

무정자증 불임남성에서 관찰된 *SRY* 유전자의 중복을 동반한 일동원체성 derivative Y 염색체

¹제일병원 의학연구소 유전학연구소, ²관동대학교 의과대학 제일병원 산부인과, ³비뇨기과

최은영¹ · 이봄이¹ · 박주연¹ · 이연우¹ · 오아름¹ · 이신영¹ · 김신영¹ · 한유정² · 이미범² · 류현미^{1,2} · 서주태³ · 박소연¹

Monocentric Derivative Y Chromosome with Duplication of the *SRY* Gene in an Azoospermic Male

Eun Young Choi¹, Bom Yi Lee¹, Ju Yeon Park¹, Yeon Woo Lee¹, Ah Rum Oh¹, Shin Young Lee¹, Shin Young Kim¹, You Jung Han², Mee Bum Lee², Hyun Mee Ryu^{1,2}, Ju Tae Seo³ and So Yeon Park¹

¹Laboratory of Medical Genetics, Cheil Medical Research Institute, ²Department of Obstetrics and Gynecology, ³Department of Urology, Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center, Kwandong University College of Medicine, Seoul, Korea

Structural abnormalities of the Y chromosome affect normal testicular differentiation and spermatogenesis. The present case showed a rare monocentric derivative Y chromosome with partial duplication of Yp including the *SRY* gene and deletion of Yq12 heterochromatin. The karyotype was 46,X,der(Y)(pter→q11.23::p11.2→pter).ish der(Y)(DYZ3+,DYZ1-,*SRY*++), confirmed through a FISH study. Even though the patient possessed an abnormal Y chromosome, testicular biopsy showed normal testicular volumes in the proband, with gonadal hormonal levels in the normal range but bilateral varicocele and hypospermatogenesis. We speculate that the abnormal Y chromosome arose from sister chromatids during Y chromosome recombination or intra chromosomal NAHR (non-allelic homologous recombination) during meiosis in the patient's father or in the very early stages of embryogenesis. The derivative Y chromosome might interfere in the meiotic stage of spermatogenesis, leading to the developmental arrest of germ cells. The present case illustrates that the infertility phenotype can have various causes. Also, it emphasizes the importance of accurate and various genetic analyses and could aid in male infertility treatment.

Key Words: Infertility, Male, Azoospermia, *SRY* duplication, Y chromosome

서론

전체 불임의 원인 중에서 약 40-60%가 남성 쪽에 원인이 있는 것으로 보고되고 있으며 남성불임은 정액검사의 결과에 따라 정자의 수가 부족한 희소정자증(oligozoospermia)과 정자가 없는 무정자증(azoospermia)으로 크게 분류할 수 있다. 정자생성과 정자성숙 장애가 있는 비폐쇄성(non-obstruc-

접 수: 2010년 12월 8일

수정본접수: 2010년 12월 22일

게재승인일: 2010년 12월 24일

게재일: 2010년 12월 31일

책임저자: 박소연

우100-380 서울특별시 중구 목정동 1-19

제일병원 의학연구소 유전학연구소

Tel: 02)2000-7680, Fax: 02)2278-4574

E-mail: paranip@yahoo.co.kr

tive) 무정자증 남성에게서 염색체 이상을 동반하는 경우가 10-15% 발견되며¹⁾, 대부분의 염색체 이상은 성염색체의 수적·구조적 이상들로 나타난다. 특히 Y 염색체의 구조적 이상에는 결실, 고리염색체, Y-상염색체 또는 X-Y 성염색체 전좌, 등원염색체, 이동원체성 염색체들이 많이 관찰되며 이러한 이상들은 생식기관 형성저하증, 생식선 발생장애, 정자생성 또는 정자성숙장애, 성호르몬 분비장애, 모호 생식기 등 남성의 생식기능에 유해한 결과를 초래할 수 있다. Y 염색체의 구조적 이상 중에서도 중심질이 두 개인 이동원체(dicentric) 형태는 비교적 흔하게 발견되지만 본 증례에서는 *SRY*를 포함한 부분적 단완 중복과 Yq12 이질염색질 결실로 재배열된 일동원체성 derivative Y 염색체가 관찰되어 보고하고자 한다.

증례

29세 남성으로 무정자증을 주소로 내원하였고, 외형상 특이 소견은 보이지 않았다. 조직학적 소견으로 고환의 크기(testis volume)는 정상(오른쪽 20 mL, 왼쪽 20 mL)이었으나, 양측 성 정계정맥류(bilateral varicoceles) 소견을 보였고, 외과적 절제술(varicocelectomy) 이력이 있었다. 고환조직정자채취술(testicular sperm extraction, TESE) 고환생검결과, 정자형성기능저하증(hypospermatogenesis, 0-10 spermatids/tubules)과 고환위축증(testicular atrophy) 또는 지주세포 증후군(Sertoli-cell-only syndrome)이 의심되는 소견을 보였다.

내분비학적 소견으로 혈액내 성호르몬 수치는 Testosterone 4.71 (정상범위 1.31-8.13 ng/mL), LH 6.9 (정상범위 1.7-8.6 mIU/mL), FSH 6.1 (정상범위 1.5-12.4 mIU/mL)로 정상이었다.

일반적인 세포유전학 검사로 환자의 말초혈액으로부터 배양 후 얻은 혈액세포를 GTL-분염법을 이용하여 20개의 유사분열 전·중기세포에서 핵형을 관찰하였다. International

Systemic for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN, 2009) 명명법에 준하여 최소 550 밴드이상의 고해상도를 지닌 세포를 분석하였고, Y 염색체의 크기가 너무 작은 것을 의심하여 CBG-분염법과 DA-DAPI 분염법으로 Y 염색체를 관찰한 결과, 장완의 Yq12 이질염색질 부위가 보이지 않는 구조적 이상을 보였다(Fig. 1).

분자세포유전학 검사로 Y 염색체의 구체적인 구조적 이상을 확인하기 위하여 형광동소보합법(fluorescence in situ hybridization, FISH)을 시행하였다. CEP X Spectrum Green/LSI *SRY* Spectrum Orange (Vysis, Abbott), Y alpha satellite locus (DYZ3) Spectrum Orange/Y satellite III locus (DYZ1) Spectrum Green (Vysis, Abbott) 의 위치특이탐색자를 이용하여 검사한 결과, Y 염색체의 중심질은 하나이고 장완의 이질염색질(Yq12) 부위는 결실되었으며 성결정유전자 *SRY*는 Y 염색체 양쪽 말단에서 모두 관찰되었다(Fig. 2).

분자유전학적 검사로는 환자의 말초혈액으로부터 추출한 genomic DNA를 검체로 16개 STS (sequence tagged site) 마커를 이용한 중합효소연쇄반응으로 Yp 부위와 Yq11 부위의 Azoospermia factor region (AZF)의 미세결실은 없는 것으로 확인하였다(Fig. 3).

위의 결과들을 종합하여 볼 때 Y 염색체의 이질염색질 부위는 결실되고 그 부위에 *SRY*를 포함하는 단완의 일부가 중복된 것으로 생각되어지며, 최종적으로 46,X,der(Y)(pter→q11.23::p11.2→pter).ish der(Y)(DYZ3+,DYZ1-,*SRY*++) 로 보고하였다.

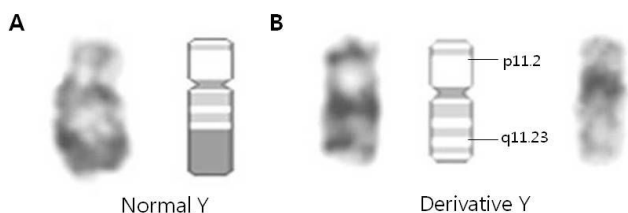


Fig. 1. (A) GTL banded (left) and ideogram (right) of a normal Y chromosome. (B) GTL banded (left), ideogram (middle) and CBG banded (right) derivative Y chromosome of the present case.

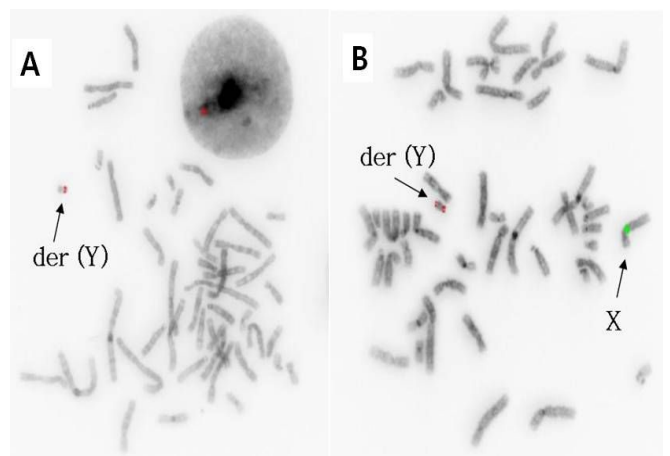


Fig. 2. Inverted DAPI images of FISH analysis results in blood cell metaphases. (A) Derivative Y chromosome shows a CEP Y spectrum orange signal without a Yq12 (DYZ1) spectrum green signal. (B) *SRY* (Yp11.3) spectrum orange signals are detected on both ends of the derivative Y chromosome. CEP X spectrum green signal (control).

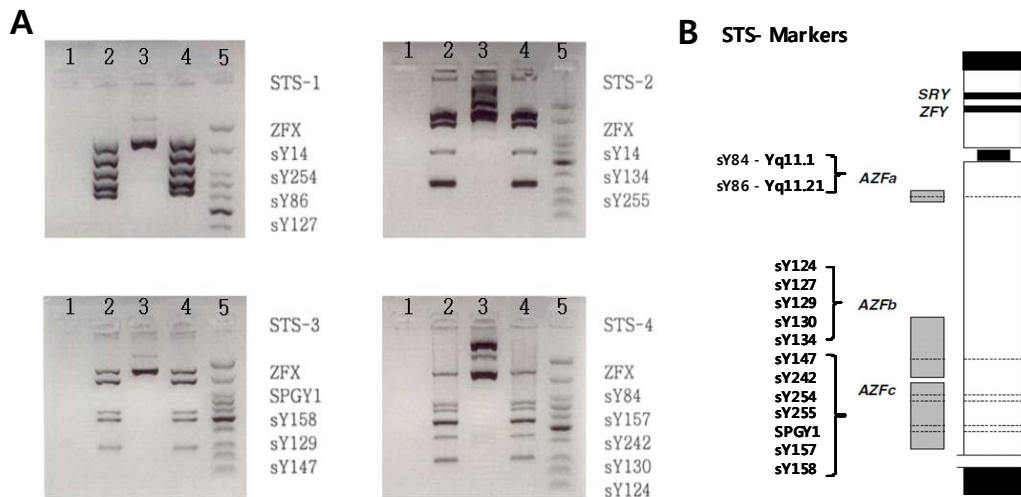


Fig. 3. (A) 3% Nusieve agarose gel electrophoresis of multiplex PCR products for 16 STS markers from blood genomic DNA: lane 1, blank; lane 2, male control; lane 3, female control; lane 4, patient; lane 5, low molecular weight DNA ladder. (B) Schematic representation of the human Y chromosome indicating the 16 tested STS markers.

고찰

지금까지 본 증례와 같이 부분적 Yp 중복과 Yq12 이질염색질 결실을 보인 일동원체성 Y 염색체에 대해서는 한 차례 보고된 바 있다²⁾. 그러나 보고된 증례에서는 분자유전학 검사에서 AZF의 b, c 소부위(subregion)의 미세결실을 보였고 고환의 크기가 정상보다 작았으며 혈액내 성호르몬 FSH와 LH가 약간 상승된 수치를 보였다.

Yq12에 해당하는 이질염색질 부위는 대부분 반복적인 DNA 염기서열로 구성되어 있어서 유전적으로 불활성화 되어 있고 정상 생식능을 가진 남성들에서도 이 부위는 크기의 다양성을 보인다³⁻⁵⁾. Y 염색체의 이질염색질 결실만을 가진 무정자증 불임남성과 정상 Y 염색체를 가진 환자의 남성 가족들에 대하여 보고된 증례에서는 정자형성부전의 원인을 진성염색질과 이질염색질 연결부위(euchromatin-heterochromatin juxtaposition) 결실로 인한 유전적 기능 소실 때문일 것이라고 보고하고 있다⁶⁾. 하지만 본 증례의 환자 역시 Yq 이질염색질 부위의 결실을 보이지만 환자의 남성 가족들의 Y 염색체에 대한 검사가 이루어지지 않아 그 연관성을 찾아보기 어려웠다.

정계정맥류는 고환으로부터 배수되는 덩굴정맥열기(pampiniform plexus)가 비정상적으로 늘어나 정맥혈관이 영커부풀어 오르는 현상을 말한다. 이러한 정계정맥류는 전체 남성 인구의 약 15%에서 발견되고 남성 불임의 원인 중 하나이다. 이 질환에서 고환의 조정기능이 장애되는 기전에 대해서는 명확히 밝혀지지 않았지만 신(renal) 및 부신(adrenal) 정맥혈

역류, 내분비 장애, 저산소증, 음낭온도 상승효과 등이 있으며 정자의 농도, 운동성, 형태 및 수정능 등에 다양하게 영향을 미친다. 외과적 교정술(vastectomy) 후 정액지표 및 가임능이 개선된다는 보고가 있다. 본 증례의 환자 역시 양측성 정계정맥류 소견으로 절제수술 이력이 있으나 정액지표의 개선에 대한 추적 검사는 이루어지지 않았다⁷⁾.

Y 염색체의 미세결실도 남성불임의 유전적 요인 중 하나이다. 정자형성과 관련된 AZF 부위는 Yq11에 위치하며 희소정자증과 무정자증 남성의 5-18%에서 이 부위의 미세결실을 보인다^{8, 9)}. 그러나 본 증례와 같이 이 부위에서 미세결실을 보이지 않고 Yq12 이질염색질 결실과 SRY 유전자를 포함한 Yp11.2 부위의 단완 중복 형태의 일동원체성 derivative Y 염색체는 매우 드물게 보고되어 있다²⁾.

본 증례의 남성은 비정상 Y 염색체를 가졌지만 Y 염색체 단완에 위치한 고환결정유전인자(Testis-determining factor, TDF)를 인코딩하고 있는 SRY 유전자 때문에 외부생식기관은 정상적인 발달을 보인 것으로 생각한다. 그리고 비정상 Y 염색체는 부계의 감수분열 또는 배발생(embryogenesis) 초기 단계에서 Y 염색체 자매염색분체(sister chromatid)의 재배열 또는 Y 염색체내(intra-chromosomal) 비대립동종재배열(non-allelic homologous recombination, NAHR) 현상 때문에 나타난 것으로 생각된다. 자매염색분체 중에서 하나의 염색분체가 Yq11.23 부위에서 먼저 절단되고 이어서 다른 하나의 염색분체 Yp11.2 부위에서 절단된 후 Yq11.23 절단면에 재결합되었거나 Y 염색체내 비대립 유사한 염기서열 부분

의 재조합 현상이 부분적 결실과 중복을 보이는 derivative Y 염색체를 유발시킨 것으로 생각된다^{2, 10}. 이러한 derivative Y 염색체가 정자형성과정에서 어떤 영향을 미치는지 명확히 밝혀지진 않았지만 환자의 생식세포 감수분열 단계에서 X-Y 성염색체의 2가염색체(X-Y bivalent) 형성에 영향을 줄 것으로 생각된다. Xp/Yp 가성 상염색체부위(pseudoautosomal regions, PAR1)는 감수분열에서 X-Y 성염색체가 접합하는 2가염색체 형성에 중요한 역할을 하는데 Yp의 PAR1 부위 중복으로 X-Y 성염색체 접합에 방해를 받아 정자생성 또는 정자성숙이 정지된 것으로 생각된다^{2, 11}. 그리고 남성특이영역(male specific region of the Y chromosome, MSY)의 일부인 AZF 부위의 미세결실 외에도 불임과 관련해서 AZF 부위의 후보 유전자(candidate gene) 변이(mutation) 또는 그 밖의 TSPY (Testes specific protein, Y-encoded) 유전자의 결실이나 변이 등의 원인도 배제할 수 없을 것이다¹⁰.

본 증례를 통하여 무정자증 불임남성의 생식과 관련된 표현형은 다양한 원인으로 결정될 수 있음을 보여주었다. 또한 Y 염색체의 크기에 대한 다양성 때문에 정상 Y 염색체로 잘못 판독될 가능성을 시사하였다. 따라서 무정자증 불임남성의 Y 염색체의 크기와 형태의 다양성에 대하여 좀더 세심한 관찰이 필요하며, 경우에 따라 추가적인 실험을 통해 보다 정확한 Y 염색체의 정보를 제공함으로써 불임남성의 적절한 치료에도 도움이 될 것으로 생각한다.

국문요약

Y 염색체의 구조적 이상은 남성의 정상적인 고환의 분화와 정자생성과정에 영향을 미친다. 본 증례의 무정자증 남성의 혈액세포에서 관찰된 비정상 Y 염색체는 SRY를 포함한 부분적 단완 중복과 Yq12 이질염색질 결실로 재배열된 일동원체성 derivative Y 염색체이다. 이러한 형태의 Y 염색체에 대해서는 매우 드물게 보고되어 있다. 이는 분자세포유전학 및 분자유전학 검사를 통하여 46,X,der(Y) (pter→q11.23::p11.2→pter).ish der(Y) (DYZ3+,DYZ1-,SRY++) 의 결과를 얻었다. 증례의 남성은 비정상 Y 염색체를 가졌음에도 불구하고 정상적인 고환의 크기와 혈액내 성호르몬의 수치는 정상이었다. 하지만 양측성 정계정맥류와 고환생검결과 정자형성기능저하증의 소견을 보였다. 이러한 비정상 Y 염색체는 부계의 감수분열 또는 배발생 초기 단계에서 Y 염색체 자매염색분체의 재배열 또는 Y 염색체내 비대립동종재조합(Non-allelic homo-

gous recombination) 현상 때문에 일어난 것으로 생각되며 환자의 생식세포 분열과정 중 X-Y 성염색체 PAR1 (pseudoautosomal region 1) 부위가 접합하는 2가염색체 (X-Y bivalent) 형성장애기전으로 정자생성 또는 정자성숙 단계에 문제가 생긴 것으로 생각된다. 또한 남성특이영역(male specific region of the Y chromosome, MSY)에서 불임과 관련된 유전자들의 결실과 변이 등의 원인도 배제할 수 없을 것이다. 본 증례는 무정자증 불임남성의 생식과 관련된 표현형이 다양한 원인으로 결정될 수 있음을 시사하며 아울러 불임남성에 대한 보다 정확하고 자세한 분자·세포 유전학적 분석들이 불임남성의 치료에도 도움이 될 것이라 생각한다.

References

- 1) Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R, et al. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14:2257-63.
- 2) Roovere T, Peters M, Horelli-Kuitunen N, Mølter-Väär T, Punab M, Rootsi S, et al. Cytogenetic and molecular characterization of the derivative Y chromosome: a case study of an azoospermic patient. *Clin Genet* 2007;72:460-3
- 3) Cohen MM, Shaw MW, MacCluer JW. Racial differences in the length of the human Y chromosome. *Cytogenetics* 1996;5:34-52.
- 4) Bobrow M, Pearson PL, Pike MC. Length variation in the quinacrine-binding segment of human Y chromosomes of different sizes. *Cytogenetics* 1971;10:190-8.
- 5) Nazarenko SA, Nazarenko LP, Baranova VA. Intra-individual polymorphism of human Y chromosome as a result of deletion in the heterochromatin region. *Genetika* 1987;23:918-21.
- 6) Cohen G, Manuel A, Cohen M, Fagan K, Grunstein H. A deletion of heterochromatin only of the Y chromosome in an azoospermic male. *Hum Genet* 1983;64:297-300.
- 7) Moro E, Marin P, Rossi A, Garolla A, Ferlin A. Y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele. *Mol Cell Endocrinol* 2000;61:67-71.
- 8) Tse JYM, Yeung WSB, Lau EYL, Tam PC, So WWK, Tang MHY, et al. Transmission of the Y chromosome microdeletion to a baby boy conceived after intracytoplasmic sperm injection. *Chin Med J* 2001;114:97-9.
- 9) Rabea Abol Magd Abobakr, Rashad Mahmoud Mostafa, Somaya Hosny Mahmoud, Hoda Yousry Abdallah,

- Gehan Hussein Ibrahim. Detection of azoospermia factor (AZF) microdeletion on Y chromosome in infertile men with azoospermia or severe oligozoospermia. *Egypt J Derm & Androl* 2009;29:65-72.
- 10) Shi YC, Cui YX, Zhou YC, Wei L, Jiang HT, Xia XY, et al. A rare Y chromosome constitutional rearrangement: a partial AZFb deletion and duplication within chromosome Yp in an infertile man with severe oligoasthenoteratozoospermia. *Int J Andrology* 2010 [Epub ahead of print].
- 11) Cui YX, Shi YC, Liu Q, Xia XY, Lu HY, Shao HF, et al. A case of gonadism associated with Y chromosome rearrangement: Cytogenetic and molecular studies. *J Androl* 2009;30:650-4.