

# 신성요붕증 가계에서 바소프레신 V2 수용체(AVPR2) 유전자 분석: AVPR2 유전자 R202C 돌연변이의 발견

서울특별시립 보라매병원 소아과\*, 중앙대학교 분자세포학과\*\*, 서울대학교 의과대학 소아과학교실\*\*\*  
박혜원\*, 박준동\*, 김호성\*, 김희주\*, 이윤경\*\*, 박영호\*\*\*, 하일수\*\*\*, 정해일\*\*\*, 최용\*\*\*

## < 한 글 요약 >

**목 적** : 신성 요붕증(Nephrogenic diabetes insipidus, NDI)은 바소프레신(arginine vasopressin, AVP)에 대한 신세뇨관의 저항성으로 인하여 요농축의 장애를 특징으로 하는 드문 유전성 질환이다. 반성유전형 신성 요붕증은 바소프레신 V2 수용체(AVPR2)의 장애에 기인하며, NDI 환자에서 지금까지 다양한 AVPR2의 돌연변이가 보고되었다. 저자들은 임상적으로 반성 유전형 신성 요붕증으로 진단된 가계에서 AVPR2 유전자의 돌연변이를 발견하기 위하여 분자유전학적 검사를 실시하였다.

**방 법** : 대상환자의 백혈구에서 추출한 DNA로 AVPR2 유전자를 polymerase chain reaction-single strand conformational polymorphism(PCR-SSCP) 분석하여 이상이 발견된 부분은 클로닝하여 염기서열을 분석하였다. 같은 PCR 산물을 *Hae* III 로 처리하여 PCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism) 분석을 하였다.

**결 과** : AVPR2 유전자를 PCR-SSCP 분석하였을 때 PCR 산물의 정상인과 이동거리의 차이가 발견되어 환아에서 돌연변이가 있고 환아의 어머니는 보인자임을 예측하였고, 염기서열을 분석하여 675번째 염기 A가 G로 치환됨으로 tryptophan이 cysteine으로 바뀌는 R202C 점돌연변이를 발견하였다. 같은 PCR 산물을 PCR-RFLP 분석을 하였을 때 돌연변이로 인한 *Hae* III의 인지부위의 상실을 확인하였고 환아의 어머니가 이종접합보유자(heterozygote)임을 확인하였다.

**결 론** : 저자들은 임상적으로 신성 요붕증으로 확인된 환아와 어머니의 V2 수용체 유전자를 분석하여 R202C 돌연변이를 확인하였다. 신성 요붕증은 진단이 지연되면 성장장애, 정신박약과 사망을 초래할 수 있는 심각한 질환이나, 태생기 또는 신생아기에 진단하면 후유증을 예방할 수 있으므로 조기진단 및 보인자 발견에 분자유전학적 진단 방법을 적극 활용하여야 하겠다.

## 서 론

신성 요붕증(Nephrogenic diabetes insipidus, NDI)은 항이노호르몬이라고도 불리는 바소프레신(arginine vasopressin, AVP)에 대한 신세뇨관의 저항성으로 인하여 요농축의 장애를 특징으로 하는 드문 유전성 질환이다. 이환된 환자는 출생 직후부터 저장성의 소변을 배출하며, 영아기에 식욕부진, 체중증가부진, 이유없이 반복되는 발열 등이 첫 증상으로 발현된다<sup>1)</sup>. 진

단이 지연되면 지속적인 고장성 탈수증으로 성장장애, 정신박약, 심하면 사망할 수도 있다. 그러나 탈수와 고나트륨혈증만 예방하면 예후가 양호하다. 그러므로 조기진단 및 적절한 수분공급과 소변량 조절이 매우 중요하다. 대부분의 신성 요붕증은 반성열성유전으로 유전되어 남아에서 심한 임상증세를 보인다. 반성열성유전형 신성 요붕증은 바소프레신 V2 수용체(AVPR2)의 장애에 기인하며, V2 수용체의 유전자는 X 염색체의 장완(Xq28)에 위치한다<sup>2)</sup>. 사람의 V2 수용체의 cDNA의 염기서열이 밝혀졌고<sup>3)</sup>, NDI 환자에서 지금까지 다양한 돌연변이가 보고되었다<sup>4)</sup>. 저자들은 임상적으로 반성 유전형 신성 요붕증으로 진단된 남아와 환아의 어머니에서 AVPR2 유전자에 대한 분자

접수: 1999년 9월 1일, 승인: 1999년 9월 27일  
책임저자: 박혜원, 보라매병원 소아과  
Tel : (02)840-2463 Fax : (02)831-2826  
e-mail : brmped@snu.ac.kr

유전학적 검사를 실시하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 임상조건 및 생화학적 검사

환아는 1개월된 남아로 생후 20일경부터 시작된 발열을 주소로 내원하였다. 조기양막파열로 인하여 재태연령 38주 5일에 재왕절개로 출생하였으며, 출생 체중은 3.6 kg였다.

환아는 출생 후 생리적 황달 외에는 특별한 주산기 문제가 없었던 환아는, 모유수유로 영양을 공급받았으며 모유 수유가 끝난 후에도 계속 보채곤 하여 분유를 더 먹여야 만족하곤 하였다. 생후 20일경 하루에 6회 정도의 설사를 한 이후로 체온이 38°C 정도로 지속되었다.

생후 1개월 경 B형 간염 예방 접종을 위하여 인근 소아과를 방문하였으며, 지속되는 발열에 대한 검진을 권유받고 본원 소아과로 전원되었다. 가족력에서 환아의 어머니와 외할머니, 둘째 이모, 이종사촌이 다 음, 당뇨의 증상을 보이고 있었으며(Fig 1), 환아의 어머니는 초등학교와 중학교 재학시절 다 음, 당뇨 등의 증상으로 인근병원에서 진찰 및 검사 받았으나 이상은 소견 발견하지 못하였다. 환아의 어머니가 환아를 분만할 당시 인근 산부인과에서 재왕절개수술을 위하여 금식을 하였을 때 고열이 발생하고 실신하였으며, 정맥주사로 다량의 수분을 공급받은 후 증상이 호전되었던 병력이 있다.

진찰소견에서 입원 당시 활력징후는 심박수 138회/분, 호흡수 36회/분이었으며 체온은 37°C이었다. 신장은 67cm(90~97p)이었으며 체중은 5.15kg(75~90p)이었다. 의식 상태는 명료하였으며, 그다지 아파 보이지 않았다. 두경부 진찰에서 두부의 모양은 정상이었으며, 대천문은 함몰되어 있지 않았다. 대광반사는 양측

눈에서 대칭적으로 정상이었으며 공막에 황달은 없었고 결막은 창백해 보이지 않았다. 인두 발적이나 편도 비대는 관찰되지 않았다.

경부의 림프절 증창은 없었다. 흉부 진찰에서 흉벽은 대칭적으로 팽창하였으며, 흉벽함몰을 보이지 않았다. 호흡음은 깨끗하였으며 나음이나 천명음은 들리지 않았고, 심박음은 규칙적 이었으며, 심잡음은 들리지 않았다. 복부진찰에서 복부는 부드럽고 평탄하였으며 장음은 정상적이었고, 간, 비장 혹은 종괴 등은 촉진되지 않았다. 복부의 피부 긴장도는 잘 유지되어 있었다. 신경학적 검사는 정상이었다.

**생화학적 검사** : 일반화학적검사는 calcium 10.7 mg/dL, phosphorous 7.5 mg/dL, glucose 121 mg/dL, BUN 17 mg/dL, uric Acid 5.1 mg/dL, cholesterol 267 mg/dL, total protein 7.5 g/dL, albumin 4.6 g/dL, total bilirubin 2.3 mg/dL, alkaline phosphatase 467 IU/L, AST 28 IU/L, ALT 18 IU/L, creatinine 0.6 mg/dL, sodium 155 mEq/L, potassium 6.1 mEq/L, chloride 123 mEq/L, total CO<sub>2</sub> 19 mmol/L, CRP 0.1 mg/dL이었다. 일반혈액검사는 RBC 5,14 × 10<sup>6</sup>/μL, Hb 16.7g/dL, Hct 52.5%, WBC 13,600/μL, Platelet 335 × 10<sup>3</sup>/μL ESR 3 mm/hr이었다. 요검사는 비중 1.005, pH 5.5; albumin (-), glucose (-), ketone (-), bilirubin (±), blood (-), urobilinogen (-), nitrite (-); RBC 0-2/HPF, WBC 0-1/HPF 이었다. 단순 두개골 촬영은 정상이었으며, 신장 초음파상 신장의 크기는 각각 우측 4.6cm, 좌측 4.7cm으로 정상이었다. 환아의 어머니의 아침 첫 소변 비중은 <1.005, 소변 삼투압은 129 mOsm/kg 이었다.

**수분 제한검사 및 desmopressin 검사** : 수분을 제한하지 않을 때 환아의 하루 소변량은 630 mL 정도였다. 혈청 ADH는 33.69 pg/ml이었다. 수분 제한 검사를 실시하여 4시간동안 수분 섭취를 제한하였을 때 체온이 37.9°C까지 상승하고, 고나트륨혈증이 발생하고 (152 mEq/L), 혈청 삼투압이 307 mOsm/kg까지 상승하였으나 소변 삼투압은 계속 200 mOsm/kg 이하였고, 소변 비중도 1.005 이하였다(Table 1). 비강내로 DDAVP 10 μg을 주입하였으나 거의 반응을 보이지 않았다(Table 2).

### 2. 분자유전학적 검사

환자 및 대상 환자 가족의 백혈구에서 genomic DNA를 추출하였다. 500 ng의 genomic DNA를 주형으로 하여 각 20 pmol 농도의 primers와 0.2 mM dNTPs 및 2.5 units의 Taq polymerase (Takara)와 혼합

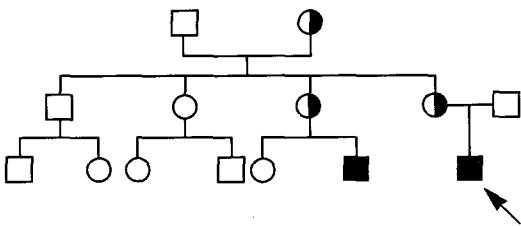


Fig 1. The pedigree of the family.

하여 최종 부피가 50 ul 되도록 하여 PCR을 시행하였다. 이때 사용되는 10개의 primer는 V2 수용체 유전자의 세 개의 coding exon을 증폭하도록 설계하였다(Table 3). 증폭된 PCR 산물로 single strand conformational polymorphism(PCR-SSCP)을 시행하였다<sup>9)</sup>. 즉 PCR 산물을 열변성시킨 후 0.5% MDE겔(FMC)에서 4°C에서 180V로 16시간 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 겔을 은염색을 하여 wild type과 돌연변이된 DNA의 이동거리의 차이를 관찰하였다.

PCR-SSCP에서 이상이 발견된 PCR 산물은 QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Chatsworth, CA)를 사용하여 정제한 뒤 pT7 Blue vector(Novalgen)에 TA 클로닝하였다. 2개 이상의 백색 colony를 QIAgen DNA purification kit (QIAgen, Chatsworth, CA)를 이용하여

정제하고 자동염기서열분석기로 염기서열을 구하였다. 돌연변이에 의하여 원래 존재하던 *Hae* III 제한효소에 의하여 인식되는 염기서열(GG/CC)이 GG/CT로 변화하므로 PCR 산물을 *Hae* III 처리 후 20% polyacrylamide 겔에서 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 정상인과 환자 및 가족원의 DNA절편 크기의 차이를 관찰하였다.

**Table 2.** The result of DDAVP test

Time	Basal	3hr	5hr
Urine specific gravity	<1.005	<1.005	<1.005
Urine osmolarity(mOsm/kg)	91	127	179

**Table 1.** The result of water restriction test

Time	Basal	1hr	2hr	3hr	4hr	5hr	6hr
Body weight(kg)	5.10	5.11	5.10	5.08	5.10	5.08	
Body temperature(°C)	37.6		37.7		37.9		37.8
Urine output(ml/hr)		40	20	13	12	20	
Urine specific gravity	<1.005		<1.005		<1.005		<1.005
Urine osmolarity(mOsm/kg)	85		83		106		173
Serum osmolarity(mOsm/kg)	294		297		307		297
Serum Na(mEq/l)	147		149		152		148
Serum K(mEq/l)	5.4		5.3		5.8		4.7
Serum Cl(mEq/l)	120		119		19		121
Serum CO <sub>2</sub> (mmol/l)	17		23		21		21
BUN(mg/dL)	15		13		14		16
Serum creatinine(mg/dL)	0.5		0.5		0.5		0.6
Serum ADH(pg/ml)	33.69				38.54		

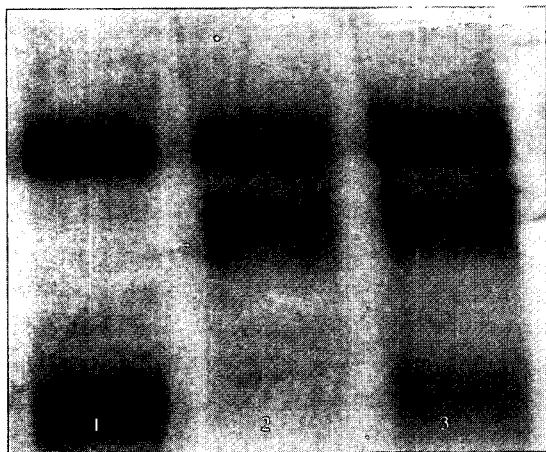
**Table 3.** The sequence of primers used for PCR-SSCP and DNA sequencing

Primers	Sequences	Direction	Location
1	5' -CCA GGA CTG GCC ATA CTG-3'	sense	-105 to -88
2	5' -AGA GGG ATG CCC AGG CAC AG-3'	antisense	116 to 97
3	5' -CTG TGC CTG GGC ATC CCT CT-3'	sense	94 to 116
4	5' -GGC ACG GTG GCG GTC CAG GCC T-3'	antisense	491 to 471
5	5' -TAT GCC ICC TCC TAC ATG ATC-3'	sense	441 to 461
6	5' -ACC AGG GGT AGG TGC CAC GAA-3'	antisense	721 to 711
7	5' -ACC TGG ATT GCC CTG ATG GT-3'	sense	690 to 709
8	5' -TTC CAG AAG GTG CCT CGG GTC-3'	antisense	980 to 960
9	5' -CTT TGT GCT ACT CAT GTT GC-3'	sense	989 to 1008
10	5' -AGC CTC TAG AGG CAA GAC AC-3'	antisense	1218 to 1199

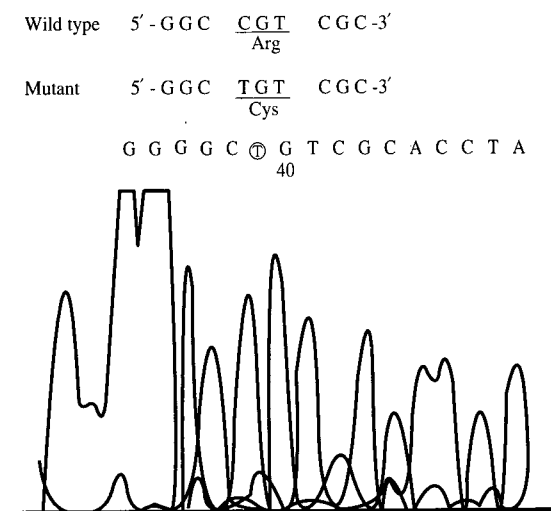
## 결 과

### 분자유전학적 검사

AVPR2 유전자를 PCR-SSCP 분석하였을 때, exon 2의 앞부분을 증폭한, 즉 primer 5, primer 6를 이용한

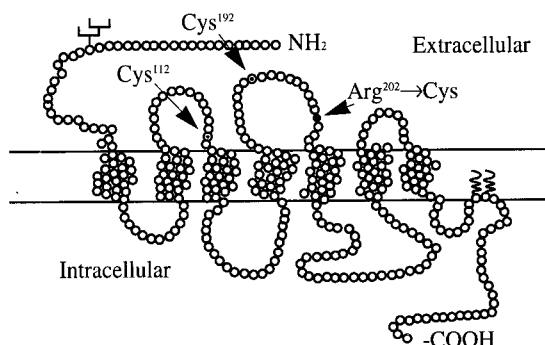


**Fig 2.** PCR-SSCP analysis of the V2 receptor gene. The middle portion of AVPR2 gene(291 bp) were prepared from patient genomic DNA by PCR amplification. Compared with control subject(lane 1), shifted band was detected in the patient(lane 2). Both the wild-type and mutant alleles, were found in mother(lane 4).

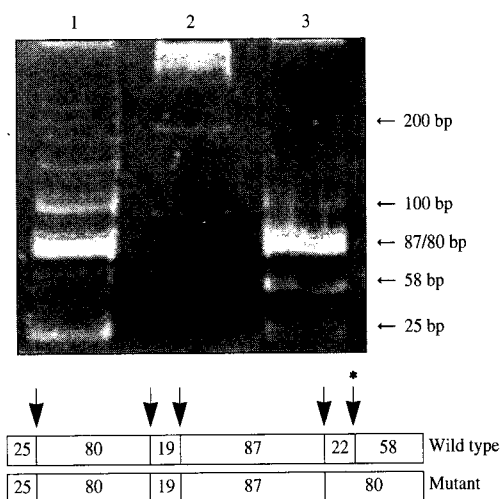


**Fig 3.** Sequencing data of the V2 receptor gene. The patients has a C to T transition at nucleotide 675, changing Arg to Cys at codon 202(R202).

291 bp 크기의 PCR 산물에서 정상인과 본 가계의 이동거리의 차이를 발견하였다. 환자에서 정상인과 비교하였을 때 띠의 이동거리가 다른 띠가 발견되었고, 환자의 어머니에서는 각각 정상 대립 유전자와 돌연변이를 일으킨 대립 유전자에 해당하는 것으로 보이는 띠가 모두 관찰되어 환자에서 돌연변이가 있고 환자의 어머니는 보인자임이 예측되었다(Fig 2). 환자의 같은



**Fig 4.** Location of the mutation in the human V2 receptor. The putative seven transmembrane structures of the AVPR2 are depicted on the basis of the previously reported cDNA sequence, and the site of the mutation are indicated(●). A R202C is located in the third extracellular domain



**Fig 5.** Upper: Hae III restriction fragment pattern on 20% polyacrylamide gel. Lane 1: patient, lane 2: DNA size marker, lane 3: mother. Lower: Hae III restriction map of the PCR products. Arrows: Hae III recognition sites, astrik: loss of Hae III recognition site.

PCR 산물을 클로닝하여 염기서열을 분석하였을 때 675번째 염기 C가 T로 치환되어 202 Codon Arginine(CGT) 이 Cystein(TGT)으로 바뀌는 missense 돌연변이를 확인하였다(Fig. 3). 본 R202C 점돌연변이는 AVPR2의 세 번째 세포의 영역에 위치한다(Fig. 4). 같은 PCR 산물을 *Hae* III 처리 후 전기영동 하였을 때 정상인은 291 bp의 PCR 산물이 87, 80, 58, 25, 22, 19bp로 절단되나 환자에서는 *Hae* III의 한 인지부위(GG/CC)가 GGCT로 변하여 인지부위가 상실되어 87, 80, 25, 19bp의 절편만 관찰되었고, 환자의 엄마에서는 정상 대립 유전자의 절단된 산물과 돌연변이를 일으킨 대립 유전자의 절단되지 않은 산물이 모두 관찰되었다(Fig 5).

## 고 찰

신성 요붕증의 임상 증상은 생후 첫 주부터 발현된다. 이환된 영아는 보채고, 계속 젖꼭지를 빨기를 원하나 우유보다는 물을 더 잘 먹는다. 환자의 엄마는 변비, 체중 증가부진, 이유를 설명할 수 없는 발열 등을 호소한다. 또한 땀을 잘 흘리지 않고, 발열이 있거나 더운 날씨에 상기 증상들이 악화되기도 한다. 일찍 진단이 되지 않으면 환아는 고장성 탈수를 여러 번 경험하고, 합병증으로 경련을 하거나 드물게 사망할 수도 있으며, 정신 지체가 되기도 한다. 다량의 수분을 섭취하며, 염분과 단백질 섭취를 제한하면 저칼로리성 왜소증이 될 수도 있다. 다량의 소변이 배출되므로 흔히 하루 요량이 확장된다. 탈수와 동반한 신사구체의 혈전으로 신부전증이 될 수도 있다. 본 환아는 생후 20일경 가벼운 급성 위장관염으로 시작된 탈수로 인하여 발열이 지속되고, 고나트륨혈증과 저장성뇨가 발견되어 비교적 초기에 요붕증으로 진단되었다. 또한 AVPR2의 효현제(agonist)인 1-deamino[8-D-arginine] vasopressin (desmopressin)에 대한 불응성으로 신성 요붕증이 확인되었다. 환아가 남아이고, 환자의 엄마, 외할머니, 둘째이모, 이종사촌의 다음, 다뇨, 공복시 발열 등의 가족력이 있어 반성 유전임을 시사하였다. 반성유전형 신성요붕증은 AVPR2의 돌연변이에 기인한다고 알려져 있으므로 이에 대한 유전학적 검사를 실시하여 환자에서 R202C 돌연변이를 발견하고, 엄마가 이종접합보유자(heterozygote)임을 확인하였다.

신경뇌하수체(neurohypophysis) 호르몬인 바소프레신(arginine-vasopressin, AVP)는 시상하부의 시상상핵(supraoptic nuclei) 및 방실핵(paraventricular nuclei)에서 전구호르몬(prehormon)의 상태로 합성되며 신경뇌

하수체 신경로를 따라 뇌하수체 후엽으로 운반되어 신경분비과립(neurosecretory granule)의 형태로 저장되었다가, 자극을 받으면 분비되어 신장의 집합관에 작용하여 소변량을 조절함으로써 수분평형에 관여한다. 신장에서 AVP는 신세뇨관에 존재하는 바소프레신 V2 수용체(AVPR2)과 결합하여 G 단백을 통하여 adenylyl cyclase를 활성화시켜 cAMP를 생성하고, protein kinase를 활성화시키며, vasopressin-sensitive water channel인 aquaporin 2(AQP2)를 luminal membrane에 삽입시켜 수분 투과성을 증가시킨다<sup>4)</sup>.

선천성 신성 요붕증(nephrogenic diabetes insipidus, NDI)은 AVP에 대한 신세뇨관의 저항성으로 인하여 요농축의 장애를 특징으로 하는 드문 유전성 질환으로 유병률은 250,000명의 남자 당 1명 정도이고, 보인자의 빈도는  $7.4 \times 10^{-6}$  이다<sup>4)</sup>. 대부분(약 90%)은 반성 유전하고, 일부(약 10%) 상염색체 열성유전을 한다. Linkage analysis에 의해 반성유전 NDI를 유발하는 유전자의 위치가 X 염색체의 장완(Xq28)임이 알려졌다<sup>2)</sup> (Knoers 1988).

AVPR2 유전자가 클로닝되고<sup>3)</sup>, NDI 환자에서 AVPR2의 돌연변이가 발견되어 AVPR2의 돌연변이가 반성유전 NDI를 일으킨다는 것이 증명되었다. 한편 AQP2는 주세포(principal cell)의 세포(vesicle)와 apical membrane에 존재하는 것이 면역학적으로 관찰되고, 사람의 12번 염색체의 장완(12q13)에 위치하는 AQP2 유전자가 클로닝되었다. 이후로 상염색체 열성 유전 NDI 환자에서 AQP2 유전자의 돌연변이가 발견되어, AQP2의 돌연변이가 상염색체 열성유전 NDI를 일으킨다고 생각된다<sup>6)</sup>

이후로 70가지 이상 다양한 AVPR2의 돌연변이가 보고되었고, missense와 nonsense 돌연변이, 결손, 삽입 등 여러 형태가 있다<sup>4)</sup>. 우리나라에서도 다양한 돌연변이가 보고된바 있다<sup>7)</sup>. 이러한 돌연변이는 특별히 잘 생기는 위치 없이 전 coding region에 퍼져있다. 본 연구에서 발견된 missense 돌연변이는 AVPR2의 돌연변이 형태 중 가장 많은 형태이다. 저자들이 발견한 R202C 돌연변이는 과거에 다른 저자들에게 의하여 발견된 적이 있는 비교적 흔한 돌연변이이다<sup>8,12)</sup>. 본 가계에서 발견된 돌연변이가 위치하는 염기서열은 *Hae* III 제한효소에 의하여 인지되므로 앞으로 다른 가계원에서는 PCR-RFLP만으로 단시간에 보인자와 환자를 검색할 수 있고, 태아에 대하여도 양수천자를 통하여 출생 전에 진단을 내려 유전상담에 활용할 수 있을 것이다.

AVPR2의 돌연변이가 AVP에 저항성을 유발하는

기전은 AVPR2의 생성, 세포내 이동, AVP와 결합, G 단백질/adenyl cyclase 계와 상호작용 등의 과정에 장애로 생각된다<sup>12)</sup>.

Tsukaguchi 등<sup>13)</sup>의 *in vitro* 표현 연구에 의하면, R202C 돌연변이는 AVPR2와 AVP의 결합력을 감소시킨다. 지금까지 5 종류의 3 번째 세포의 영역의 missense 돌연변이가 알려졌고 그 중 1가지 돌연변이 (T204C)를 제외한 4가지는(R181C, G185C, R202C, Y205C) 모두 새로운 cysteine으로 치환되는 돌연변이이다. 사람의 AVPR2는 각각 두 번째와 세 번째 세포의 영역에 2개의 cysteine(Cys112, Cys192)가 존재하고, 다른 G 단백질 연관 수용체에서와 마찬가지로 두 세포의 꼬리 사이에 disulfide bond를 형성하여 수용체와 ligand 결합의 3차 구조에 중요한 역할을 한다. 그러므로 R202C 돌연변이로 세 번째 세포의 영역에 cysteine기가 첨가되어 새로운(*de novo*) disulfide bond를 형성하여 적절한 단백질의 3차 구조 형성(protein folding)에 장애를 초래하고, 그로 인하여 AVPR2와 AVP의 결합력을 감소시키리라 추측할 수 있다.

최근 돌연변이가 밝혀지고 각각의 돌연변이의 기능의 장애에 대한 연구가 진행됨에 따라, *in vitro*에서 정상 유전자를 이식(gene transfer)함으로 돌연변이를 일으킨 세포에서 AVPR2의 기능이 회복되는 것에 대한 연구가 진행되었다<sup>14,15)</sup>. 이는 장애에 유전자 치료가 이들 환자들에게 적용될 가능성을 제시한다.

본 가계에서 흥미로운 점은 보인자인 환자의 엄마에서도 요농축장애의 증상이 나타나는 점이다. 반성열성으로 유전되는 이 질환이 여자에서 증상을 나타내는 현상은, AVPR2 돌연변이가 homozygote이거나 AQP2 돌연변이일 가능성도 있으나, AVPR2 돌연변이가 발견된 가계원이며, 가계내의 여자 가족원들 사이에도 표현형이 다른 점 등으로 보아 X 염색체중 정상 대립유전자가 우선적으로 불활성화되어 돌연변이된 대립유전자가 우세하게 표현되었기(skewed X-inactivation) 때문이라고 추정된다<sup>16)</sup>.

결론으로 저자들은 임상적으로 신성 요붕증으로 확인된 환아와 어머니의 V2 수용체 유전자를 분석하여 R202C 돌연변이를 확인하였다. 신성 요붕증은 진단이 지연되면 성장장애, 정신박약과 사망을 초래할 수 있는 심각한 질환이나, 태생기 또는 신생아기에 진단하면 후유증을 예방할 수 있으므로 분자유전학적 진단 방법을 적극 활용하여야 하겠다. 또한 병태생리를 밝히고, 향후 유전자 치료요법의 적용에 기초자료를 마련하기 위하여 AVPR2의 돌연변이가 AVP에 저

항성을 유발하는 기전을 밝히는 연구가 진행되어야 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Knoers NVAM, Monnens LAH: Nephrogenic diabetes insipidus: in Barratt TM, Avner ED, Harmon WE(eds): Pediatric Nephrology. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1999 pp 583-9.
2. Knoers NVAM, van der Heyden H, van Oost BQ, Ropers HH, Monnens L, Willems J: Nephrogenic diabetes insipidus: Nephrogeic diabetes insipidus: Close linkage with markers from the distal long arm of the human X-chromosome. Hum Genet 80:31-8, 1988
3. Birnbaumer M, Seibold A, Gilbert S, Ishido M, Baberis C, Antaramian A, Brabet P, Rosenthal W: Molecular cloning of the receptor for human antidiuretic hormone. Nature 357: 333-5, 1992
4. Bichet DG: Nephrogenic diabetes insipidus. Am J Med 105:431-421, 1998
5. Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K: Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphism using the polymerase chain reaction. Genomics 5:874-9, 1989
6. Deen PM, Knoers NV: Vasopressin type-2 receptor and aquaporin-2 water channel mutants in nephrogenic diabetes insipidus. Am J Med Sci 316:300-9, 1998
7. Cheong HI, Park HW, Ha IS, Moon HN, Choi Y, Ko KW, Jun JK: Six novel mutations in the vasopressin V2 receptor gene causing nephrogenic diabetes insipidus. Nephron 75:431-7, 1997
8. Bichet DG, Birnbaumer M, Lonergan M, Arthus MF, Rosenthal W, Goodyer P, Nivet H, Benoit S, Giampietro P, Simonetti S: Nature and recurrence of AVPR2 mutations in X-linked nephrogenic diabetes insipidus. Am J Hum Genet 55:278-86, 1994
9. Wenkert D, Merendino JJ Jr, Shenker A, Thambi N, Robertson GL, Moses AM, Spiegel AM: Novel mutations in the V2 vasopressin receptor gene of patients with X-linked nephrogenic

- diabetes insipidus. *Hum Mol Genet* 3(8):1429-30, 1994
10. Faa V, Ventraro ML, Loche S, Bossola M, Podda R, Cao A, Rosatelli MC: Mutations in the vasopressin V2 receptor gene in there families of Italian descent with nephrogenic diabetes insipidus. *Hum Mol Genet* 3:1685-1430, 1994
  11. Oksche A, Moller A, Dickson J, Rosendahl W, Rascher W, Bichet DG, Rosenthal W Two novel mutations in the aquaporin-2 and the vasopressin V2 receptor genes in patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus. *Hum Genet* 98:587-9, 1996
  12. Oksche A, Rosenthal W: The molecular basis of nephrogenic diabetes insipidus. *J Mol Med* 76:326-37, 1998
  13. Tsukaguchi H, Matsubara H, Inada M: Expression studies of two vasopressin V2 receptor gene mutations, R202C and 804insG, in nephrogenic diabetes insipidus. *Kidney Int* 48:554-62 1995
  14. Schoneberg T, Sandig V, Wess J, Gudermann T, Schultz G: Reconstitution of mutant V2 vasopressin receptors by adenovirus-mediated gene transfer. Molecular basis and clinical implication. *J Clin Invest* 15;100:1547-56, 1997
  15. Schoneberg T, Yun J, Wenkert D, Wess J: Functional rescue of mutant V2 vasopressin receptors causing nephrogenic diabetes insipidus by a co-expressed receptor polypeptide. *EMBO J* 15;15:1283-91, 1996
  16. Nomura Y, Onigata K, Nagashima T, Yutani S, Mochizuki H, Nagashima K, Morikawa A: Detection of skewed X-inactivation in two female carriers of vasopressin type 2 receptor gene mutation. *Clin Endocrinol Metab* 82:3434-7, 1997

= Abstract =

## **Analysis of Vasopressin Receptor Type 2(AVPR2) Gene in a Pedigree with Congenital Nephrogenic Diabetes Insipidus : Identification of a Family with R202C Mutation in AVPR2 Gene**

Hye Won Park\*, June-dong Park\*, Ho Sung Kim\*, Hee Joo Kim\*, Yoon Kyung Lee\*\*, Il Soo Ha\*\*\*, Hae Il Cheong\*\*\*, Yong Choi\*\*\*

*Department of Pediatrics, Seoul Municipal Boramae Hospital,\* College of Molecular Cytology\*\*, Joongang University, Department of Pediatrics, Seoul National University, College of Medicine\*\*\**

**Purpose** : Nephrogenic diabetes insipidus (NDI) is a rare X-linked disorder associated with renal tubule resistance to arginine vasopressin (AVP). The hypothesis that the defect underlying NDI might be a dysfunctional renal AVPR2 has recently been proven by the identification of mutations in the AVPR2 gene in NDI patients. To investigate the association of mutations in the AVPR2 gene with NDI, we analyzed the AVPR2 gene located on the X chromosome.

**Methods** : We have analyzed the AVPR2 gene in a kindred with X-linked NDI. The proband and proband's mother were analyzed by polymerase chain reaction-single strand conformational polymorphism(PCR-SSCP) and DNA sequencing of the AVPR2 gene. We also have used restriction enzyme analysis of genomic PCR product to evaluate the AVPR2 gene.

**Results** : C to T transition at codon 202, predictive of an exchange of tryptophan 202 by cysteine(R202C) in the third extracellular domain was identified. This mutation causes a loss of *Hae* III site within the gene.

**Conclusion** : We found a R202C missense mutation in the AVPR2 gene causing X-linked NDI, and now direct mutational analysis is available for carrier screening and early diagnosis.

---

**Key Words**: Nephrogenic diabetes insipidus, Vasopressin V2 receptor gene, Mutations, R202C