93.
- 10) Park SJ, Jeong SY, Kim HJ. Y chromosome loss and other genomic alterations in hepatocellular carcinoma cell lines analyzed by CGH and CGH array. *Cancer Genet Cytogenet* 2006;166:56-64.
- 11) Mercier S, Fellmann F, Cattin J, Bresson JL. Molecular analysis by fluorescence in situ hybridization of a prenatally detected de novo complex chromosomal rearrangement t(2q;3p;4q;13q). *Prenat Diagn* 1996;16:1046-50.
- 12) Peschka B, Leygraaf J, Hansmann D, Hansmann H, Schröck E, Ried T, et al. Analysis of a de novo complex chromosome rearrangement involving chromosomes 4, 11, 12 and 13 and eight breakpoints by conventional cytogenetic, fluorescence in situ hybridization and spectral karyotyping. *Prenat Diagn* 1999;19:1143-9.
- 13) Phelan MC, Blackburn W, Rogers RC, Crawford EC, Cooley Jr NR, Schröck E, et al. FISH analysis of a complex chromosome rearrangement involving nine breakpoints on chromosomes 6, 12, 14 and 16. *Prenat Diagn* 1998;18:1174-80.
- 14) Hwang DY, Lee DS, Choe J, Choi HS, Min JY, SM Lee, et al. Rapid detection of aneuploidy using FISH in uncultured amniocytes for prenatal diagnosis: 8-year experience. *J Genet Med* 4:190-5.