

FISH에 의해 확진된 Mosaic Ring Chromosome 4의 환아 1 예

강동성심병원 진단검사의학과

윤 숙 경 · 임 민 혜 · 김 실 경 · 조 현 찬

A Case of Mosaic Ring Chromosome 4 Diagnosed by FISH Technique

Sook-Kyung Yun, Min-Hye Lim, Sil-Kyung Kim, and Hyoun-Chan Cho

Department of Clinical Laboratory medicine, Kangdong Sacred Heart Hospital, Hallym University Medical Center, Seoul 134-701, Korea

Ring chromosome occurs when both telomeres of a chromosome are lost and the remaining portion of the chromosome circularizes to re-establish chromosome stability. This abnormal structure shows mitotic instability unlike the normal chromosomes, causing problems during mitosis. Here, we report one case of "chromosome 4 ring syndrome" on a 6-month-old male patient with growth retardation. Ring chromosome, monosomy, dicentric chromosome were shown by conventional chromosome analysis using peripheral blood. Peripheral blood was used and incubated for 72 hours for chromosome analysis. 3 probes (LSI WHS SpectrumOrange/CEP 4 SpectrumGreen, 4p subtelomere probe, 4q subtelomere probe) were used to detect the origin and breakpoint of ring chromosome 4 by FISH (fluorescence in situ hybridization) technique

Key Words : Ring chromosome, Telomeres, Mitosis, Monosomy, Dicentric chromosome, Fluorescence in situ hybridization technique

I. 서 론

환염색체(ring chromosome)는 1966년 McIllee에 의해 처음보고되었는데 염색체의 장완(q-arm) 또는 단완(p-arm)의 말단이 일부 소실되어 양쪽 끝끼리 붙어서 고리형태를 형성하는 변형된 염색체를 말하는데(McIllee 등, 1966), 세포분열시 문제가 발생하고, 일반적인 염색체와는 달리 매우 불안정한 유사분열(mitotic instability)을 보

인다. 환의 형성 과정에서 염색체의 손실이 일어나는 경우 염색체의 양이나 범위에 따라 표현형의 차이가 많이 나게 된다(Gardner 등, 1996).

유전물질의 결손 정도에 따라 다양한 임상 양상을 보이며, 특징적인 임상증상으로는 미숙아, 태아 발육 지연, 지능장애, 소두증, 대뇌 기형, 안면부 기형, 심장 기형, 골격계 및 생식기 기형을 보인다(Blackett 등, 2005).

2007년 6월에 생후 6개월 된 남아가 발달지연을 주소로 내원하였다. 말초혈액을 이용한 염색체 배양검사를 실시한 결과에서 환염색체(ring chromosome)와 단일염색체(monosomy), 이동원체성 환염색체(ring isochromosome) 등의 "chromosome 4 ring syndrome"이라는 극히 드문 결

교신저자 : 윤숙경, (우)134-701, 서울특별시 강동구 길동 445번지 강동성심병원 진단검사의학과
TEL : 02-2224-2320
E-Mail : sky6807@hanmail.net

환을 경험하였기에 증례를 보고하는 바이다. 국내에서도 4번 환염색체와 WHS증후군의 유전질환을 보고한 사례도 있었다(양 등, 1995).

II. 대상 및 방법

1. 증례

6개월된 남아가 성장지연을 주소로 한강성심병원 소아과로 내원하여 말초혈액 염색체검사를 실시하였다.

2. 검사 방법

환아를 대상으로 실시한 검사는 일반혈액검사, 일반화학검사, 핵의학 영상검사, 중금속검사, 면역혈청검사, 내분비검사, 진단유전검사 등을 실시하였다. 그리고 세포유전학적 검사는 보내준 검체로 ethidium bromide를 첨가한 고정도 분염법 및 일반 세포배양법 두 가지로 검사하였는데 일반 세포배양법에서 훨씬 많은 분열세포가 나타났다.

염색체검사 과정은 헤파린 용기에 채혈한 말초혈액을 RPMI 1640 배지, 10% 우태아혈청, penicillin-streptomycin, L-glutamin, phytohemagglutinin(PHA)을 혼합한 플라스크에 첨가한 후 37°C, 5% CO₂에서 72 시간동안 배양하였다. T립프구 수확단계에서 염색체의 농축을 방지하여 유사분열 전기 또는 전중기의 긴 염색체를 얻고자 배양액에 ethidium bromide를 첨가하는 고정도기법을 시행하였고 colcemid를 첨가한 후 배양하여 0.075 M KCl 저장용액으로 처리하고 3:1 비율의 methanol 및 glacial acetic acid 혼합액으로 고정하였다.

세포부유액을 metaphase spreader를 이용하여 슬라이드를 만들고 65°C 건조기에서 건조시킨 후에 GTG(G-bands by trypsin using Giemsa) 분염법을 실시하였다. 염색체 명명은 International System for Human Cytogenetics Nomenclature(ISCN) 2005의 명명 규약에 준하였다. 또한 소실된 염색체 부위를 정확히 분석하기 위해서 FISH (fluorescence in situ hybridization)검사를 시행하였다.

염색체 검사 시와 동일한 방법에 의해 슬라이드를 준비한 후에 probe와 슬라이드에 부착된 염색체의 DNA를 변성시킨 후 형광보합 반응시켜 분석하여 소실된 부위를 동정하였다.

III. 결 과

1. 이학적 검사 결과

일반혈액검사, 일반화학검사, 면역혈청검사, 중금속검사 등에서 이상소견이 발견되지 않았으며, 환아는 3백분 위수에 해당하는 신장과 갑상선 저형성의 소견을 제외하고는 전반적으로 정상적인 발달소견을 보였다.



Fig. 1. Various structure of ring chromosome 4

2. 세포유전학적 검사 소견

환아의 핵형분석 결과 107 개의 분열세포를 분석하였는데 9개에서는 4번 염색체 하나가 소실된 monosomy 4를 보였고, 나머지는 모두 4번 염색체가 환(ring) 모양을 보이는 구조적이상이 발견되었다. 이들 중 2 개는 2 개의 4번 염색체가 환모양을 보이기도 하였다. 정상적인 핵형은 찾아 볼 수 없었으며, 모든 분열세포가 비정상적인 핵형을 보였다. 2005년 ISCN 명명법 표기로 핵형은 45,XY,-4[9]/46,XY,r(4)(p16q35)[96]/46,XY,dicr(4)::p16→q35::p16→q35[2]이었다(Fig. 2, Fig. 3).

이러한 “chromosome 4 ring syndrome”은 4번 염색체 단완과 장완 말단부위의 염색질 결실과 함께 서로 붙게 되어 생기는 극히 드문 질환으로(Fig. 1) 나타나는 이상소견은 소실된 유전물질 정도에 따라 다양하다고 하는데 출생 시 저체중, 성장지연, 정신지체 발육지연, 소두증, 대뇌 기형, 안면부 기형, 심장 기형, 골격계 및 생식기 기형 등이다(Kocks 등, 2002).

3. FISH 검사 소견

환염색체를 보인 4번 염색체의 기원을 확인하고 절단점을 찾기위해 4번염색체의 3 가지의 probe(LSI WHS SpectrumOrange/CEP 4 SpectrumGreen, 4p subtelomere

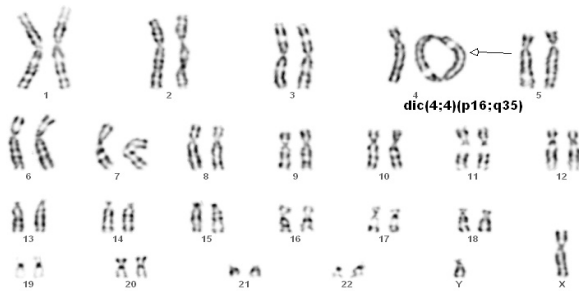
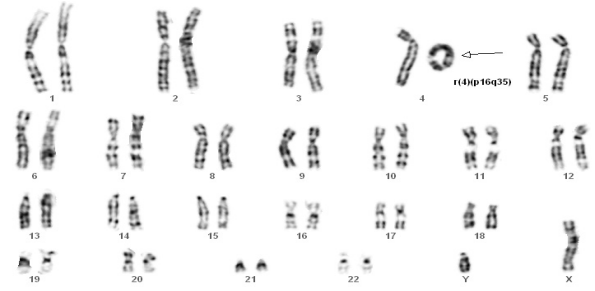


Fig. 2. 46,XY,dic r(4)(:16→q35::p16→q35)



46,XY,r(4)(p16q35)

Fig. 3. 46,XY,r(4)(p16q35)

probe, 4q subtelomere probe)를 이용하여 FISH를 시행하여 signal을 관찰하였다. FISH검사 상 4q subtelomere부분과 WHS region은 보존되었으나 4p subtelomere부위가 소실된 소견을 보였다. (Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6)

또한 가족력 등을 밝히기 위하여 부모의 혈액을 이용한 염색체 검사도 실시하였으나 특이한 염색체 이상은 관찰되지 않고 모두 정상 핵형(46,XY, 46,XX)을 보였다.

IV. 고 찰

1억 8600만 염기쌍으로 구성된 4번 염색체는 다양한 질병 관련 유전자, 즉 Huntington's disease gene, Wolf-Hirschhorn syndrome 유전자 등이 있어 관심과 주목을 받아 왔다.

1980년 밝혀진 Ring chromosome 4는(Young과 Zalneraitis, 1980)에 의하면 문헌상 15 예 정도로 환자의 삼분의 일은 4번 염색체 단완의 결실(p16-)을 동반하기 때문에 전형적인 4p- 표현형이고, 나머지는 임상소견이 다양하게 나타난다고 한다.

4번 환염색체와 관련된 결손부위와 연관지어 임상양상을 분류하는데 첫 번째 WHS 부위의 결실여부로 이 부분이 결손되었다면 Wolf-Hirschhorn syndromd(WHS)으로 분류되며 Wolf-Hirschhorn 증후군은 1965년 Wolf 등과 Hirschhorn 등에 의해 처음 기술된 염색체 질환으로(Wolf 등, 1965; Hirschhorn 등, 1965) 4번 염색체 단완부 말단에서 다양한 결실(deletion) 및 재배열(rearrangement)로 인

하여 여러 가지 전신적 기형을 일으키는 선천적 질환이다. 빈도는 출생아 30,000 명 내지 50,000 명 중 한 명이다. 대부분의 환자에서 그리스 투구 모양의 얼굴을 가졌다 하여 "Greek-Helmet face"라고 불리는 독특한 두개 안면 기형이 나타나는데 소두증, 전두부돌출, 양안격리증, 넓은 코 근간부, 소악증, 이개하위 등의 소견을 보인다. 대개 사산되거나 생후 1년 이내에 사망하는데 극히 드물게는 20 세 이상까지 생존한 예도 보고되었다(Anderson 등, 1997; Balci 등, 2006; Chen 등, 2007).

이와 같이 대부분의 W-H증후군은 염색체의 결실과 재배열로 인해 임상증상을 나타내며 아주 드문 일부 예에서는 환염색체가 발견되기도 한다. 결실된 크기는 4번 염색체 단완의 10% 내지 100%까지 다양하며 결실의 정도와 임상 양상과의 연관성에 대해서는 다양한 견해들이 있다. 본 환자에서는 FISH에 의해 WHS의 region이 보존되었기에 W-H증후군은 아니라는 확진을 할 수 있었다. 두 번째로는 환자의 4p subtelomere probe와 4q subtelomere probe를 이용한 FISH결과에서는 4q subtelomere는 보존되었지만 4p subtelomere부위는 소실되었음을 알 수 있었다.

최근 4번 염색체의 원위부는 유지되어 있으면서 근위부 결손(proximal interstitial deletion)만 관찰되는 증례들도 보고되고 있는데, 이들에서는 W-H증후군의 특징적인 얼굴소견이나 심한 성장지연 및 심장기형 등이 관찰되지 않을 뿐더러 지능장애도 심하지 않는 등 예후도 비교적 양호하여 W-H증후군과 구별하여 proximal 4p- syndrome

이라고 명명되었다.

이는 4p16.3을 포함하는 원위부의 결실이 임상양상을 나타내는데 주로 관여하며 근위부의 결실은 환자의 표현형에 큰 영향은 미치지 않는 것으로 생각된다 (Estabrooks 등, 1995; 이 등, 1999).

우리는 환자의 염색체 결과와 FISH결과에서 얻을 수 있었던 결론은 ring chromosome(4)을 보이는 환자에서 4p16.3의 어느 정도 위치까지 소실되었느냐가 환자 표현

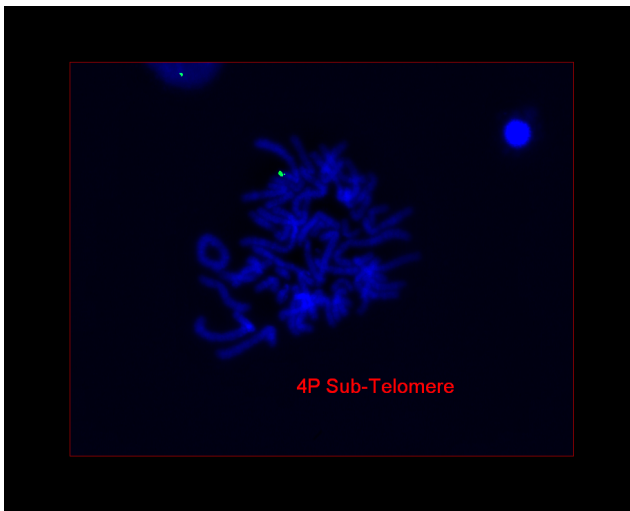


Fig. 4. FISH with subtelomeric 4p probe showing absence of 4p subtelomeric region on ring chromosome 4.

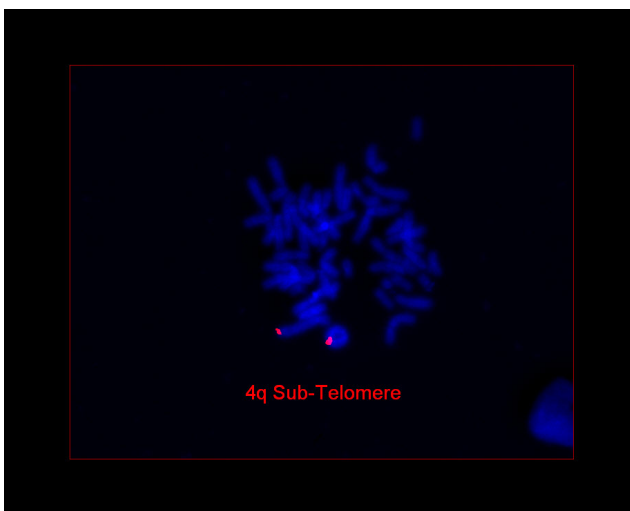


Fig. 5. FISH with subtelomeric 4q probe showing presence of 4q subtelomeric region on both normal chromosome 4 and ring chromosome 4.

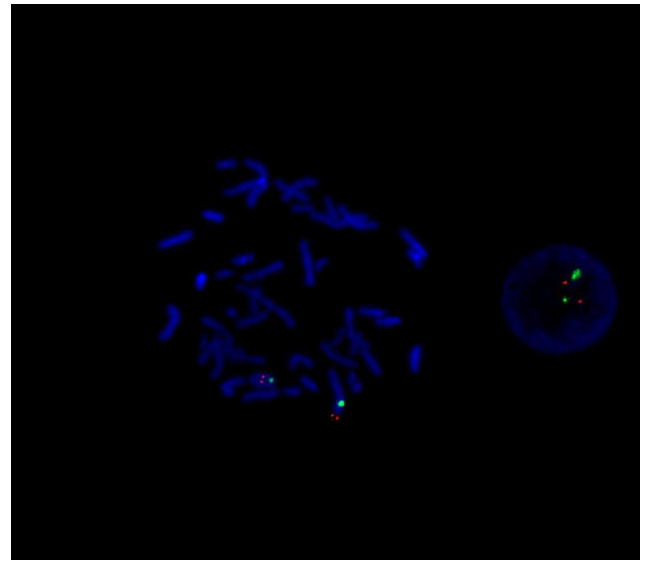


Fig. 6. FISH with WHS probes showing presence of WHS regions on both normal chromosome 4 and ring chromosome 4.

형에 영향을 미치며(Francke 등, 1997) subtelomere 부위의 작은 소실로도 short stature와 mild developmental delay와의 연관성이 어느 정도 있는 것이란 새로운 사실을 알게 되었다.

또한 놀라운 사실은 이렇듯 4번 염색체의 단일염색체와 환염색체 등의 세포유전학적 이상이 있음에도 불구하고 아무런 신체적 기형이 없으면서 단지 성장지연 소견만 나타내는(Lee 등, 2005) 환자의 결과였다. 염색체 이상

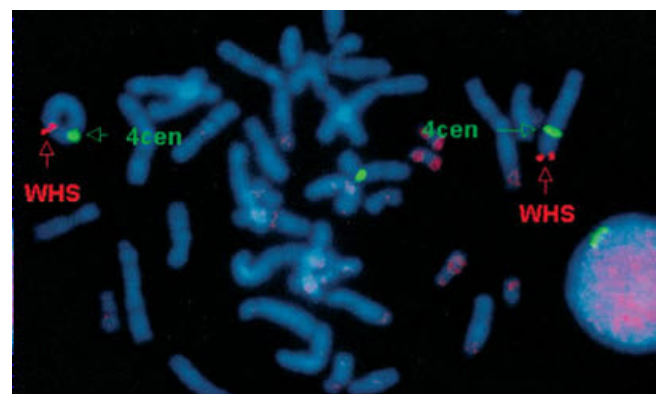


Fig. 7. FISH with WHS, 4centromere probe showing presence of WHS, 4centromere regions on both normal chromosome 4 and ring chromosome 4.

의 기원과 가족력 등을 밝히기 위해 부모를 대상으로 실시한 염색체 검사에서 어떠한 이상도 발견되지 않아 가족력과는 관계없는 새로운(de novo)형으로 밝혀졌다.

따라서 우리가 경험한 본 환자에서 W-H증후군은 아니라는 FISH결과의 확인과 함께 proximal 4p- syndrome이라는 진단을 내리고, 환염색체와 단일염색체 등의 “Mosaic Ring Chromosome 4 syndrome”이라는 극히 드문 질환을 경험하였기에 증례를 보고하는 바이다.

지금까지 대부분의 환염색체 환자들은 특징적인 임상양상과 세포유전학적 검사로 진단되었으나 최근에는 염색체의 기원을 확인하고 절단점을 찾기위해 여러 가지 probe를 이용한 FISH를 시행하여 signal을 관찰하여 확인하고 있다.

위와 같이 DNA probe를 사용한 FISH방법이 환염색체의 기원을 밝히는데 많은 도움이 되었으므로 세포유전학 분야에 이러한 새로운 기법을 도입하는 것이 환자의 진단에 대단히 유용하리라고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Anderson CE, Wallerstein R, Zamerowaki ST. Ring chromosome 4 mosaicism coincidence of oligomeganephronia and signs of Seckel syndrome. *Am J Med Genet* 72:281-285, 1997.
2. Balci S, Engiz O, Aktas D, Vargel I, Beksac MS, Mrasek K, Vermeesch J, Liehr T. Ring chromosome 4 and Wolf-Hirschhorn syndrome (WHS) in a child with multiple anomalies. *Am J Med Genet A* 140: 628-632, 2006.
3. Chen CP, Hsu CY, Tzen CY, Lee CC, Chen WL, Chen LF, Wang W. Prenatal diagnosis of mosaic ring chromosome 4. *Prenat Diag* 27:479-487, 2007.
4. Estabrooks LL, Breg WR, Hayden MR, Ledbetter DH, Myer RM, Wyandt HE, Yang-Feng TL, Hirschhorn K. Summary of the 1993 ASHG ancillary meeting “Recent research on 4p syndrome and gene”. *Am J Med Genet* 44:453-458, 1995.
5. Francke U, Arias DE, Nyhan WL. Proximal 4p-

deletion;phenotype differs from classical 4p-syndrome. *J Pediatr* 90:250-252, 1997.

6. Gardner RJM, Sutnerland GR. Chromosome abnormalities and genetic counselling. 2nd ed. p177-180, Oxford university press, inc, 1996.
7. Hirschhorn K, Cooper HL, Firsachein I. Deletion of short arm of chromosome 4-5 in a child with defects on midline fusion. *Humangenetik* 1:479-482, 1965.
8. Kocks A, Ende S, Heller R, Schroder B, Schafer HJ, Stadtler C, Makrigeorgi-Butera M, Winterpacht A. Partial deletion of 4p and 4q in a fetus with ring chromosome 4 phenotype and molecular mapping of the breakpoint. *Am J Med Genet* 39:E23-E23, 2002.
9. Lee MH, Park SY, Kim YM, Kim JM, Yoo KJ, Lee HH, Ryu HM. Molecular cytogenetic characterization of ring chromosome 4 in a female having a chromosomally normal child. *Cytogenet Genome Res* 111:175-178, 2005.
10. McIllee ME, Tulloch WS, Newsam JE. Studies on human meiotic chromosome from testicular tissue. *Lancet* 1:679-682, 1966.
11. Blackett PR, Li S, Mulvihill JJ. Ring chromosome 4 in a patient with Early Onset type 2 Diabetes, Deafness, and Developmental Delay. *Am J Med Genet A* 137:213-216, 2005.
12. Wolf U, Reinwein H, Porsch R, Schreoter R, Baitsch H. Defizienz an den Kurzen Armen Eines chromosome Nr. 4. *Humangenetik* 1:479-482, 1965.
13. Young RS, Zalneraitis EL. Neurological and neuropathological findings in ring chromosome 4. *Am J Med Genet* 6:487-490, 1980.
14. 양수연, 김옥영, 정옥승, 서손상, 최원영. Ring 4 chromosome과 관련된 Wolf-Hirschhorn 증후군 1례. *대한신생아학회지* 2(1):107-111, 1995.
15. 이정수, 강은숙, 허정원, 유정현, 이영경, 조현찬, 홍기숙. 4p15.2 부위의 결실을 보인 Wolf-Hirschhorn 증후군 1예. *대한임상병리학회지* :19(1):137-140, 1999.