

분자 유전학적 검사로 진단된 Ornithine Transcarbamylase Deficiency 1 예

이 은 실

영남대학교 의과대학 소아과학교실

A Case of Molecular Diagnosis of Ornithine Transcarbamylase Deficiency

Eun-Sil Lee

*Department of Pediatrics,
College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea*

—Abstract—

Ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency is the most common inborn error of urea cycle metabolism; it is inherited in an X-linked manner. The OTC catalyzes the third step of the urea cycle, the conversion of ornithine and carbamyl phosphate to citrulline. Deficiency of OTC leads to the accumulation of ammonia, causing neurological deficits. In most affected hemizygotic males, OTC deficiency manifests as hyperammonemic coma that often leads to death in the newborn period, and those who recover from the coma may be neurologically impaired due to the sequelae of the hyperammonemic encephalopathy. In some, late-onset manifestations develop.

We report a male neonate with early onset OT deficiency that had apnea and was comatous. On mutation analysis using DNA sequencing after polymerase chain reaction (PCR) amplification of the 10 exons, deletions of 10 bases in codon 285, causing a frame shift was detected in exon 8. The mother and a sister were diagnosed as female carriers. Therefore, genetic counseling and the risk assessment could be provided to the family.

Key Words: Ornithine transcarbamylase deficiency, Heterozygote male, Mutation analysis

서 론

요소 회로 (urea cycle)는 단백 섭취나 다른 물질이 대사되면서 형성된 독성이 있는 질소를 독성이 없고 수용성인 요소(urea)로 만들어 우리 몸으로부터 제거하는 유일한 경로이며, 필수 아미노산인 arginine을 생합성하고 분해하는 중요한 역할을 한다.¹⁾ 요소 회로 효소병(urea cycle enzymopathy)을 일으키는 결핍 효소에는 carbamyl phosphate synthetase, Ornithine transcarbamylase(OTC), arginosuccinate synthetase, arginosuccinate lyase, arginase 등이 있다. 일본에서의 요소 회로 효소병의 빈도는 출생아 46,000명당 1명이며,²⁾ 그 중에서, Ornithine transcarbamylase deficiency(OTCD)가 가장 흔하며,³⁻⁵⁾ 이는 80,000명당 1명꼴로 발생한다.⁶⁾

OTC는 요소 회로의 3번째 단계인 ornithine과 carbamyl phosphate가 citrulline으로 대사되는데 필요한 효소이며, 이 효소가 부족하면 암모니아의 축적되어 신경학적으로 치명적으로 작용한다. OTCD는 X-연관성 열성 유전 형태를 취하며, 전형적인 경우에는 반접합체(hemizygote)인 남아가 출생 후 수일이내에 고암모니아 혈증을 보이며 의식변화가 생기는데 만약 진단이 늦어 적절한 치료를 하지 않으면 치명률이 80% 이상이며, 생존하는 경우에도 고암모니아 뇌증의 후유증으로 인해 정신 운동 발달 장애를 동반하게 된다. 지발형인 경우에는 부분적인 효소 활성이 남아 있는 경우로 임상 양상이 덜 심하게 나타나며 그 정도는 다양하다. OTCD의 확진은 OTC의 결핍을 증명하는 것이나 이 효소는 간조직에 주로 존재하기 때문에 생존아에서 효소의 활성도를 직접 측정하기는 어려워 혈청 및 소변의 아미노산 분석

으로 간접적으로 진단해 왔다. 그러나 OTC 유전자가 1984년 Horwich 등⁶⁾에 의해 cloning되었고, 1988년 Hata 등^{7,8)}에 의해 genomic DNA의 구조가 73 kb이고 10개의 exon과 9개의 intron으로 구성되어 있다는 것이 알려지면서 현재는 분자 유전학적 진단이 가능하게 되었다. 본 저자는 전형적인 OTC 환아로서 OTC 유전자의 결함을 알아내고 환아의 어머니와 누나가 보인자임을 진단하여 유전상담이 가능했던 증례를 보고하고자 한다.

증 례

환아 : 생후 4일, 남아

주소 : 자발 호흡과 의식소실

주산기 병력 및 가족력 : 특별한 주산기 병력도 없었고 특이한 가족력도 없었다. 환아의 누나 1명이 건강하게 자라고 있었다.

현병력 : 재태 기간 39주 6일에 정상 질식 분만된 남아로 Apgar 점수는 1분에 8점, 5분에 10점이었다. 출생 후 첫째날과 둘째 날은 잘 지내다 3일째부터 수유 곤란과 기면, 끄끙거림이 관찰되었고 내원 당일은 자발호흡이 약해지고 의식 혼미가 나타나 기관지 삽관 후 전원되었다. 전원 도중 자발 호흡은 없어졌으며 의식은 혼수 상태가 되어 양압 환기를 하는 상태로 입원하였다.

이학적 소견 : 입원 당시 체중은 2,790 g (10~25 백분위수), 신장은 50 cm (25~50 백분위수), 두위는 32.8 cm (25~50 백분위수), 흉위는 32 cm (25~50 백분위수)였다. 활력징후로 혈압은 26/13 mmHg, 맥박수 40회/분, 자발 호흡은 없는 상태였다. 환아는 외견상 기형은 없었고 전반적인 상태는 매우 위중하였고 창백해 보였다. 두

경부나 흉부 진찰에서는 이상 소견은 없었고 복부에서는 만져지는 장기나 종물은 없었다. 신경학적 검사에서는 혼수 상태였고 근육 긴장도는 심하게 감소되어 있었 동공 반사는 미미하였고 정상 반사들도 나타나지 않았다.

검사소견 : 입원 당시 말초혈액 검사에서는 백혈구는 $10,900/\text{mm}^3$ (호중구 66%, 림프구 34%), 혈색소는 12.1 g/dL, 혈소판은 $126,100/\text{mm}^3$ 이었다. 동맥혈 가스분석에서 pH 7.191 PaCO₂ 25.6 mmHg, PaO₂ 52 mmHg, Base excess -16.8이었다. 혈청 나트륨과 칼륨은 105/6.3 mEq/L, 혈당 320 mg/dL, Blood urea nitrogen(BUN)/Creatinine 3.7/1.4 mg/dL, glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)/glutamic pyruvic transaminase(GPT) 122/39 mg/dL였다. 암모니아치는 1,845 mg/dL이었고, 혈장에는 citrulline은 관찰되지 않았고 소변에서는 orotic acid가 증가되어 있었으며 lactic acid, pyruvic acid, 3-hydroxybutyric acid, acetoacetic acid도 증가되어 있었다. OTC 유전자의 돌연변이 여부를 조사하기 위해 10개의 exon을 각각 중합효

소 연쇄반응을 시행하여 SSPS 분석을 하여 대조군과 상이한 exon 중 8번의 염기 서열 분석을 하여 exon 8의 coding sequence 중 10개의 염기가 결실된 것이 관찰되었다(Fig. 1). 10개의 염기의 결실에 의한 돌연변이로 인해 frame shift 돌연변이가 야기되면서 285번째 codon이 종결 codon이 되어 나머지 exon 9, 10에 해당되는 아미노산의 합성이 저해되는 것이다. 이 환자의 엄마와 누나, 그리고 2명의 이모에 대해서도 발견된 돌연변이에 관한 검사를 시행하여 엄마와 누나가 보인자임을 진단하였다(Fig. 2).

임상 경과 및 치료

입원 당일 고암모니아 혈증을 치료하기 위해 복막 투석을 시행하였고 역시 암모니아 배설을 촉진시키기 위해 sodium benzoate (250 mg/kg/day)을 정맥 주사하였다. 입원 제 2병일에는 암모니아가 365 mg/dL로 감소하였고 의식상태도 약간씩 호전을 보였다. 입원 제 3병일에는 의식상태가 반혼수 상태로 호전을 보였고 자발호흡이 가능하였다. 혈장 암모니아가

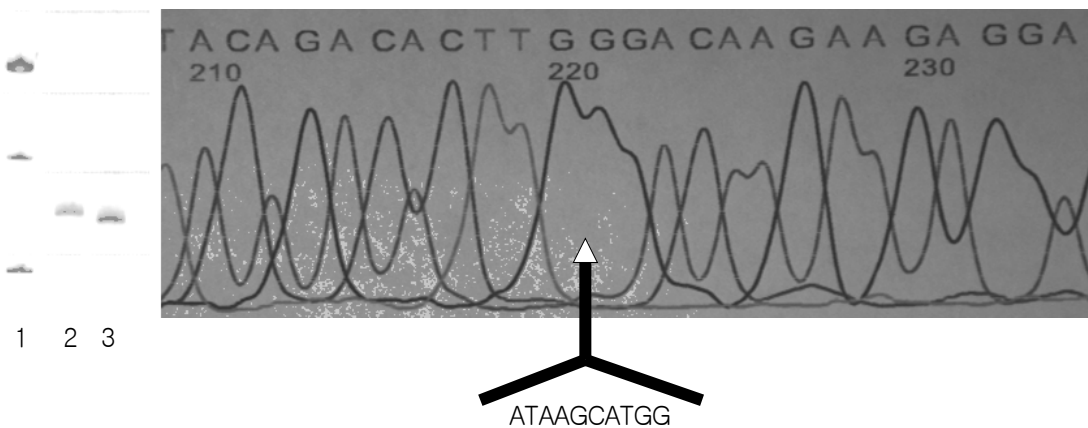


Fig. 1. Identification of the mutation in exon 7, 8 of the *OTC* gene in patient by PCR products (lane 1 : DNA marker -500, 400, 300 bp, Lane 2, 3 : PCR product for *OTC* exon 7 & 8 of normal control and patient, respectively) (left) and 10 bp deletion sequence of *OTC* gene (right).

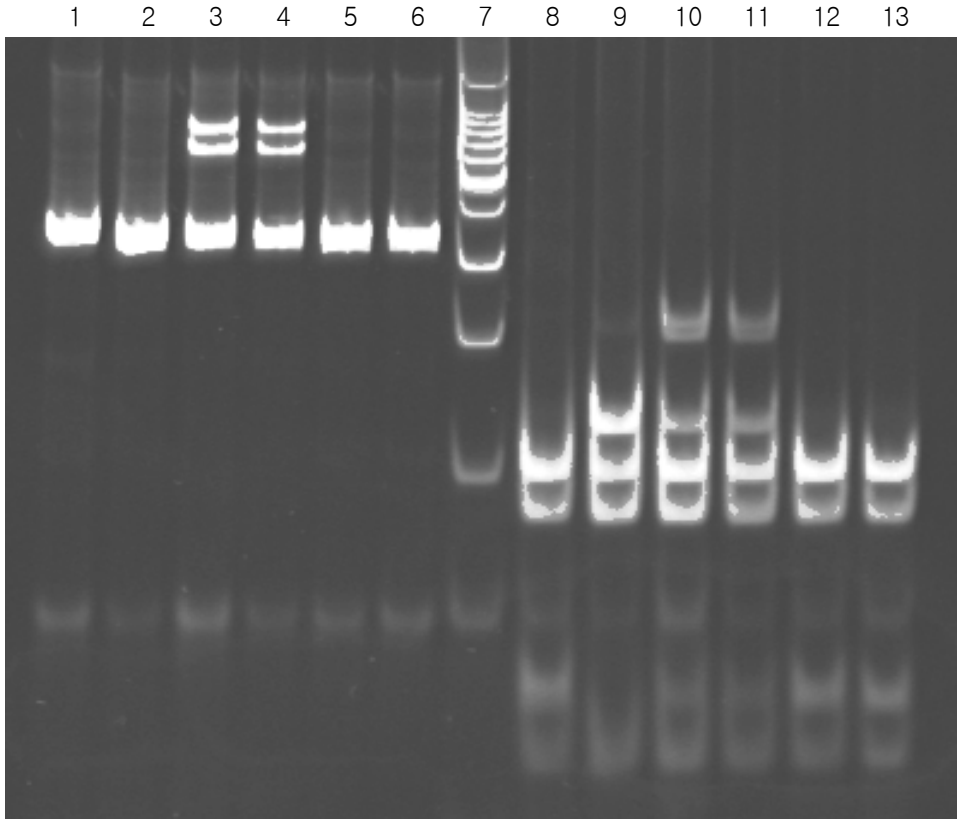


Fig. 2. Identification of the mutation (heterozygote type) in exon 8 of the *OTC* gene. Lane 1-6: the first and nested PCR products of normal control, patient, mother, older sister, maternal aunt 1, maternal aunt 2, respectively. Lane 7 is a DNA marker - 100 bp ladder. Lane 8-13: *Nla*III-digested products from the first PCR products of normal control, patient, mother, older sister, maternal aunt 1, maternal aunt 2. Lane 3, 4 and 10, 11 were seen with heteroduplex effect.

150 mg/dL로 감소하였으며 복막 투석은 지속하였다. 입원 제 5병일에는 혈장 암모니아가 100~200 mg/dL로 유지되어 복막 투석은 중단하였다. 입원 제 6병일에는 의식이 명료해졌으며, 요소회로 대사질환이 있는 환자에게 필수 아미노산 공급을 위해 만들어진 UCD formula[®] (매일유업)으로 수유를 시작하였고 L-carnitine 150 mg/kg/day, arginine 200 mg/day을 투여하였다. 입원 제 22병일에는 수유 곤란과 구토가 발생하였으며 자발호흡이 약해지면서 혈장

암모니아가 1,300 mg/dL으로 급격히 증가하여 다시 복막 투석을 시작하였다. 4일간 복막 투석을 시행한 후 암모니아치의 감소로 투석을 중단하였으며 이후 sodium benzoate, carnitine, arginine을 경구복용하고 특수 분유를 수유하면서 제 45병일째 퇴원하였다. 이후 바이러스 감염과 동반되어 고 암모니아혈증이 간헐적으로 있어 오다가 생후 4개월째 호흡기 감염 증상이 있으면서 갑작스런 의식 소실 후 사망하였다.

고 찰

Ornithine transcarbamylase 결손증(OTCD)은 요소회로 이상을 일으키는 5가지 질환 중에서는 가장 많은 빈도를 보이는 질환으로, 전체 요소 회로 장애 중에서 61%를 차지한다.⁶⁾ OTC는 요소 회로의 두 번째 효소로, 사립체내에 존재하여 carbamylphosphate와 ornithine의 결합을 촉매하여 citrulline을 형성하는데 관여하며, OTC 유전자는 X 염색체의 단완(Xp21)에 위치하므로⁹⁾ OTCD을 일으키는 질환 중 유일하게 X-연관성 유전형식을 취한다. 이 효소 부족에 의해 OTCD에 이환된 남아의 경우 증상의 발현 시기가 여아보다 더 빠르고 심한 경과를 보인다.³⁻⁵⁾ 반접합자(hemizygote)인 남아는 대개 신생아기부터 치명적이고 난치성인 고암모니아 혈증의 전형적인 경과를 취하게 되는데, 보통 수유 후 24~48 시간 후에 기면, 구토를 보이고 저체온증, 무호흡, 경련 등 패혈증 유사 소견을 보이며 혼수에 이르러 사망하게 된다.^{2, 10)} 하지만 최근 남아에서도 효소의 부분 결핍으로 인해 증상이 경하고 발현 시기도 늦은 경우가 보고되고 있다.¹¹⁾ 부분적인 효소 활성이 남아 있어 증상이 늦게 나타나는 지발형인 경우에도 고단백 식이나 감염, 스트레스, 외상 등과 관련되어 증상이 발현되는 경우가 많다. OTCD로 진단된 경우의 60% 정도가 1개월 이상의 유아나 소아기에 진단된다고 한다.^{2, 12)}

본 증례는 이전의 가족에서 대사 질환을 의심할 만한 가족력은 없는 상태로 생후 72시간 경에 의식 소실과 무호흡 증상이 발생한 것과 심한 고암모니아 혈증 소견이 발견되어 초기부터 요소 회로 효소병임을 강력하게 의심하였다.

이 질환의 진단은 의료진들이 환자를 본 후

먼저 이 질환을 염두에 두는 것이 가장 중요하다. 뚜렷한 감염의 원인 없이 패혈증 소견을 나타내는 신생아나 어느 연령에서든지 설명할 수 없는 간헐적인 구토와 신경학적 이상, 운동 실조 등을 나타내는 경우에는 대사 질환의 가능성을 염두에 두고 혈장 암모니아를 검사해야 한다.^{13, 14)} 신생아 시기에 앞서 말한 증상을 나타내면서 고암모니아 혈증을 나타내는 질환이 몇 가지 있어 혈장의 아미노산과 소변의 유기산 분석을 시행하여 이들 질환과 감별해야 한다.³⁻⁵⁾ 생화학 검사에서는 고암모니아, 고글루타민, 저아르기닌, 저시트룰린 혈증과 요중 orotic acid의 배설 증가를 특징으로 한다.

OTC 유전자는 간과 장의 점막에서만 발현되므로 사실 이 질환의 확진은 간 조직에서 OTC의 활성도를 측정하는 것이다. 신생아기에 심한 증상이 발현된 경우의 OTC 활성도는 정상 1% 미만이나 지발형인 경우에는 OTC의 활성도가 다양하여 진단이 애매해지는 경우가 많아서²⁾ 최근에는 OTC 유전자의 DNA를 직접 분석하여 돌연 변이를 확인하는 방법이 이루어지고 있다. 본 환아에서는 전형적인 생화학 소견을 보여 OTCD로 진단하는 데 어려움은 없었으나, 유전자 돌연변이를 확인하였다. 유전자의 돌연변이를 확인하게 되면 다음 아기를 갖게 되는 경우 산전 진단을 함으로써 출생 후 즉시 진단과 치료를 함으로써 고암모니아 혈증으로 인한 뇌증을 사전에 예방할 수 있다. OTCD는 유전학적으로 이질적인 질환으로 OTC 유전자에 대해 유전자 결실, 점상 돌연변이 등이 많이 밝혀져 있으며 신생아기에 증상이 발현된 남아의 경우 15%가 유전자 결실에 의한 것이며 nonsense mutation이 여아에 비해 많이 발견된다.⁷⁾ 이 환아의 유전자 분석에서는

결실에 의한 것으로 진단되었고 엄마와 누나가 보인자임을 진단하였기 때문에 다음 임신시 용모막 세포나 양막 세포를 이용한 DNA 분석에 의한 산전 진단이 이루어질 수 있을 것이다. 산전에 진단된 환아가 분만되면 즉시 치료를 시작하여 고암모니아에 의한 뇌증을 예방하여 장기적인 신경 발달에 관한 예후를 향상시킬 수 있다.

요소 회로 효소병의 치료 목표는 고암모니아혈증이나 고글루타민혈증에 의한 뇌손상을 막으면서 성장과 발달에 필요한 에너지와 단백질과 필수 아미노산 등을 충분히 공급하는데 있다.²⁾ 그리고 암모니아의 축적을 막기 위한 저단백식이와 암모니아의 배설을 증가시키기 위한 약물을 사용하는데 이러한 약물은 안식향산, phenylbutyrate, phenylacetate가 있으며, 필수 아미노산인 arginine의 보충이 치료의 핵심이 된다. 특히 증상이 심한 신생아의 경우에는 이러한 약물들을 정맥으로 투여하고 투석을 시행하는 등 적극적인 조치로 최대한 독성 물질의 빠른 배출을 원칙으로 한다. 그러나 병이 잘 조절이 되고 있는 환아라 하더라도 감염이나 스트레스, 외상을 입거나 고단백 식이를 하는 경우 급작스런 증상의 재발이 일어나게 되어 치료에 어려움이 있고, 최근에 국내에서도 신생아기에 발현한 심한 환아에게 간이식을 시행하여 좋은 결과를 얻고 있다.⁹⁾

신생아기에 심한 증상이 있었던 OTCD 환아들은 사망하거나 생존하는 경우에도 심한 신경학적 후유증을 가지게 되므로,^{3-5, 12)} 유전자 검사를 통해 결함된 유전자를 인지하여 산전 진단을 통한 예방이 필수적이다. 그리고 최근 한국인의 OTCD의 유전학적 결함에 따라 표현형도 다르게 나타남이 보고되고 있어¹⁵⁾ 향후

임상 증상의 다양성도 유전자의 결함형태에 따라 달리 보고될 것이다.

본 증례도 결국 환아는 사망을 하였으나 그 환아를 통해 분자 유전학적 검사를 통해 결함된 유전자를 찾아 가족들에게 다음 임신의 계획을 세우고 이환된 신생아의 출생 후 즉각적인 조치를 시행할 수 있도록 유전 상담을 할 수 있게 되었다.

참 고 문 헌

1. Brusilow SW, Horwich AL. Urea cycle enzymes. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic and molecular bases of Inherited disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 1909-63.
2. Horwich AL, Fenton WA, Williams KR, Kalousek F, Kraus JP, Doolittle RF, et al. Structure and expression of a complementary DNA for the nuclear coded precursor of human mitochondrial ornithine transcarbamylase. Science 1984 Jun 8;224(4653):1068-74.
3. Wilcox WR, Cederbaum SD. Amino acid metabolism. In: Rimom DL, Conner JM, Pyeritz RE, Korf BR, editors. Principle and practice of medical genetics. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 2002. p.2429-35.
4. Rezani I. Urea cycle and hyperammonemia. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. Nelson textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia: WB Saunders Co.; 2007. p.555-612.
5. Summar M, Tuchman M. Proceedings of a consensus conference for the management of patients with urea cycle disorders. J Pediatr 2001 Jan 138(Suppl 1):S6-10.
6. Nagata N, Matsuda I, Oyanagi K. Estimated frequency of urea cycle enzymopathies in

- Japan. Am J Med Genet. 1991 May 1;39(2): 228-9.
7. Hata A, Tsuzuki T, Shimada K, Takiguchi M, Mori M, Matsuda I. Structure of the human ornithine transcarbamylase gene. J Biochem 1988 Feb;103(2):302-8.
 8. Hata A, Tsuzuki T, Shimada K, Takiguchi M, Mori M, Matsuda I. Structural organization of the human ornithine transcarbamylase gene. J Inherit Metab Dis 1988;11(3):337-40.
 9. Lindgren V, de Martinville B, Horwich AL, Rosenberg LE, Francke U. Human ornithine transcarbamylase locus mapped to band Xp21.1 near the Duchenne muscular dystrophy locus. Science 1984 Nov 9;226(4675):698-700.
 10. 이윤희, 오세욱, 이종국, 김상우. Ornithine transcarbamylase deficiency 1례. 대한소아신경학회지. 1996;3:194-9.
 11. Yoshino M. Late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in male patients: spectrum of clinical presentations, molecular pathology and molecular epidemiology. 대한 유전성 대사 질환 학회지 2002 2:72-6.
 12. Uchino T, Endo F, Matsuda I. Neurodevelopmental outcome of long-term therapy of urea cycle disorders in Japan. J Inherit Metab Dis 1998 21(Suppl 1):151-9.
 13. Urea Cycle Disorders Conference group. Consensus statement from a conference for the management of patients with urea cycle disorders. J Pediatr 2001 Jan;138(Suppl 1): S1-5.
 14. Legras A, Labarthe F, Maillot F, Garrigue MA, Kouatchet A, Ogier de Baulny H. Late diagnosis of ornithine transcarbamylase defect in three related female patients: polymorphic presentations. Crit Care Med 2002 Jan;30(1): 241-4.
 15. 유한옥. 유전성 ornithine transcarbamylase(OTC) 결핍 한국인 가계의 분자 유전학적 결함과 표현형과의 상관관계에 관한 연구. 소아과 1999;42: 900-10.