

## *SRY* 유전자를 가진 46,XX 남성 1례

함춘여성클리닉 불임유전연구소

민정용 · 이동숙 · 조수경 · 박소현 · 이수민 · 백민경 · 김기철 · 황도영

### A Case of a 46,XX Male with *SRY* Gene

Jeongyong Min, Dong Suk Lee, Soo Kyung Cho, Sohyun Park,  
Soomin Lee, Minkyung Baek, Kichul Kim, Doyeong Hwang

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

46,XX male is a rare sex constitution characterized by the development of bilateral testis in persons who lack a Y chromosome. Manifestations of 46,XX males are usually hypogonadism, gynecomastia, azoospermia, and hyalinizations of seminiferous tubules. The incidence of XX male reversal is approximately 1 in 20,000 male neonates. The *SRY* gene is located at the short arm of the Y chromosome(Yp11.31) and codes for testis determining factor in humans. Here, the patient, who presented with a normal male phenotype, was referred for azoospermia. Conventional cytogenetic analysis showed a 46,XX karyotype. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction(QF-PCR) and Multiplex PCR studies identified *SRY* gene. And, Fluorescence *In Situ* Hybridization(FISH) confirmed the *SRY* gene on the distal short arm of chromosome X. We identified the *SRY* gene on the distal short arm of chromosome X by molecular cytogenetic and molecular analyses. Therefore, molecular-cytogenetics and molecular studies were proved to be clinically useful adjunctive tool to conventional prenatal cytogenetic analysis.

**Key Words:** 46,XX male, *SRY* gene, QF-PCR, FISH, Sex reversal

### 서론

46,XX 남성은 성염색체에 대하여 2개의 X 염색체를 가지고, Y 염색체가 없는 사람에서 남성의 표현형을 나타내는 경우를 말한다. 대부분은 정상적인 신체발달 및 지능을 가진다. Y 염색체는 성적인 발달과 정자 형성의 기능을 하는 유전자를 가지고 있으며, 특히 *SRY* 유전자는 Y 염색체(Yp 11.31)의

단완에 위치하며 인간의 성을 결정하는 요소이다<sup>1, 2)</sup>.

46,XX 남성의 빈도는 2000명중의 1명이며<sup>3)</sup>, 그 원인은 대부분 46,XX 남성이 X 염색체 단완 부위에 Y 염색체의 일부가 존재하는 것이다<sup>4)</sup>. 이는 부계의 생식세포 분열시 성염색체 단완의 상동성 영역(homologous regions) 사이에 불균형 상호교환(unequal interchange)이 일어나기 때문이다. 46,XX 남성은 hypogonadism, 여성형 유방(gynecomastia), 무정자증(azoospermia)의 증상을 보인다<sup>5, 6)</sup>.

본 증례에서는 표현형과 비교하여 성에 불일치 소견이 보이는 환자의 염색체 분석을 위해 분자유전학적 방법인 quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR), fluorescence *In Situ* Hybridization (FISH)과 Multiplex PCR 방법 등을 이용하여 X 염색체의 단완 말단 부위에서 *SRY* 유전자가 존재하고 있음을 확인하였다. 염색체는 여

접 수: 2008년 10월 31일

수정본접수: 2008년 12월 16일

게재승인일: 2008년 12월 20일

게재일: 2008년 12월 31일

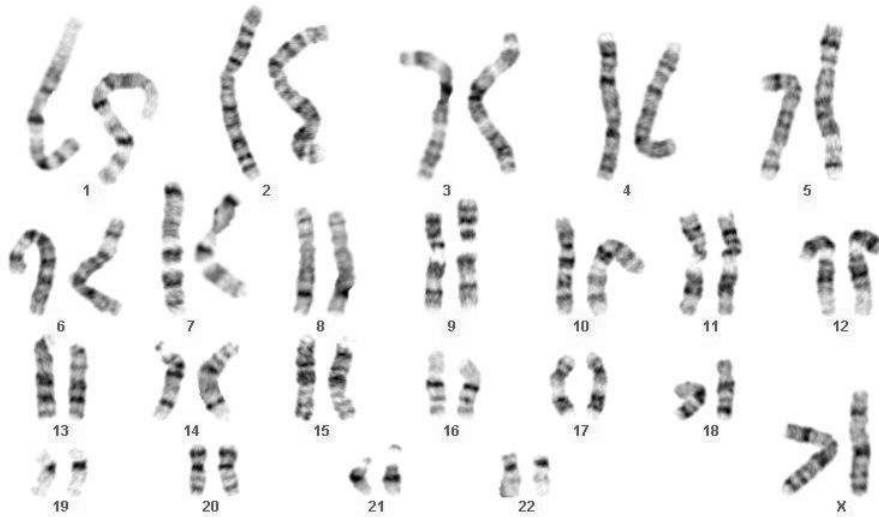
책임저자: 황도영

서울 서초구 서초1동 1621-7

함춘여성클리닉 불임유전연구소

Tel: 02)2182-3400, Fax: 02)522-2388

E-mail: doyhwang@hamchoon.com



**Fig. 1.** Result of G-banding cytogenetic analysis. The result of cytogenetic analysis of the patient was 46,XX.

성의 핵형을 가지되 *SRY* 유전자가 존재하여 남성의 표현형을 보이면서 무정자증이 된 증례를 보고하는 바이다.

### 증례

29세의 성인남성으로 무정자증을 주소로 내원하였으며, 말초혈액을 이용한 염색체 분석이 의뢰되었다. 일반적인 세포유전학분석을 위해 21개의 중기세포에서 trypsin-Giemsa's stain method (GTG) 염색법을 이용하여 550 bands의 해상도로 분석하였다<sup>7,8</sup>. 염색체 분석결과는 46,XX 이었으며(Fig. 1), 이는 환자의 표현형과 비교하여 성에 불일치 소견을 보였다. 따라서 이에 대한 원인을 확인하고자 QF-PCR, FISH와 Multiplex PCR 분석 등과 같은 분자유전학적 방법을 시행하였다.

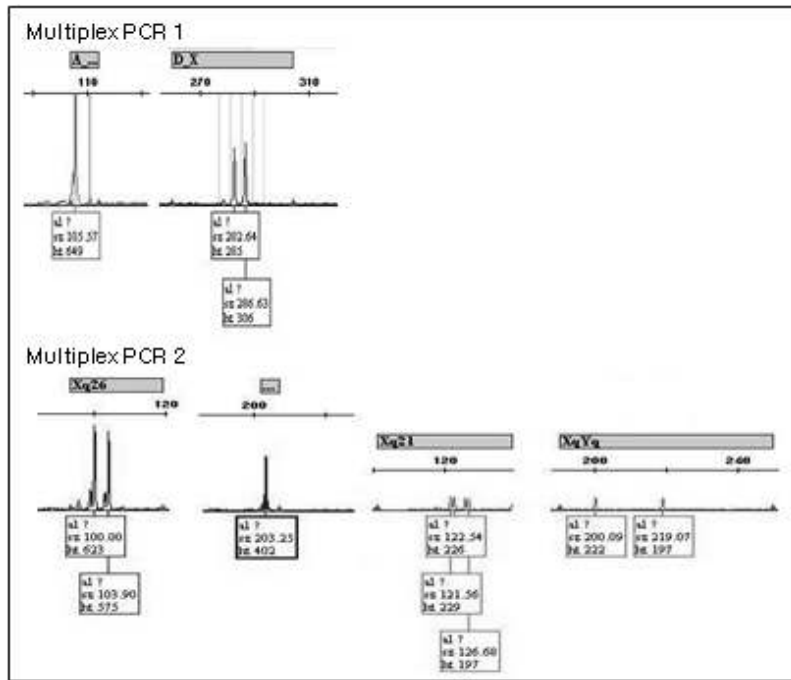
*SRY* 유전자 여부를 확인하기 위해 QF-PCR 분석을 실시하였다. QF-PCR 분석을 위해서는 말초혈액의 DNA는 instaGene matrix (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA, USA)를 이용하여 cell pellets과 배양세포로부터 추출하였고, PCR은 Chromoquant kit (Cybergene AB, Sweden)를 사용하였다. 염색체 X와 Y의 확인을 위해 6개의 short tandem repeats (STR) markers를 사용하였다(Table 1). Amelogenin (AMEL)에서는 1개의 peak를 보였으며, XHPRT, DXS6854, DXS6803, X22 marker에서 X 염색체가 2개로 판단되는 peak을 확인할 수 있었으며, *SRY* marker에서는 하나의 peak을 확인하였다(Fig. 2).

**Table 1.** Chromosomal Locations and Polymerase Chain Reaction (PCR) Products of Six Short Tandem Repeats (STR) Markers. Marker combinations for chromosome specific Multiplex QF-PCR assay are also shown.

Primer mix	Maker	Dye label	Amplicon size (bp)	Location
1	Amelogenin (AMEL)	HEX	X: 103-108 Y: 109-114	Xp22.31-Xp22.1 Yp11.2
	XHPRT	6-FAM	260-304	Xq26.1
	DXS6854	6-FAM	93-119	Xq26.1
2	DXS6803	HEX	101-219	Xq21.31
	<i>SRY</i>	6-FAM	202-207	Yp11.31
	X22	HEX	190-250	Xq28Yq

*SRY* 유전자의 위치를 확인하기 위해 FISH 분석을 시행하였다. 간기세포와 중기세포에서 시행되었으며<sup>7</sup>, 검사를 위한 probe는 LSI *SRY* (spectrum orange)/CEP X (spectrum green) dual probe (Vysis, IL, USA)를 사용하여 orange의 signal을 X 염색체의 단완 말단 부위에서 1개, spectrum green의 signal을 2개 확인하였다(Fig. 3).

또한, 상용화되어 있는 Y chromosome deletion detection kit (Y Chromosome Deletion Detection System, Version 2.0, Promega, USA)를 이용하여 Y 염색체의 결실 정도를 확인하고자 하였다. 말초 혈액의 DNA는 Puregene DNA isolation kit (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하였으며, Y chromosome deletion detection kit에서 제공하는 메뉴얼에 따라 multiplex matrix mix A, B, C, D, E의 5가지를 실시하였다. 이때 사용된 sequence-tagged sites (STS)



**Fig. 2.** Electrophoretogram of a QF-PCR product from Multiplex PCR 1 and 2. The x-axis displays the computed length of the PCR products in base pairs as determined automatically using an internal lane standard; the y-axis displays fluorescent intensity (in arbitrary units). Multiplex PCR 1: Amplification of marker AMXY and XHPRT resulted in a single peak and two different-sized peaks at a ratio of 1: 1, corresponding to the two X chromosomes in a female sample. Multiplex PCR 2: The DNA sample was heterozygous for DXS685, DXS683, and X22. However, the *SRY* marker revealed an informative PCR result.



**Fig. 3.** Interphase and Metaphase FISH with LSI *SRY* (orange)/CEP X (green) Probes. An orange signal corresponding to the *SRY* gene was visible at the end of chromosome X next to two green signals corresponding to the centromeric region of both chromosomes X. Red big arrow: LSI *SRY*; White small arrow: CEP X

markers는 20개이며(Fig. 4), 실험 결과 *SRY* STS marker에 서만 band를 확인할 수 있었다(Fig. 5). 즉 X 염색체의 단완 말단 부위에서 *SRY* 유전자 부위가 존재하고 있음을 재확인할 수 있었다.

### 고 찰

46,XX 남성은 여성의 핵형을 가지며, 남성의 표현형을 나타내는 경우를 말한다. 대부분의 46,XX 남성은 정상적인 외부 생식기를 가지므로 성인이 되어서야 불임증, 왜소고환, 여

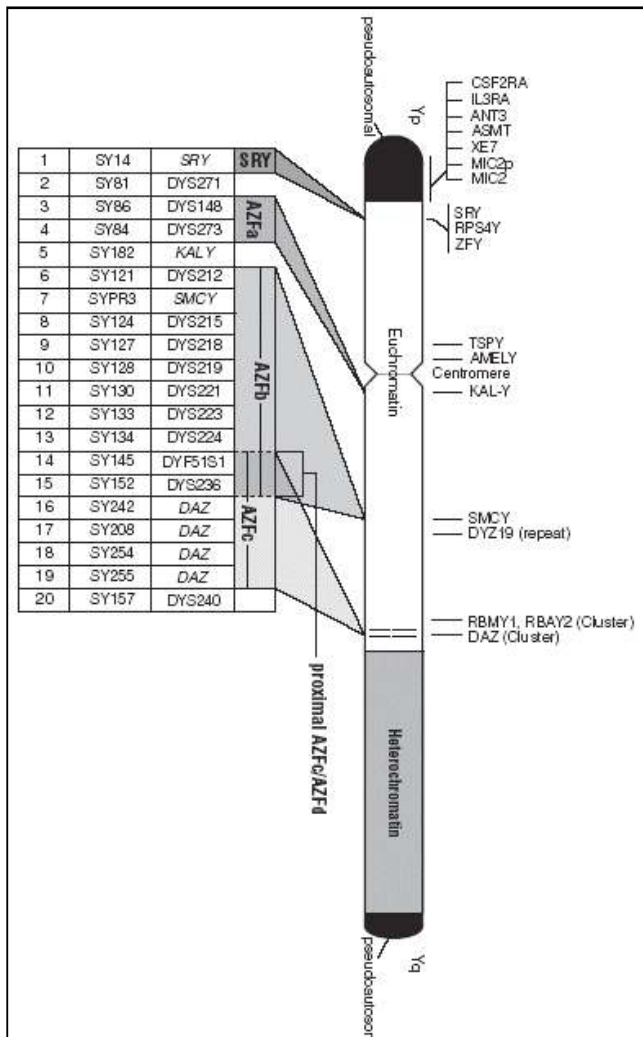


Fig. 4. Y Chromosomal locations of twenty sequence-tagged sites (STS) markers (<http://www.promega.com/tbs/tm248/tm248.pdf>).

성형 유방 등을 주소로 병원을 찾게 되어 진단된다.

상기 환자는 무정자증으로 내원하였으며, 세포유전학적 결과 46,XX 로 정상 여성의 핵형분석을 보였다. 이는 환자의 표현형에서 성의 불일치로 환자의 동의를 얻어 재검을 시행하였다. 재검에 의한 핵형분석의 결과도 46,XX 였으며(Fig. 1), 성역전(sex reversal)의 원인을 알아보기 위해 QF-PCR, FISH와 Multiplex PCR 분석 등의 분자유전학적 방법을 적용하였다. 검체에 따라서는, 일반적인 염색체 분석법만으로는 정확한 정보를 제공하기 어려우므로 QF-PCR, FISH, Multiplex PCR 분석 등의 분자유전학적 방법이 보조적인 수단으로 반드시 필요하며 매우 유용하다.

핵형분석결과를 재확인하기 위한 재검 시 빠른 결과를 위해 QF-PCR을 이용하여 환자의 성을 확인하고자 하였다. 본 검사에서 6개의 STR marker를 사용하였으며(Table 1),

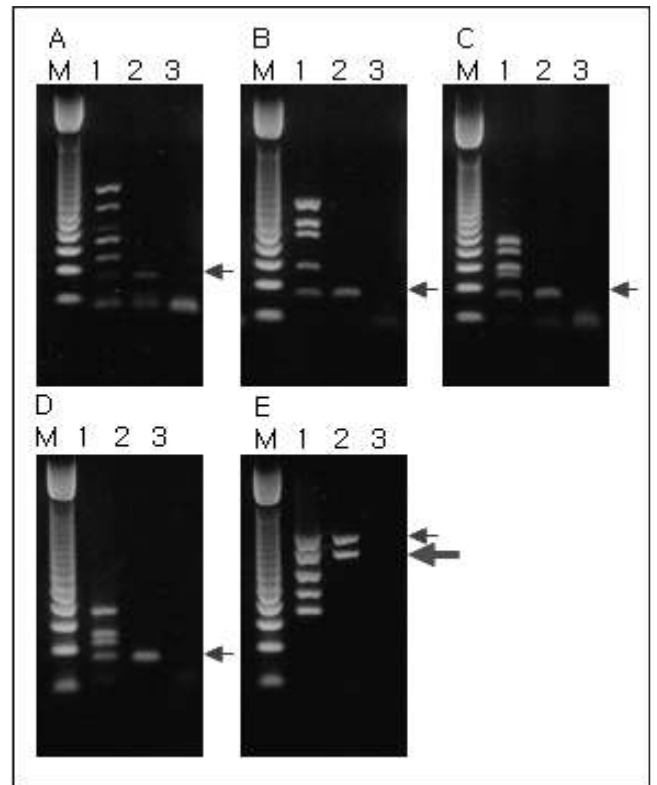


Fig. 5. Y chromosome deletion analysis. The amplification products from the Multiplex A Master Mix, Multiplex B Master Mix, Multiplex C Master Mix, Multiplex D Master Mix, and Multiplex E Master Mix are shown. Lane 1, male genomic DNA control; Lane 2, sample male DNA; Lane 3, DW. Bands generated with a male genomic DNA control were compared with those from a sample containing a Y chromosome deletion. Multiplex E only shows *SMCY* band. The marker (M) lanes contain a 50bp DNA step ladder. Big arrow: *SRY* locus band, Small arrow: *SMCY* control band

AMEL marker의 경우 염색체 X에 해당하는 하나의 peak을 나타냈으며, XHPRT, DXS6854, DXS6803, X22의 4개의 markers 에서는 서로 다른 size의 heterozygous한 1:1의 2개 peaks가 관찰되어 X 염색체가 두 개로 확인되었으며, *SRY* marker에서는 하나의 peak가 확인되어 XX 남성의 원인을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

QF-PCR 분석과 핵형분석 결과를 토대로 *SRY* 유전자의 위치를 확인하기 위해서 LSI *SRY*/CEP X dual probe를 이용하여 FISH를 시행하였다. LSI *SRY*에 해당하는 spectrum orange signal을 X 염색체의 단완 말단 부위에서 1개 관찰하였고, CEP X에 해당하는 spectrum green의 signal을 2개 확인하였다(Fig. 3). 이는 X 염색체에 단완 말단 부위에 *SRY* 유전자를 포함하는 경우로, 비교적 46,XX 남성에서 흔하게 관찰되는 원인 중 하나이다.

또한, 상용화되어 있는 Y chromosome deletion detection

system을 이용하여 Y 염색체의 결실 부분을 찾고자 하였다. 20개의 STS markers를 사용하였고, SRY STS marker에서만 band를 확인할 수 있었다(Fig. 4, 5).

따라서, 상기 환자는 X 염색체의 단완 말단부위에 SRY 유전자가 존재하고 있음을 재확인하였고, 이는 여성의 성염색체 XX를 가지되 SRY 유전자가 존재하여 남성 표현형을 보이면서 무정자증의 임상 증상을 나타내는 경우와 일치하였다.

결론적으로, 일반적인 세포유전학 방법을 기초로 하고 QF-PCR, FISH와 Multiplex PCR 분석 등과 같은 분자유전학적 방법을 적절하게 병행하는 것이 육안으로 관찰되는 핵형 분석 만으로 제공할 수 없는 많은 정보를 빠르고 정확하게 제공하여 임상진단 시, 정확한 진단의 결정적인 역할을 하리라 사료된다.

## 국문초록

46,XX 남성은 여성의 핵형을 가지나, 남성의 표현형을 나타내는 경우를 말한다. SRY 유전자는 Y 염색체(Yp 11.31)의 단완에 위치하며 인간에서 성을 결정하는 중요한 요인이다.

본 증례는 무정자증의 임상증상이 보이는 46,XX 남성의 정확한 원인분석을 위해 말초혈액분석에서 세포유전학적인 방법과 분자유전학적인 방법을 함께 병행한 보고이다. 남성 표현형과 비교하여 성에 불일치 소견이 보여, 그 원인을 찾기 위해 QF-PCR, FISH와 Multiplex PCR 분석 등의 분자유전학적 방법을 적용하였다.

그 결과, 여성의 성 염색체 XX를 가지되 SRY 유전자가 존재하여 남성 표현형을 보이면서 무정자증이 된 경우이다.

따라서, 일반적인 세포유전학 방법을 기초로 QF-PCR, FISH와 Multiplex PCR 분석 등과 같은 분자유전학적 방법을

병행하면 환자의 정보를 빠르고 정확하게 제공하는데 효과적이고 유용하다.

## 참고문헌

- 1) Ferlin A, Moro E, Rossi A, Dallapiccola B, Foresta C. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J Med Genet* 2003;40:18-24.
- 2) Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001;22:226-39.
- 3) De la Chapelle A. The etiology of maleness in XX men. *Hum Genet* 1981;58:105-16.
- 4) Queralt R, Madrigal I, Vallecillos MA, Morales C, Ballescà JL, Oliva R, et al. Atypical XX male with the SRY gene located at the long arm of chromosome 1 and a lqter microdeletion. *Am J Med Genet A* 2008;146A:1335-40.
- 5) Ferguson-Smith MA. X-Y chromosomal interchange in the aetiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome. *Lancet* 1966;2:475-6.
- 6) Yang XJ, Shinka T, Nozawa S, Yan HT, Yoshiike M, Umeno M, et al. Survey of the two polymorphisms in DAZL, an autosomal candidate for the azoospermic factor, in Japanese infertile men and implications for male infertility. *Mol Hum Reprod* 2005;11:513-5.
- 7) Hwang DY, Lee DS, Choe J, Choi HS, Min JY, Lee SM. Rapid detection of aneuploidy using FISH in uncultured amniocytes for prenatal diagnosis: 8-year experience. *J Genet Med* 2008;4:190-5.
- 8) Hwang DY, Lee SM, Lee DS, Jeong HN, Kim KC. 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. *J Genet Med* 2008;5:65-8.