

폐색전증 환자에서 발견된 Factor VII 유전자의 프로모터 -401G/A 다형성 1예

계명대학교 의과대학 ¹내과학교실, ²면역학교실
민보람¹, 김 신², 박지혜¹, 채진녕¹, 최원일¹

A Case of Pulmonary Embolism in a Patient with a Factor VII Gene Promoter -401G/A Polymorphism

Bo Ram Min, M.D.¹, Shin Kim, M.D.², Ji Hae Park, M.D.¹, Jin Nyeong Chae, M.D.¹, Won Il Choi, M.D.¹

Departments of ¹Internal Medicine and ²Immunology, Dongsan Medical Center, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

A factor VII gene -401 G/A polymorphism was identified in a patient with a pulmonary embolism. The patient was a 71-year-old woman who presented with acute-onset dyspnea. A chest CT scan revealed a pulmonary embolism. Despite the administration of low-dose warfarin as anticoagulation therapy, there was an excessively prolonged prothrombin time (PT). The blood tests revealed lower factor VII activity than normal. Full factor VII gene sequencing revealed a G to A substitution at -401 in the promoter region. There were no other gene sequence anomalies. PCR-based analysis indicated lower factor VII gene expression in the patient than in a control subject. The data suggested the promoter polymorphism to be responsible for the lower transcription level. In conclusion, we encountered a case of Factor VII DNA polymorphism in a patient with a pulmonary embolism showing significantly reduced Factor VII activity. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:466-470)

Key Words: Factor VII, Pulmonary embolism, Genetic polymorphism

서 론

혈액응고 인자(blood coagulation factor) Factor VII은 50-kD의 단일 연쇄 비타민 K 의존성 단백 분해 효소(single chain vitamin K dependent protease)로서 혈액 응고의 외인성 응고 과정(extrinsic pathway)에 중요한 역할을 한다¹.

Factor VII 유전자는 염색체 13번(13q34)에 위치하며, 12.8 kb의 길이에 9개의 엑손(1a, 1b, 2-7)을 포함한다². Factor VII의 혈중치에 영향을 주는 유전자는 염색체 13번의 장완에 존재하며 염색체 8번의 유전자도 혈중 Factor VII의 조절에 일부 관여한다³. 최근 Factor VII 유전자와 Factor VII 항원, Factor VII 응고 활성도의 혈장 농도 사이의 다형성(polymorphism)에 관한 연구가 활발하며,

Factor VII 유전자의 다형성은 Factor VII의 기능과 발현 정도에 영향을 끼치며, Factor VII 혈장 농도에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다⁴.

Factor VII 응고 활성도의 혈장 농도는 관상동맥 질환과 연관성이 있으며, Factor VII 응고 활성도의 혈장 농도가 높은 환자에서 관상동맥 질환 위험도가 증가한다는 보고가 있다⁵. 이는 Factor VII의 증가가 응고 과정을 보다 활성화시켜 혈전에 의한 혈관질환의 위험을 증가시키는 기전을 제공할 수도 있음을 짐작케 하고⁶, Factor VII의 증가는 혈전증의 위험 인자로 가능하다는 보고도 있다⁷. 이와는 반대로 Factor VII 결핍 환자에서 혈전증의 발생 가능성은 낮을 것으로 추측 할 수 있다.

혈전증의 치료로 사용하는 비타민 K 길항제인 warfarin은 응고인자 VII, II, IX, 그리고 X의 작용을 억제하므로 혈전의 생성을 방지하게 된다⁸. Warfarin을 사용하기 시작한 후 첫 몇 일간 프로트롬빈시간의 연장은 주로 Factor VII의 감소에 의존한다⁹. 그러므로, 혈전을 예방하기 위해 warfarin을 사용하는 경우에 프로트롬빈시간이 지나치게 연장되면, 이의 원인으로 Factor VII 농도 혹은 활성도의 변화를 생각할 수 있다.

Address for correspondence: Won Il Choi, M.D.

Department of Internal Medicine, Dongsan Medical Center, Keimyung University School of Medicine, 194, Dong san-dong, Jung-gu, Daegu 700-712, Korea
Phone: 82-53-250-7572, Fax: 82-53-250-7434
E-mail: wicho@dsmc.or.kr

Received: May. 29, 2008

Accepted: Jun. 13, 2008

Factor VII 유전자 다형성의 빈도는 인종별, 개인별, 질 환별로 다양한데, 국내에서는 Factor VII 유전자 다형성에 대한 보고가 없고, Factor VII 유전자 다형성과 Factor VII 결핍에 대한 연구 또한 미진한 상태이다.

저자들은 폐색전증이 발생한 환자에서 기저질환을 조사하던 중 Factor VII 활성도 감소가 동반됨을 발견하였고, 작은 warfarin 용량에도 PT 연장이 동반된 Factor VII 유전자 다형성 1예를 경험하였기에 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

환 자: 박○○, 여자 71세

주 소: 호흡곤란

현병력: 우측 대퇴부 골절로 수상하여 우측 고관절 반 치환 성형술 시행하였다. 고관절 치환술을 한 후 9일째 시행한 하지 도플러 초음파에서 우측 원위 표층 넙다리 정맥(Rt. distal superficial femoral vein)과 오금 정맥(popliteal vein)에서 혈전증이 발견되었다. 하지 정맥 혈전이 발견된 후, 급성 호흡곤란을 호소하여 시행한 흉부전산화단 층 촬영에서 양측 엽사이 폐동맥 및 구역 폐동맥(interlobar and segmental pulmonary artery)의 다중 관내 충만 결손이 있어 폐색전증(pulmonary embolism)으로 진단하고 항응고치료를 시작하였다.

과거력 및 가족력: 환자는 2개월 전 전신부종, 저알부민 혈증, 고콜레스테롤혈증, 단백뇨로 신증후군으로 진단 받

았다. 이후 신조직검사에서 미세변화형 신증후군으로 진단되어 스테로이드를 1 mg/kg 2개월간 사용한 병력 외에 특이 소견은 없었으며 가족력에서도 특이 사항은 없었다.

이학적 소견: 내원 당시 혈압은 110/70 mmHg, 맥박수 80회/분, 호흡수 32회/분, 체온 36.6°C였다. 폐와 심음은 정상 소견이었으며, 우측 하지의 부종이 있었다.

검사 소견: 내원 당시 말초혈액검사에서 백혈구 7,430/mm³, 혈색소 11.5 g/dl, 혈소판 32,400/mm³로 관찰되었다. 24시간 총단백뇨는 1.1 g/day이었다. 단순뇨검사에서 뇨비중 1.020, 뇨단백 30 mg/dl, 뇨당 음성, 고배율 시야에서 백혈구가 2~4개 관찰되었고, 적혈구(red blood cell) 2~4개가 보였다. 생화학 검사상 총 칼슘 8.6 mg/dl, 혈액노소질소 39 mg/dl, 크레아티닌 0.8 mg/dl, 총단백 5.3 g/dl, 알부민 3.3 g/dl, 총빌리루빈 0.6 mg/dl, ALP 96 U/L, AST 25 U/L, ALT 15 U/L, 총콜레스테롤 182 mg/dl이었다. 프로트롬빈시간은 11.0초(INR 1.0), 트롬보 플라스틴시간 22.8초, D-dimer 9.2 mg/L (<0.4 mg/L)였다. 동맥혈가스는 pH 7.494, PCO₂ 29.5 mmHg, PO₂ 67.4 mmHg, HCO₃⁻ 22.4 mmol/L, O₂ saturation 91.4%, A-a DO₂ 45.7 mmHg였다. Antithrombin III 31.1 mg/dl (22~39 mg/dl), Factor VII 활성도는 20% (70~130%)로 관찰되었다.

Factor VII 활성도는 녹십자 의료 재단에 의뢰하여 프랑스(France)에서 제작된 STAGO DEFICIENT VII kit를 사용하여 optical method 검사법으로 측정하였다.

방사선학적 소견: 흉부전산화단층촬영에서 양측 엽사이 폐동맥 및 구역 폐동맥(interlobar and segmental pulmonary artery)의 다중 관내 충만 결손이 보였다(Figure 1).

백혈구 DNA 검사 소견: 환자의 말초 혈액 백혈구로부터 RNA를 분리하였고, cDNA를 만들기 위해서 2 ug의 RNA와 5×buffer, Reverse-Transcriptase, RNase inhibitor, 50pmole oligo-dT, 10mM dNTPs를 혼합하여 42°C에서 60분, 99°C에서 5분간 역전사 반응(reverse transcription reaction)을 했다. 이 cDNA를 주형 DNA로 이용하여 GAPDH, 9개의 시동체(primer) set로 PCR을 시행하였다(Table 1). PCR 생성물을 아가로스 젤에서 전기영동 한 후에 EtBr로 염색하여 밴드의 위치를 확인하였고, 정제할 DNA를 포함한 젤 부분을 깨끗한 칼날을 이용하여 잘라낸 후 Gel extraction kit를 이용하여 DNA solution을 얻었다. 이렇게 정제된 DNA를 직접 염기서열(direct sequencing)방법으로 전향적(forward), 후향적(backward)으로 분석한 결과 europium.csc.mrc.ac.uk 웹사이트에



Figure 1. On the chest CT scan, multiple intraluminal filling defects were noted in both interlobar and segmental pulmonary arteries.

Table 1. Specific primer sequences and the temperature profile of the polymerase chain reaction

Exon	Sequence 5' to 3'	Temperature profile of the PCR (time); total cycles size of PCR product (base pairs)
Promoter	CCTGGTCTGGAGGCTCTC GGGGAGGACACAGGCGT	94°C (1 min) - 65°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 352 base pairs
1a	CTTGGAGGCAGAGAACTTTC CCTGGATGCTGGTTTCTAGA	94°C (1 min) - 56°C (1 min) - 72°C (1 min); 28 cycles 311 base pairs
1b	GGGTGGGCTGTGAGGGAC GAGGGGAAGGAGGTGATGTT	94°C (1 min) - 66°C (1 min) - 72°C (1 min); 28 cycles 220 base pairs
2	GAGGCACTGGGCGGGGCACG CCGCCCCCGTGCAGTGCCG	94°C (1 min) - 72°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 261 base pairs
3/4	TGTGTCCAGTGCTTACCGT CTCCACCAGCTCCCCA	94°C (1 min) - 67.5°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 336 base pairs
5	CTGACCCCCAGAAGCCCCTC CTAGTGGGACAGGGACTGGT	94°C (1 min) - 67.5°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 240 base pairs
6	GGCACGTTTCATCCCTCA ACCTGCCCATTTTCCC	94°C (1 min) - 62.2°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 257 base pairs
7	ATGACAGCAATCTGACTTCC GTCTGTGGAAGTGACAGCAC	94°C (1 min) - 62.5°C (1 min) - 72°C (1 min); 30 cycles 439 base pairs
8	GGCAGGTGGTGGAAAGGGCC CCACAGGCCAGGGCTGCTGG	94°C (1 min) - 70°C (1 min) - 72°C (1 min); 28 cycles 660 base pairs

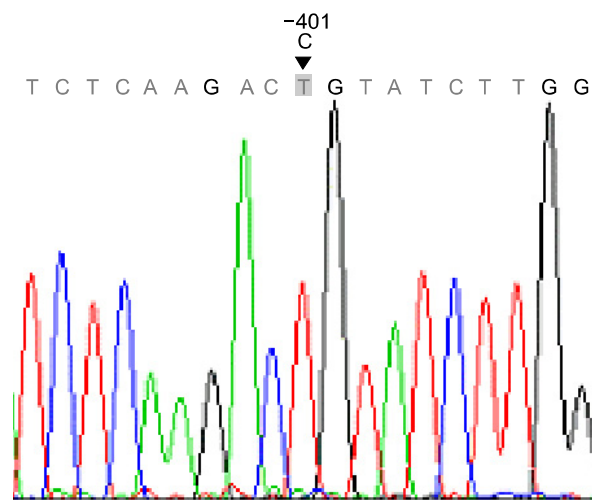


Figure 2. Purified factor VII cDNA was analyzed by direct forward and backward sequencing, and a substitution from G to A on promoter -401 was detected by comparing the sequence with that of the human factor VII gene full sequence. The alignment of genomic cDNA reverse sequence of Factor VII promoter in Factor VII deficiency patient.

발표된 Human Factor VII gene full sequencing 자료와 비교하여 프로모터(promoter) 제-401번의 G→A 단염기 치환이 발견되었다(Figure 2).

또한 정상인과 환자의 Factor VII 유전자 mRNA를 역전사 증합효소 연쇄반응시행 후 1.5% 아가로스 젤에 전기영동을 시행하였으며 환자에게서 프로모터를 제외한 모든 exon 밴드가 정상인보다 짧게 보여 전사 수준이 낮은 것으로 보여진다(Figure 3).

치료 및 경과: 이상 소견으로 환자를 Factor VII gene -401 G/A polymorphism을 동반한 양측 폐색전증으로 진단하였고, warfarin 2 mg을 매일 투여하여 INR을 2.0 내외로 조절할 수 있었다. 항응고 치료 후 추적 흉부전산화 단층촬영상 폐색전증 소견은 보이지 않았으며 외래 추적 관찰 중이다.

고 찰

본 증례에서는 폐색전증의 기저질환을 찾기 위해 위험 인자가 될 수 있는 Factor VII 등의 응고인자를 조사하던 중, Factor VII 활성화 감소를 관찰하였다. Factor VII 활성화 감소의 원인을 찾고자 유전자 염기 서열을 분석하였고, 프로모터 -401의 단염기 치환(G→A)을 발견하여 보고하는 바이며 국내에도 Factor VII 다형성이 존재한다는 것을 보여준다. 또한 정상인과 환자의 Factor VII mRNA를 역전사 증합효소 연쇄반응시행 후 젤 전기영동을 시행하여 환자에게서 프로모터를 제외한 cDNA 구역의 모든 밴드

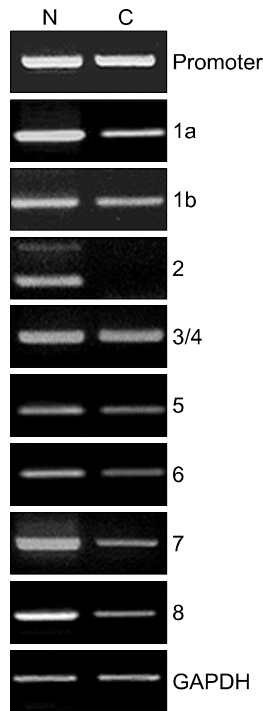


Figure 3. Factor VII gene expression was assessed in samples from both the patient and a control subject using an RT-PCR-based assay and 2% agarose gel electrophoresis. The normal amplification is shown at the line N. The patient amplification is shown at the line C. The transcription level in the patient seems to be lower because the genetic bands of the patient were thinner than those of the normal one.

가 정상인보다 얇게 보여 환자의 전사 수준이 낮아서 Factor VII 활성도가 감소된 것으로 사료된다. 이는 Factor VII gene full sequencing 자료와 비교하여 프로모터 제 -401번의 G→A 단염기 치환 외에는 차이가 없는 상태로 프로모터의 다형성으로 인한 전사 장애에 의한 결과로 보여진다. Factor VII 전사 인자 서열에서 프로모터 돌연변이로 인해 Factor VII 결핍이 되었다는 보고 또한 이를 뒷받침 한다¹⁰.

Factor VII 유전자의 프로모터 제 -401번의 G→T 단염기 치환은 1993년에 Marchetti 등에 의해 보고된 바 있으나¹¹, G→A 단염기 치환은 아직 보고된 바 없다. Factor VII 유전자의 프로모터 제 -401번의 G→T 단염기 치환이 발생하면, 본 증례와 유사하게 전사장애를 일으켜서 Factor VII의 혈중 농도를 감소시키는 것으로 알려져 있다¹².

Factor VII 결핍은 드문 유전성 출혈 질환으로 50여 년 전에 발견되었다. Factor VII 결핍은 드문 출혈성 질환으

로 보통 상염색체 열성 유전이며 1:500,000의 유병률을 보이며 근친혼(consanguineous marriage)이 많은 곳에 유병률이 높다¹³. Factor VII 결핍은 심각한 출혈에서부터 경미한 정도로 다양한 출혈성 경향을 나타내는 질환으로, Factor VII 유전자는 인종별, 개인별, 질환별로 다형성의 빈도가 다양하다¹³. 국내에서는 Factor VII 유전자 다형성에 대한 보고가 없고, Factor VII 유전자 다형성과 Factor VII 결핍에 대한 연구 또한 미진한 상태이다.

Factor VII의 증가가 응고 과정을 보다 활성화시켜 혈전에 의한 혈관질환의 위험을 증가시킴으로써 Factor VII의 증가는 색전증의 위험 인자로 가능하다⁷. 그러나 본 증례는 오히려 Factor VII 결핍 환자에서 폐색전증을 동반한 드문 경우로서 Factor VII 활성도 감소가 폐색전증의 위험도를 줄이지 못했음을 볼 수 있다. 본 증례 환자는 신증후군, 대퇴골절 수술 경력, 4주 이상의 부동 침상 안정 등이 폐색전증의 위험인자로 작용하여, Factor VII 혈중 농도 감소에 반하여 폐색전증의 발생에 기여하였을 것으로 보고있다.

Warfarin은 치료 범위가 좁은 약물로 가장 빈번한 부작용은 출혈이다. 따라서 INR (international normalized ratio)을 측정하여 항 응고상태를 평가하게 되는데, INR이 5 이상인 경우에 출혈의 위험이 현저하게 증가하는 것으로 보고되어 있다⁹. 본 증례에서는 warfarin 5 mg을 2일간 투여 후, INR이 9 이상 상승하여 2일간 warfarin 복용을 중단한 후 4일째 검사에서도 INR이 5 이상 측정되었고, 입원 당시 조사한 혈액 응고 인자 검사에서 Factor VII 활성도 감소가 관찰되었다.

Warfarin은 Vitamin K 의존성 혈액 응고인자 Factor II, VII, IX, X의 간 내 합성을 방해하여 항 응고효과를 나타내고, 1 mg의 적은 용량의 warfarin 사용 후 Factor VII 활성도의 의미 있는 감소를 보인 보고가 있으며 warfarin 사용 후 Factor VII 항원 및 활성도의 감소를 보인 보고도 있다⁸.

Cytochrome P450 polymorphism인 CYP2C9*2 homozygote의 경우 INR을 2.5 정도로 유지하기 위해 warfarin 용량을 하루 3 mg을 사용할 것을 권장하고 있으며¹⁴, Vitamine K epoxide reductase complex 1 (VKORC1)의 저용량 haplotype인 경우 warfarin의 하루 유지 용량이 2.7 mg 정도이므로¹⁵, warfarin 투여 후 과도하게 프로트롬빈시간이 증가할 경우 이러한 점을 고려하여 warfarin 용량을 결정하는 것이 필요할 것으로 생각된다. Factor VII 결핍 환자에게서 warfarin 사용시, 주의를 기울일 필요가 있을 것으로 생각한다.

요 약

저자들은 저자들은 폐색전증이 발생한 환자에서 기저질환을 조사하던 중 Factor VII 활성도 저하를 관찰하였고, 이 환자에게서 Factor VII 유전자의 프로모터 -401의 단일기 치환(G→A)을 발견하여 보고하며, 국내에도 Factor VII 유전자 다형성이 존재함을 밝히며, Factor VII 활성도 감소와 폐색전증이 동반된 환자를 보고하는 바이다.

감사의 글

본 증례보고의 작성에 도움을 주신 계명대학교 의과대학 연구소 이영미 선생님께 깊은 감사의 뜻을 전합니다.

참 고 문 헌

1. Bauer KA. Activation of the factor VII-tissue factor pathway. *Thromb Haemost* 1997;78:108-11.
2. O'Hara PJ, Grant FJ, Haldeman BA, Gray CL, Insley MY, Hagen FS, et al. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor VII, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:5158-62.
3. Hong Y, Pedersen NL, Egberg N, de Faire U. Genetic effects for plasma factor VII levels independent of and in common with triglycerides. *Thromb Haemost* 1999;81:382-6.
4. Bernardi F, Marchetti G, Pinotti M, Arcieri P, Baroncini C, Papacchini M, et al. Factor VII gene polymorphisms contribute about one third of the factor VII level variation in plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:72-6.
5. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North WR, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533-7.
6. Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke* 1997;28:816-21.
7. Tsai AW, Cushman M, Rosamond WD, Heckbert SR, Tracy RP, Aleksic N, et al. Coagulation factors, inflammation markers, and venous thromboembolism: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology (LITE). *Am J Med* 2002;113:636-42.
8. Freedman MD. Oral anticoagulants: pharmacodynamics, clinical indications and adverse effects. *J Clin Pharmacol* 1992;32:196-209.
9. Palareti G, Legnani C. Warfarin withdrawal. Pharmacokinetic-pharmacodynamic considerations. *Clin Pharmacokinet* 1996;30:300-13.
10. Carew JA, Pollak ES, High KA, Bauer KA. Severe factor VII deficiency due to a mutation disrupting an Sp1 binding site in the factor VII promoter. *Blood* 1998;92:1639-45.
11. Marchetti G, Patracchini P, Papacchini M, Ferrati M, Bernardi F. A polymorphism in the 5' region of coagulation factor VII gene (F7) caused by an inserted decanucleotide. *Hum Genet* 1993;90:575-6.
12. van 't Hooft FM, Silveira A, Tornvall P, Iliadou A, Ehrenborg E, Eriksson P, et al. Two common functional polymorphisms in the promoter region of the coagulation factor VII gene determining plasma factor VII activity and mass concentration. *Blood* 1999;93:3432-41.
13. McVey JH, Boswell E, Mumford AD, Kembell-Cook G, Tuddenham EG. Factor VII deficiency and the FVII mutation database. *Hum Mutat* 2001;17:3-17.
14. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000;96:1816-9.
15. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005;352:2285-93.