

Candidate Genes Linked to PCOS

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 산부인과

최 두 석

서 론

다낭성난소 증후군 (Polycystic ovary syndrome, PCOS)은 가임기 여성에서 가장 흔하게 나타나면서도 원인이 잘 밝혀지지 않는 내분비 질환이다. 특히 PCOS는 무배란성 불임 환자의 75%, 여성 다모증 환자의 약 90%를 차지하는 원인 질환으로 가임기 여성의 약 4~7% 정도에서 나타난다.

PCOS는 hyperandrogenism과 만성 무배란으로 특징지어지는데 흔히 다낭성난소, 다모증, 비만 그리고 인슐린 저항성이 동반된다.

현재 PCOS의 진단에 흔히 사용되는 기준은 1990년 미국 NICHD 회의에서 나온 기준으로 배란 이상과 더불어 임상적으로 hyperandrogenism을 보이거나 또는 hyperandrogenemia의 소견을 보이며 CAH, hyperprolactinemia 또는 cushing syndrome 등의 연관된 질환이 없는 경우로 정의하고 있다. 그러나 이 기준에는 다낭성난소 (PCO)의 초음파 소견이 진단에 꼭 필요한 것이 아닌 것으로 되어 있고 PCOS의 병태생리에 중요한 인슐린 저항성 (insulin resistance)도 진단 기준에는 포함되어 있지 않다.

PCOS는 가족들 내에서 다발하는 양상으로 발현되어 유전 질환이라는 데는 의견의 일치를 갖지만 PCOS의 유전 양상은 명확히 규명되고 있지 않다. 이에 대한 이유로는

첫째, PCOS는 불임의 원인으로 여성들의 가임 능력이 감소된다. 따라서 linkage analysis를 시행할 PCOS 환자들이 여러 명 포함된 큰 유전 가계들이 드물다.

둘째, 초경 전 그리고 폐경 후 여성들의 PCOS의 표현형 (phenotype)이 명확히 구분되어 있지 않아 가계도를 이용하는데 제한이 있다.

셋째, 진단 기준이 명확히 결정되어 있지 않다. 따라서 서로 다른 기준을 사용하는 경우 다른 결론에 이를 수 있다.

넷째, 남성 PCOS 환자의 표현형이 정립되어 있지 않다.

그리고 마지막으로 PCOS와 같은 표현형이 생기는 동물 모델이 없다는 것 등이다.

일반적으로 질환과 관련된 gene들이나 chromosome location을 규명하는 방법들로는 사전에 유전자에 대한 정보없이 시행하는 genome-wide quantitative linkage analysis, 정상 대조군과 비교해 다른 발현 양상을 보이는 유전자를 통해 찾는 방법, 그리고 덜 방대하고 구체적인 방법으로 specific candidate gene을 확인함으로써 원인 유전자를 규명하는 방법 등이 사용되고 있다.

Susceptibility locus를 찾기 위한 candidate gene approach는 다음과 같은 순서로 진행된다.

비정상적으로 작용하고 있다고 생각되는 단백질을 encoding 하고 있는 gene을 선택한 후 원하는 gene 속에 또는 아주 밀접해 있는 하나 또는 이상의 informative polymorphism을 찾는다. 마지막으로 특정 인구나 가족들 내에서 이러한 variant들과 질환의 위험성간에 연관성이 있는지를 알아보기 위해

association and linkage study를 시행한다.

Association study에는 특정 환자군에서 대조군보다 variant allele이 더 흔하게 발생하는지를 알아보기 위한 case-control approach가 있고 family-based association method로 Transmission disequilibrium test (TDT)가 있는데 이 검사는 질환이 부모로부터 이환된 자식에게 전달되는지 여부를 알아보는데 분석의 초점을 맞춘다.

TDT 방법은 두 군간에 인종적 배경이 맞지 않을 때 case-control study에서 생길 수 있는 거짓 양성 결과를 피할 수 있다. 또한 부모 중 어느 한쪽에서 우선적으로 이환된 자식에게 disease allele을 전달하는지를 밝히는 'parent of origin' 효과를 분석 예측 가능케 한다.

TDT가 하나의 특정한 PCOS 가족들의 형상에 의존하는 반면 다른 가족들의 구조들은 linkage analysis의 일반적인 자료가 된다. Linkage analysis는 disease susceptibility locus나 매우 근접해 있는 polymorphic marker들이 질환으로 가족들을 구분하는 성향이 있다는 사실에 근거하고 있다. Linkage analysis는 computer 분석 program을 이용하여 시행한다.

본 연재에서는 현재까지 PCOS의 특징적인 원인이 될 수 있다고 생각되어 연구가 시행된 candidate gene들을 문헌고찰을 통해 정리해 보고자 한다.

PCOS의 특징적인 증상들과 연관시켜 구분한 candidate gene들은 크게 다음과 같이 구분할 수 있다.

Candidate genes linked to PCOS

1. Genes involved in the biosynthesis and metabolism of androgen (hyperandrogenism)
2. Genes involved in the secretion and action of insulin (hyperinsulinemia, insulin resistance)
3. Genes involved in folliculogenesis (chronic anovulation, PCO)
4. Others

Candidate Genes Linked to PCOS

1. Genes involved in the biosynthesis and metabolism of androgen

1) 17 α -hydroxylase/17, 20-lyase gene (CYP17)

임상적으로 PCOS 환자에서 GnRH 자극에 혈중 17 α -hydroxy progesterone이 과장되게 증가된 반응을 보여 PCOS 환자에서 androgen 생성을 조절하는데 중요한 역할을 하는 enzyme인 17 α -hydroxylase/17, 20-lyase gene 이상 가능성이 제기되었다.

CYP17 (P450c17 α , 10q 24.3) gene의 regulatory region에 single nucleotide polymorphism (T to C substitution 34 bp from the translation initiation point in the promoter region)에 대한 연구에서 초기 소수 대상의 연구와는 달리 PCOS군에서 대조군과 polymorphism의 빈도차가 없고 testosterone과의 연관성도 발견되지 않았다. 또한 소녀 (adolescence)들에 있어서 CYP17 gene의 variants와 mutations도 premature pubarche, 다모증, 회발 월경 등의 표현형들과 연관성이 없었다.

2) Cholesterol side chain cleavage gene (CYP11 α)

PCOS 환자의 theca cell을 체외에서 배양시 정상 theca cell에 비해 progesterone, 17 α -hydroxy progesterone 그리고 androstenedione의 분비가 증가된다. 이는 progesterone 생성 윗 단계의 steroidogenesis 이상을 의미한다.

Cholesterol side chain cleavage enzyme은 steroid 호르몬 생성 시작 단계의 rate-limiting enzyme으로 이 enzyme의 up-regulation이 androgen 생성의 증가를 초래할 수 있다. CYP11 α (P450sc, 15q 24) gene의 promoter region에 있는 polymorphism (penta nucleotide repeat(tttta)n-528 bp 5' from the ATG initiation of the translation site)과 혈중 total testosterone치와 연관성이 보고되었다.

이 polymorphism은 4, 6, 8 그리고 9 repeat-unit들이 정상인에서 나타나며 특히 4-repeat-unit이 가장 흔하다.

PCOS가 4-repeat-unit allele의 부재와 연관성이 있는 것으로 보고되었고 그리스인들을 대상으로 한 연구에서도 이러한 polymorphism과 PCOS가 연관성이 있다고 하였다.

그러나 Urbanek 등 (1999)은 CYP11 α locus의 allelic sharing이 PCOS 자매에서 다소 증가하였지만 통계적 유의성은 없다고 하였고 San Millan 등 (2001)은 penta nucleotide repeat와 다모증이 강한 연관성이 없다고 하여 PCOS와 CYP11 α gene의 연관성 여부에 논란의 소지가 있다. 그러나 이러한 차이는 인종 또는 종족간의 차이에서 기인할 가능성도 있어 CYP11 α gene은 앞으로도 연구의 가치가 있는 candidate gene으로 사료된다.

3) Aromatase gene (CYP19)

Aromatase (P450arom)는 C19 steroid (androgen)을 C18 (estrogen)으로 전환시키는 enzyme이다. 몇몇 hyperandrogenism 환자의 경우에서 aromatase deficiency가 보고되어 CYP19 (15q 21) gene과 PCOS 연관성이 연구되었다. 그러나 aromatase gene의 allele과 PCOS의 연관성은 보고되지 않았다.

4) 21-hydroxylase gene (CYP21)

21-hydroxylase를 encoding 하는 CYP21 gene의 mutation들은 congenital는 adrenal hyperplasia (CAH)의 가장 흔한 형의 원인인데 이 질환은 PCOS의 표현형과 유사하다.

최근 연구에 의하면 ACTH test에서 정상 17-hydroxy progesterone치를 보이는 환자를 포함한 PCOS 추정 환자에서 CYP21 gene mutation들이 유의하게 나타나 PCOS 유전자 연구를 위한 환자의 표현형 구분에 관한 논란을 일으키고 있다.

5) Sex hormone binding globulin (SHBG)

SHBG gene의 P156L missense mutation이 PCOS phenotype과 연관 있을 가능성이 제시되었다.

2. Genes involved in secretion and action of insulin

1) Insulin gene

비만인 PCOS 환자에서 체중 감량은 인슐린 저항성을 줄여주지만 췌장의 β -cell에서 insulin 분비 이상은 지속된다는 사실이 insulin gene의 PCOS pathogenesis에서 역할을 시사한다.

Insulin gene은 염색체 11p 15.5의 tyrosine hydroxylase gene과 IGF-II gene 사이에 위치한다. Insulin gene의 5'쪽의 minisatellite of insulin gene (596 bp from the insulin translation starting codon (ATG) in the promoter region)인 INS VNTR (variable number tandem repeat)이 insulin 분비에 직접 관여하는데 이 minisatellite는 polymorphism region으로 14~15 bp sequence가 반복되며 ACAGGGGTGTGGGG가 가장 흔한 repeat이다.

INS VNTR allele은 크기에 따라 3종류로 구분한다.

Class I: 26~63 repeat units (avg. 40 repeats)

Class II: average length 80 repeat units, rare in coucasians

Class III: 141~209 repeat units (avg. 157 repeats)

INS VNTR은 functional polymorphism (long INS VNTR을 가진 insulin promoter가 short INS VNTR을 가진 것보다 transcriptional activity가 크다)으로 insulin gene의 transcription site의 발현을 조절한다.

INS VNTR에 관한 연구 결과로 waterworth 등 (1997)은 PCOS는 INS VNTR locus의 allelic variation과 연관성이 있으며 class III allele과 특히 III/III genotype이 anovulatory PCOS와 강한 연관성은 보인다고 하였다. 또한 class III allele은 PCOS 환자의 이형 (heterozygous) 아버지로부터 어머니보다 우선적으로 전해지며 자매간에 이 locus의 sharing이 증가되었다. 그러나 다른 연구자들은 data 분석 방법상의 문제점을 제기하였고 또한 Urbanek 등 (1999)은 INS VNTR class III allele과 hyperandrogenemia와의 연관성을 찾지 못하였다고 보고해 논란이 있다.

2) Insulin receptor gene

PCOS 환자에서 흔히 나타나는 체내외의 insulin 기능 이상 (impaired sensitivity to insulin action)의 원인으로 제시되는 insulin receptor gene이나 postreceptor signaling의 이상과 PCOS와의 연관성이 제시되었다.

Insulin receptor gene의 mutation은 acanthosis nigricans, PCOS 등과 연관된 심한 insulin resistance (the type A syndrome)를 초래한다.

대부분의 많은 연구들이 PCOS 환자에서 insulin receptor sequence를 조사한 결과 큰 이상 소견을 밝혀내지 못했다. 그러나 Siegel 등 (2002)은 최근에 INSR tyrosine kinase domain의 C/T single nucleotide polymorphism이 lean PCOS (BMI ≤ 27 kg/m²) 환자와 연관성이 있다고 보고하였다. 또한 insulin receptor 주변의 gene들이 PCOS에 관여할 것이라는 가능성이 제시되었다. Insulin receptor 주변 marker (D19S884 at 19p 13.3)와 PCOS간의 유의한 연관성이 최근 두 연구 결과에서 밝혀져 이 locus에 있는 gene이 새로운 PCOS와 연관된 gene으로 추정되고 있다. 그 locus gene으로 최근 Urbanek 등 (2003)이 D19S884 marker와 420 kb 떨어져서 insulin sensitivity에 역할을 하는 resistin gene을 PCOS candidate gene으로 추정하고 promoter region의 single nucleotide polymorphism과 PCOS, obesity, insulin resistance와의 연관성을 분석하였으나 연관성을 찾지 못하였다.

3) Insulin receptor substrate (IRS) gene

최근 IRS-1과 IRS-2의 polymorphic allele이 PCOS의 insulin resistance에 역할을 할 것이라고 보고되었다. 이 gene들에서 새로운 mutation이 발견되지 않았지만 variant에 의한 gene-dosage effects가 fasting insulin과 Gly972Arg IRS-I variant, 그리고 2-h plasma glucose와 Gly1057Asp IRS-2 variant간에 알려졌다. 특히 Gly972Arg IRS-1 variant는 insulin resistant 환자에서 non-insulin resistant 환자나 대조군보다 유의하게 많다고 보고됐다. 그렇지만 소규모의 연구로 더 많은 PCOS 환자들을 대상으로 확장된 연구가 필요하다.

3. Genes involved in folliculogenesis

1) LH β -subunit gene

PCOS 환자의 40%에서 LH의 분비가 증가되어 있고 이러한 증가는 무배란과 연관되어 있다. LH β -subunit gene은 2가지 molecular variant가 알려져 있다. LH β -subunit gene의 exon2에 2 point mutation과 exon3에 single missense mutation으로 생긴 variant들인데 첫번째는 PCOS와의 연관성이 없는 common polymorphism이고 두번째는 불임 여성의 4%에서 발견되는데 PCOS와의 연관성이 규명되어 있지 않다.

2) Androgen receptor (AR) gene

AR gene은 Xq 11-12에 위치하고 transactivation domain의 N-terminal에서 polyglutamine chain을 enco-

ding 하는 polymorphic CAG repeat가 exon1에 존재한다.

CAG repeat의 수는 AR의 transcription activity와 역비례 한다고 알려져 있다.

Transmission disequilibrium test (tests for excess transmissions of alleles to affected individuals)을 이용한 Urbanek 등 (1999)의 보고에서 CAG repeat polymorphism과 PCOS의 연관성을 밝혀내지는 못했지만 CAG repeat 수와 androgen action이 역비례 하는 것을 밝혔다.

Mifsud 등 (2000)은 PCO와 낮은 testosterone치를 보이는 무배란 여성과 짧은 short CAG repeat와의 연관성을 보고하고 PCOS의 기전으로 짧은 androgen receptor allele에 의해 증가된 androgen 작용이 생리주기와 난소의 이상 (PCO)을 일으킨다고 설명하였다. 그러나 AR polymorphism의 PCOS pathogenesis에서 역할은 더 많은 연구가 필요하다.

3) Follistatin gene

Follistatin은 activin binding protein으로 activin의 pituitary FSH secretion 촉진작용, 난소에서 follicle maturation 촉진작용 등을 방해하여 난포의 성장을 억제하는 역할을 한다. 따라서 follistatin gene의 이상이 PCOS에서 역할을 할 수 있다고 추정되었다. 또한 동물실험에서도 transgenic mouse에서 follistatin이 overexpression 되면 FSH치의 감소와 follicle maturation이 정지되는 것을 관찰할 수 있다.

그러나 follistatin locus는 Urbanek 등 (1999)의 39명의 affected sibling pairs를 대상으로 한 연구에서 PCOS의 강력한 candidate gene으로 나타났지만 이후 확장된 환자를 대상으로 한 연구나 다른 연구에서는 PCOS와의 연관성이 발견되지 않았다. 또한 follistatin gene의 sequencing에서 PCOS와 연관된 어떠한 variant로 발견되지 않았고 알려진 follistatin gene의 17 variant 중에 16개는 매우 드물게 나타나고 하나의 common variant는 translation 되지 않는 마지막 exon 부분의 single base substitution 이었다. 따라서 PCOS에서의 역할은 미미할 것으로 사료된다.

4) FSH and FSH receptor gene

Amino acid sequence가 바뀌지 않는 FSH beta subunit gene의 exon3에 있는 AccI polymorphism이 obese PCOS 환자에서 보고되었다. 그러나 FSH receptor의 mutation screening에서는 PCOS와 연관된 variant는 발견되지 않았다.

5) Dopamine receptor gene

Dopamine은 GnRH와 PRL의 분비를 억제시킨다. Dopamine D2와 D3 receptor gene의 polymorphism이 알려져 있는데 D3 receptor의 rare allele (allele 2) homozygosity와 PCOS, clomiphene resistance간의 연관성이 hispanic 여성에서 밝혀졌다. 그러나 non-hispanic 여성에서는 유의한 연관성이 나타나지 않았다.

4. Others

1) The major histocompatibility Locus

Chromosome 6에 있는 human leukocyte antigen (HLA)을 encoding 하는 major histocompatibility locus와 PCOS의 연관성을 분석한 대규모 연구들에서 서로 상충되는 결과들이 보고되었다. Ober 등 (1992)은 PCOS와 DOA1*0501이 연관성이 있으며 이 allele의 homozygosity가 PCOS 여성에서 증가되어 있고 HLA와 link 되어 있으며 recessive한 유전 양상을 보인다고 한 반면 Hague 등 (1990)은 PCOS와 HLA 간에 linkage가 없다고 보고하여 논란의 여지가 있다.

2) Calpain 10

Calpain 10은 type2 diabetes에 susceptibility를 증가시키는 cysteine protease이다. Calpain-10 유전자와 연관

된 3 DNA polymorphism (SNP-43, -19, and -63)과 PCOS와의 연관성은 없었다. 그러나 African-American과 Whites에서 112/121-haplotype combination이 PCOS의 약 2배 위험성 증가와 연관이 있다고 알려져 있다 (Ehrmann 등, 2002).

결론

PCOS의 유전적 원인은 아직 정확히 알려져 있지 않다. PCOS 환자들간에는 가족력이 흔한데 이는 중요한 유전적 요인을 시사하는 소견이다. 그렇지만 유전 양상은 명확히 정립되어 있지 않다.

PCOS의 유전체 연구는 서론에서 언급한 여러 원인들로 인해 많은 어려움이 있다. 또한 PCOS는 여러 유전적 그리고 환경적 요인들의 상호작용에 의해 다양한 임상적 생화학적 표현형들을 나타낸다. 따라서 엄격한 PCOS 진단 기준을 정립하여 PCOS 환자들을 표현형, 식생활 요인 그리고 가족력에 따라 구분하여 분석하는 것이 PCOS의 다양성을 해결할 수 있는 방법으로 생각된다.

몇몇 candidate gene들이 PCOS의 원인 gene으로 검사되었으나 뚜렷이 반복해서 확실한 결과를 보여준 gene들은 없었다. PCOS가 다양한 종류의 세포에 영향을 주기 때문에 광범위하게 발현되는 cell signaling gene들이 가능성 있는 candidate gene들로 생각되며 지금까지 행해진 초기의 연구 결과를 기반으로 엄격한 진단 기준하에 지속적으로 많은 환자를 대상으로 연구가 시행되어 PCOS 질환과 연관된 유전자가 알려지면 family screening을 통한 PCOS 환자의 조기 진단 및 합병증 발생 위험 예측도 가능할 것으로 사료된다.

참고 문헌

- Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002; 78: 569-76.
- Franks S, Gharani N, McCarthy M. Candidate genes in polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction Update* 2001; 7: 405-10.
- Xita N, Georgiou I, Tastsoulis A. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology* 2002; 147: 717-25.
- Simpson JL. Molecular approach to common causes of female infertility. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2002; 16: 685-702.
- Siegel S, Futterweit W, Davies TF, Concepcion ES, Greenberg DA, Villanueva R, Tomer Y. A C/T single nucleotide polymorphism at the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene is associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002; 78: 1240-3.
- Urbanek M, Du Y, Silander K, Collins FS, Steppan CM, Strauss JF, Dunaif A, Spielman RS, Legro R. Variation in resistin gene promoter not associated with polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 2003; 52: 214-7.