

대사 산물 분석을 이용한 유전성 대사 질환 진단

성균관의대 삼성서울병원 진단검사의학 교실

이 수 연

서 론

유전성 대사 질환은 혈액이나 소변 중 특징적인 대사 산물의 축적을 특징으로 한다. 따라서 다양한 생체 시료를 대상으로 비정상적인 대사 산물의 축적 또는 정상 성분의 결핍 등을 측정하기 위해 여러 가지 유전 생화학적인 진단 기법이 이용되고 있다. 소변의 색이나 냄새 관찰, 또는 간단한 화학 반응을 통해 발색 여부를 관찰하는 간단한 수기법에서부터 고성능의 최신 장비를 이용하여 수십 가지 성분을 동시에 측정하는 방법에 이르기까지 그 분석 기법은 매우 다양하다. 특히 최근에는 고성능 액체 크로마토그래피(High-performance liquid chromatography, HPLC)나 가스 크로마토그래피-질량 분석기(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)에서 나아가 분석 시간과 측정 대상 성분에 있어 거의 제약이 없는 탠덤 질량 분석기(Tandem mass spectrometry, MS/MS)의 응용이 이 분야에 있어 새로운 가능성을 제공하게 되었다. 특정 단일 성분의 농도를 측정하는 것보다는 metabolic profile의 변화를 총체적으로 관찰하는 것이 유전성 대사 질환의 진단에 크게 도움이 된다.

확진을 위해 유전자 검사나 효소 활성도의 측정이 필요하기도 하지만, 환자의 질병 상태를 반영하는 대사 산물 분석을 통한 유전 생화학적 진단의 임상적 중요성은 사라지지 않을 것으로 보

인다. 질환의 병인 기전과 특징에 따라 진단에 중요한 분석 대상을 결정하고 최적의 분석 방법을 선택하는 것, 적절한 검체의 확보 및 검사의 신뢰성 유지, 그리고 여러 가지 검사 결과 및 환자의 임상 정보를 종합적으로 해석하고 정확한 진단 및 감별 진단을 하는 것은 환자의 진단과 치료, 예후와 연관된 중요한 과정일 것이다.

본 론

유전성 대사 질환은 매우 다양한 임상 양상으로 나타난다. 심한 산혈증이나 간기능 장애, 또는 발달 지연이나 경련 발작을 주요 증상으로 내원하는 경우도 있다. 동일 질환이라도 발현 양상이나 발병 시기가 다르며, 동일 환자에서도 질병 상태나 검사 시기에 따라 관찰되는 대사 이상의 양상이나 정도는 다를 수 있다.

검사 목적에 있어서도 특정 질환의 진단을 위해서일 경우도 있고, 장기 및 조직의 침범 정도를 평가하기 위한 경우도 있으며, 어떤 질환에 2차적으로 초래된 대사적 이상을 보기 위한 경우도 있다. 입원 및 외래 환자, 중환자실 환자, 타기관 의뢰 환자군 간에는 대사이상검사 양성률과 비용 효율성에 있어 큰 차이를 보였다는 보고도 있다.

대사 산물에 대한 검사의 적응증은 매우 다양하다(Table 1, 2). 또한 환자의 나이에 따른 참고치가 다르고 질병 상태나 투약, 영양 상태 등에 따

라 결과 해석이 달라져야 하므로 검사의뢰시 정확하고 자세한 임상 정보가 필수적이다.

유전성 대사 질환의 진단에 이용되는 대표적인 검사들에 대하여 간략히 살펴보면 다음과 같다.

1) 일반적 검사

검사실에서 일반적으로 수행하는 검사 중에서 동맥혈 가스 분석, 전해질, 혈당 요산, 크레아티닌, 간기능 검사, 일반 혈액 검사, 갑상선 호르몬 등의

내분비 호르몬 검사, 요 검사 등이 대사 이상 질환의 가능성과 추가 검사의 결정을 위해 기본이 되는 검사들이다.

2) Ammonia, lactate, pyruvate, ketone body

혈중 ammonia, lactate, pyruvate, ketone body 분획 측정, 그리고 lactate/pyruvate ratio(L/P ratio)나 ketone body ratio (3-hydroxybutyrate/ acetoacetate)는 대사 이상 질환의 진단 및 감별

Table 1. Indications of organic acid analysis

Routine clinical chemical indices	Fluctuating symptomatology/crises/coma
(Unexplained) metabolic acidosis	Macrocephaly
Increased anion gap	(Metabolic) stroke
(Hypoketotic) hypoglycemia	(Progressive) ataxia
Massive ketosis	Myotonia
Ketonuria (especially suggestive in newborns)	Dystonia, athetosis
Lactic acidosis	Myoclonus
Hyperammonemia	(Myoclonic, intractable) seizures
Hyperuricemia	(Progressive) peripheral neuropathy
Hypertriglyceridemia	Pyramidal signs/paraspasm/cerebral palsy
Granulocytopenia and thrombocytopenia	Speech retardation
Clinical signs and symptoms	Myopathy and/or cardiomyopathy
Consanguinity	Congenital cerebral malformation
Uneventful pre-/perinatal history	Fluctuating multisystemic disease
Systemic intoxication	Failure to thrive
Tachypnea/acidotic breathing	(Chronic recurrent) pancreatitis
Refusal of feeding	Hepatosplenomegaly
Adverse reaction to feeding	Reye or Reye-like syndrome
Protracted episodic vomiting	Recurrent severe infections
Pyloric stenosis	(Non-immune hemolytic) anemia
Reye or Reye-like syndrome	Myeloproliferative symptoms
Hepatosplenomegaly	Neuroradiological and neurophysiologic signs
Myeloproliferative syndrome	White matter disease
Failure to thrive	Leukocystrophy
Peculiar smell	Spongiform encephalopathy
(Near missed) sudden infant death syndrome	Cerebellar atrophy
Acute metabolic encephalopathy	Prominent basal ganglia involvement
Hypotonia/lethargy/coma	Calcifications
Myoclonus	Holes
(Myoclonic, intractable) seizures	Atrophy
Acute profound dyskinesia	Transient germinaloid cysts
Pseudotumor cerebri	Fronto-temporal atrophy
Cerebral/intraventricular hemorrhage in newborn	Chronic subdural effusions and/or hematomas
Neurological presentation	Child abuse
Progressive psychomotor retardation	Burst-suppressio EEG pattern

Table 2. Indications of acylcarnitine analysis

Clinical signs and symptoms
Respiratory distress
Lethargy
Coma
Recurrent vomiting
Failure to thrive
Feeding difficulty
Apnea
Hypotonia
Bradycardia
Ventricular arrhythmias
Cardiomyopathy
Hepatomegaly
Encephalopathy
Seizures
Dystonia
Myopathy
Rhabdomyolysis
Renal tubular acidosis
Polycystic kidneys
Reye or Reye-like syndrome
"Near-miss" SIDS
Presymptomatic indications
History of affected sibling(s)
History of sudden unexplained death or SIDS in sibling(s)
History of maternal pregnancy complications (AFLE, HELLP)
Routine clinical chemical indices
Acidosis
Ketosis
Hypoglycemia
Hyperammonemia
Elevated liver enzymes
Elevated CK
Other abnormal laboratory results
Dicarboxylic aciduria (excluding dietary MCT)
Hydroxydicarboxylic aciduria
Abnormal newborn screen for acylcarnitines

진단에 유용한 정보를 제공할 수 있다.

대부분의 검사실에서 혈중 ammonia 측정은 자동 화학 분석기를 이용한 응급 검사로서 제공하고 있다. 혈중 ammonia 측정에 있어 가장 문제가 되는 것은 채혈 및 검체 취급 부주의로 인한 검사 전과정의 오류이다. 즉, 정맥혈을 토니켓 없이 바

로 채혈하여 튜브를 즉시 얼음에 넣어 운반해서 15분 이내 혈장 분리 및 검사할 수 있도록 해야만 정확한 결과를 얻을 수 있다. 토니켓 사용이나 검체 운반 지연 시 lactate 수치도 상승하며, pyruvate 역시 매우 불안정하여 검체 취급이 검사 결과에 매우 결정적인 영향을 미친다. 요 시험

지붕에 의한 ketone 검사는 acetoacetate만을 감지하며 반정량적인 결과를 얻을 수 있다. 3-hydroxybutyrate와 acetoacetate를 동시에 정확히 측정하여 비를 산출하기 위해서는 GC-MS 검사가 이용된다.

Hyperlacticacidemia는 organic acidemia, congenital hyperammonemia, fatty acid oxidation defect와 같은 대사 이상 질환에서 2차적으로 발생하는 경우도 있다. 1차성 hyperlacticacidemia 중에서 pyruvate carboxylase deficiency의 경우는 L/P ratio가 증가하고 ketone body ratio는 정상 또는 감소하는 반면, pyruvate dehydrogenase complex deficiency에서는 L/P ratio가 정상이고, mitochondrial respiratory chain defect 시는 L/P ratio 및 ketone body ratio 상승을 관찰할 수 있다.

3) 아미노산 및 유기산 분석

아미노산 분석에 있어서는 비특이적인 화학 반응이나 박층 크로마토그래피(Thin layer chromatography, TLC)의 이용도 가능하나 민감

도 및 특이도가 떨어지며, 최근에는 대개 이온 교환 크로마토그래피나 HPLC를 이용한 정량 분석이 이루어지고 있다. MS/MS에 의한 광범위 대사 이상 선별 검사는 비용 및 속도, 아미노산을 포함한 여러 가지 성분의 동시 측정이 가능하다는 점 때문에 각광받고 있지만, leucine, isoleucine 같은 구조 이성체의 구분은 불가능하다.

혈중 및 요중 아미노산의 농도는 심한 간 장애, 신세뇨관 장애, 비타민 결핍, 영양 실조, 종양, 감염 등으로 인해 2차적인 변화를 보이기도 한다. 또한 유전성 대사 질환으로 인해 전신적인 조직 및 장기의 장애가 발생하기도 하며, 유기산이나 지방산, 탄수화물 대사이상질환에서 아미노산대사의 장애가 2차적으로 뒤따르는 경우도 있다. 따라서 아미노산 대사 이상 질환 때문인지 다른 질환 때문인지의 감별이 어려운 경우도 많으므로 결과 해석에 주의를 요하며 추가적인 검사가 요구되기도 한다.

각종 아미노산 대사 이상 질환의 특징적인 아미노산 증감 소견과 임상 양상에 대한 이해는 결과 해석에 물론 필수적이다(Table 3). 운반 과정

Table 3. Disorders associated with abnormal amino acid levels

Compound	Source	Change	Disorder to be considered
Glycine	P, B	↑	Non-ketotic hyperglycinemia
Valine	P, B	↑	MSUD
Leucine/Isoleucine	P, B	↑	MSUD
Phenylalanine	P, B	↑	PKU, other hyperphenylalaninemia
Tyrosine	P, B	↑	Tyrosinemia
Methionine	P, B	↑	Homocysteinemia and other hypermethioninemia
Arginine	P, B	↑	Argininemia
Citrulline	P,	↑	Citrullinemia, Argininosuccinyl-CoA-lyase (ASAL) deficiency
Argininosuccinic acid	P, B, U	↑	ASAL deficiency
Sulfocysteine	U	↑	Sulfite oxidase deficiency, molybdenum cofactor deficiency

의 이상인 경우 아미노산의 재흡수 결함 때문에 혈중 아미노산보다는 요중 아미노산의 변화가 특징적일 수 있으므로, 아미노산 분석은 혈액과 소변 검체를 모두 의뢰하는 것이 바람직하다. 구조나 대사 경로상 관련이 있는 2가지 이상의 아미노산 농도가 동시에 변화를 보일 때는 1차적인 유전성 아미노산 대사 이상 질환의 가능성이 높다.

유기산 분석에 있어서는 요검체가 가장 널리 이용되며 유용한 정보를 제공할 수 있다. 요검체는 분석 전까지 냉동 보관하면 유기산 성분에 큰 변화가 없다. 유기산 분석은 다양한 아미노산 및 유기산 대사 이상 질환의 진단에 매우 유용하지만, 임상적으로 증상이 심하지 않고 식이 조절이 잘 되고 있는 환자에서는 유기산 성분의 증가 소견이 뚜렷하지 않을 수 있다. 또한 1회의 검사로

유기산 대사 이상의 가능성을 배제하기에 충분하지 않을 수도 있으므로 임상상을 고려하여 필요하다면 검사를 다른 시기의 다른 검체로 반복해볼 필요가 있다.

아미노산 분석과 마찬가지로 연령이나 복용 약물, 식이 요인, 세균 감염 등이 유기산 분석 결과에도 큰 영향을 미칠 수 있다. 질환별로 진단에 중요한 유기산 성분이 있기는 하지만(Table 4), 결과 해석에 있어서 비특이적 또는 2차적인 증감이 가능한 점과, 한 가지 성분의 증가보다는 전체적인 유기산의 증감 양상과 성분 간의 상대적인 비율의 중요성도 고려하여야 한다.

4) MS/MS를 이용한 검사

과거 페닐케톤뇨증이나 갑상선 기능 저하증 등

Table 4. Key and problem organic acids requiring special attention

Elevated compound	Disorder to be considered
N-Acetylaspartic acid	M.Canavan
Ethylmalonic acid	Mitochondrial disorders
Fumaric acid	Short-chain acyl CoA dehydrogenase deficiency
Glutaric acid	Fumaric acidemia
3-OH-Glutaric acid	Glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency
Glutaconic acid	
4-Hydroxybutyric acid	4-Hydroxybutyric acidemia
4-Hydroxycyclohexylacetic acid	Hawkinsinuria
3-Hydroxydicarboxylic acids	Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase deficiency
3-Hydroxyisovaleric acid	Disorders of biotin metabolism
Malonic acid	Malonyl-CoA decarboxylase deficiency
Methylcitric acid	Disorders of propionate metabolism
3-Methylglutaconic acid	3-Methylglutaconic acidemia
2-Methyl-3-hydroxybutyric acid	3-Oxothiolase deficiency
Tiglylglycine	
2-Methylacetoacetic acid	
Methylmalonic acid	Disorders of B12 metabolism
Suberic acid	Medium-chain acyl-CoA
Sebaic acid	Dehydrogenase deficiency
Hexanoylglycine	
Phenylpropionylglycine	
Decenedionic acid	Very-long-chain acyl CoA Dehydrogenase deficiency
Decadienedionic acid	Tyrosinemia Type I
Succinylacetone	

의 2-5종에 국한되던 신생아 선별 검사 대신, 40여 종의 대사 이상 질환을 포함하는 광범위 신생아 선별 검사가 등장하였다. 이는 한 검체에서 수십 가지 성분을 수분 이내 동시에 정확히 측정할 수 있는 MS/MS의 등장에 힘입은 것이며, 과거에는 증상 발현 전의 조기 진단이 불가능하였던 각종 아미노산, 유기산, 지방산 대사 이상 질환의 조기 진단 및 치료, 예방이 가능해졌다. 이 검사로 인해 질환의 발견을 및 양성 예측도가 상승한 것은 사실이지만, 결과 판정에 있어서나 선별 검사상 양성 환자의 관리 측면의 질 향상에 있어서는 지속적인 노력이 요구된다.

최근에는 신생아 외에도 대사 이상 질환이 의심되는 경우나 대사 이상 질환의 가능성을 배제하기 위한 경우 MS/MS에 의한 선별 검사 결과를 우선적으로 확인하고 나서 혈중 또는 요중 아미노산 분석, 유기산 분석 등을 의뢰하는 경향이 있다.

점차 MS/MS의 응용 분야가 확대되고 있어 앞으로는 유전성 대사 질환의 진단에 더 큰 변화와 발전이 기대된다. 예로 steroid profile 분석을 통한 스테로이드 대사 질환의 진단, monosaccharide 및 disaccharide 측정을 통한 뮤코다당증 진단, 리소좀 축적 질환 진단을 위해 효소 작용에 의한 기질의 화학적 변화를 MS/MS로 측정하는 방법도 소개된 바 있고, 17가지 이상의 대사 산물을 동시해 측정하여 purine 및 pyrimidine 대사 질환을 진단하는 방법도 나와 있다.

5) 기타

GC-MS에 의한 very long chain fatty acid의 측정은 Peroxisomal disorder의 진단에 필수적인데 각각의 농도 뿐 아니라 C24/C22, C26/C22 molar ratio가 중요하다. 이외 phytanic acid,

pristanic acid, bile acid 측정도 도움이 된다.

요중 glucose 뿐 아니라 fructose, galactose, lactose와 같은 환원물질은 체내 영양과 대사에 중요한 성분으로서 TLC에 의해 구분할 수 있다. 요중 galactose는 classic galactosemia, galactokinase deficiency 등에서, fructose는 hereditary fructose intolerance, hereditary tyrosinemia 등에서, lactose는 lactose intolerance에서 관찰될 수 있다.

페닐케톤뇨증의 선별 검사로도 이용되는 Ferric chloride test는 소변을 이용하여 발색 반응을 관찰하므로써 oxo-acid를 검출하는 것이다. Nitroprusside test는 요중 sulfur containing acid가 있을 경우 복합체가 형성되어 보라색을 띄는지 관찰하는 것으로 cystinuria, homocystinuria의 선별에 이용될 수 있다.

뮤코다당증의 선별에는 무작위 소변을 이용한 정성 spot test과 정량 검사가 이용되는데 위양성 및 위음성도 가능하다. 선별 검사상 양성인 경우는 TLC를 이용한 검사로 진행하면 dermatan sulfate, heparan sulfate, keratan sulfate, chondroitin sulfate를 구분하여 관찰할 수 있다. 이에 따라 잠정적으로 아형을 구분한 다음 해당 결핍 효소에 대한 분석을 시행한다. 이외 당원 축적병 진단을 위해서는 혈액 및 조직 검체에서의 글리코젠 농도를 측정하면 진단 및 아형 구분에 도움이 된다.

결 론

유전성 대사 질환의 진단 및 치료에 있어 체액 및 조직 내 대사 산물의 분석은 절대적으로 중요한 의미가 있다. 최근 분석 기법의 발전에 힘입어 과거에 진단조차 불가능하였던 수많은 유전성 대사 질환에 대한 진단과 치료의 가능성이 열리고

있으며, 앞으로 더욱 향상된 진단 및 모니터링 기법과 치료제의 개발이 기대된다.

본문에서 고찰한 바와 같이, 유전 생화학적 검사의 적응증은 매우 다양하고 분석 대상이나 기법, 기대할 수 있는 결과도 다양하다. 따라서, 검사를 의뢰하는 임상측이나 결과를 해석하는 검사실측 모두 특정 검사의 기술적 측면과 임상적 측면에 대한 정보 및 지식을 공유하여야만 시기 적절하고 효율적인 검사의 수행 및 결과 해석이 가능할 뿐 아니라 궁극적으로 대사 이상 질환 환자의 예후에 긍정적인 결과를 기대할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM. Physician's guide to the laboratory diagnosis fo metabolic diseases. 2nd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2003.
- 2) Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G. Inborn metabolic diseases. 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2000.
- 3) Clarke JT. A clinical guide to inherited metabolic diseases. 2nd ed. Cambridge University Press. 2002.
- 4) Chalmers RA, Purkiss P, Watts RW. Screening for organic acidurias and amino acidopathies in newborns and children. *J Inher Metab Dis* 1980;3:27-43.
- 5) Summar M, Tuchman M. Proceedings of a consensus conference for the management of patients with urea cycle disorders. *J Pediatr* 2001;138:S6-29.
- 6) Hommes FA. Techniques in diagnostic human biochemical genetics. 1st ed. Wiley-Liss 1991.
- 7) Ito T, van Kuilenberg AB, Bootsma AH, Haasnoot AJ, van Cruchten A, Wada Y, et al. Rapid screening of high-risk patients for disorders of purine and pyrimidine metabolism using HPLC-electrospray tandem mass spectrometry of liquid urine or urine-soaked filter paper strips. *Clin Chem* 2000;46:445-52.
- 8) Quantification of cellular acid sphingomyelinase and galactocerebroside beta-galactosidase activities by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2001;47:874-81.