

TWIST1 유전자의 돌연변이가 확인된 Saethre-Chotzen 증후군 2례

¹서울대학교 의과대학 소아청소년과학교실, ²아주대학교 의과대학 의학유전학과
³아주대학교 의과대학 신경외과학교실

고정민¹ · 양정아² · 정선용² · 윤수한³

Two Children with Saethre-Chotzen Syndrome Confirmed by the TWIST1 Gene Analysis

Jung Min Ko¹, Jung-Ah Yang², Seon-Yong Jeong², Soo Han Yoon³

¹Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

²Department of Medical Genetics, ³Department of Neurosurgery, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea.

Saethre-Chotzen syndrome is an autosomal dominant craniosynostosis syndrome, usually involving uni- or bilateral coronal synostosis and mild limb deformities, and is induced by loss-of-function mutations of the *TWIST1* gene. Other clinical features of this syndrome include ptosis, low-set ears, hearing loss, hypertelorism, broad great toes, clinodactyly, and syndactyly. The authors of the present study report 2 children with clinical features of Saethre-Chotzen syndrome who showed mutations in the *TWIST1* gene, and is the first molecular genetic confirmation of Saethre-Chotzen syndrome in Korea. The molecular genetic testing of the *TWIST1* gene for patients with coronal synostoses is important to confirm the diagnosis and to provide adequate genetic counseling

Key Words: Craniosynostosis, Coronal synostosis, Brachycephaly, *TWIST1*

서론

두개골유합증(Craniosynostosis)은 하나 이상의 두개골 봉합이 조기에 유합되어 발생하는 질환으로, 신생아 출생 2,100-2,500명당 한 명의 빈도를 보인다¹⁾. 단일 봉합의 유합을 초래하는 두개골유합증 중에서는 시상(sagittal)봉합이 가장 흔하게 침범되며,

뒤이어 관상(coronal)봉합, 전두(metopic)봉합, 삼각(lambdoid)봉합 순으로 흔하게 관찰된다^{2, 3)}. 비록 시상봉합 유합증이 전체 단일 봉합 유합증의 40-58%를 차지하는 가장 흔한 형태이기는 하지만, 시상봉합 유합증의 경우 3% 미만에서만 원인 돌연변이를 확인할 수 있으며 대부분의 환자가 산발적으로 발생하고 원인을 알 수 없는 경우가 대부분이다⁴⁾. 반면에, 관상봉합 유합증은 전체 단일 봉합 유합증의 20-29%를 차지하는 두 번째로 흔한 유합증형태로, 환자의 약 1/3에서 단일 유전자 돌연변이가 확인되며 환자의 8-10%는 가족력이 있어 다른 형태의 두개골유합증에 비해 보다 강한 유전적 배경을 가진다^{3, 4)}.

현재까지 관상봉합 유합증과 관련된 대표적인 유전자는 *TWIST1*, *FGFR3*, *EFNB1* 유전자로 각각 Saethre-Chotzen 증후군(SCS), Muenke 증후군, craniofrontonasal 증후군의 원인 유전자로 알려

접 수: 2011년 11월 22일

수정본접수: 2011년 12월 6일

게재승인일: 2011년 12월 16일

게재일: 2011년 12월 31일

책임저자: 윤수한

우443-721, 경기도 수원시 영통구 원천동 산5번지
아주대학교 의과대학 신경외과학교실
Tel: 031)219-5230, Fax: 031)219-4521
E-mail: ee80@ajou.ac.kr

져 있다²⁾. 이중에 SCS는 acrocephalosyndactyly 증후군 III형으로도 알려져 있으며, 상염색체 우성으로 유전되고 높은 투과도와 다양한 임상 양상을 보인다. SCS환자의 약 60–80%에서 TWIST1 유전자의 돌연변이가 관찰된다⁵⁾. SCS는 약 25,000–50,000명당 한 명의 빈도로 발생하며⁶⁾, 관상 봉합이 편측성 혹은 양측성으로 조기 폐쇄되어 두개골의 변형 및 특징적인 얼굴 모습을 초래한다. 또한 낮은 앞머리 두발선, 안검하수, 양안격리증, 사시, 작고 낮게 위치한 귀, 청력 소실, 짧은 손가락 및 피부 합지증, 굴지증, 굵은 엄지 발가락 등의 다양한 이상이 동반될 수 있다⁷⁾.

현재까지 우리나라에서는 3례의 SCS 환자에 대한 증례 보고가 있었으나, 모두 임상양상 및 수술적 치료에 대해 기술되어 있을 뿐 TWIST1 유전자의 돌연변이가 확인된 예는 없었다. 저자들은 양측성 관상봉합 유합증을 보인 두 명의 환자에서 TWIST1 유전자 돌연변이를 확인하여 SCS를 확진하였기에 보고하는 바이다.

증례 1

4세 6개월 여아로 단두증(brachycephaly)과 독특한 얼굴 모습으로 두개골유합증이 의심되어 진단 및 수술적 치료를 위해 타 병

원에서 전원 되었다. 재태 연령 40주에 3.18 kg으로 정상 질식 분만으로 출생하였으며, 출생 직후부터 양 눈의 안검하수로 인하여 눈을 완전히 뜨지 못하였고, 안과적인 검진에서 사시 소견 동반되어 있어 생후 1세 경 안검하수 및 사시에 대한 수술적 치료를 실시한 바 있다. 가족력을 살펴본 결과, 환자의 엄마가 환아와 비슷하게 이마가 납작하였고 양측성 신경성 난청으로 진단받아 추적 관찰 중이었으나 두개골유합증에 대한 진단 및 치료는 받지 않고 지냈다.

내원 당시 진찰 소견에서신장은 103 cm (25–50 백분위수), 체중은 19 kg (75–90 백분위수)이었고, 두위는 47.5 cm (5–10 백분위수)로 측정되었다. 환아는 단두증 및 납작한 이마를 보였고, 양측 귀는 낮게 위치해 있었으며, 이미 수술을 1회 실시한 바 있으나 양측 안검하수 소견은 남아있는 상태로 왼쪽 눈은 시력이 측정되지 않았다. 손가락과 발가락의 모양은 정상이었다. 인지 기능 검사에서 지능 지수 76으로 경계선 지능으로 확인되었으나, 청력 및 뇌파 검사는 정상이었으며 이외의 신경계 이상 증상 및 소견은 확인되지 않았다. 인압은 우측 15 mmHg, 좌측 19 mmHg로 정상 소견을 보였으나, 척추 천자를 통해 측정된 뇌압은 30 mmHg으로 상승되어 있었다. 두개골의 3차원 전산화 단층 촬영에서 양측 관상봉합의 조기 폐쇄로 인한 두개골유합증의 소견이 관찰되어, 임상 소견 및 가족력으로 미

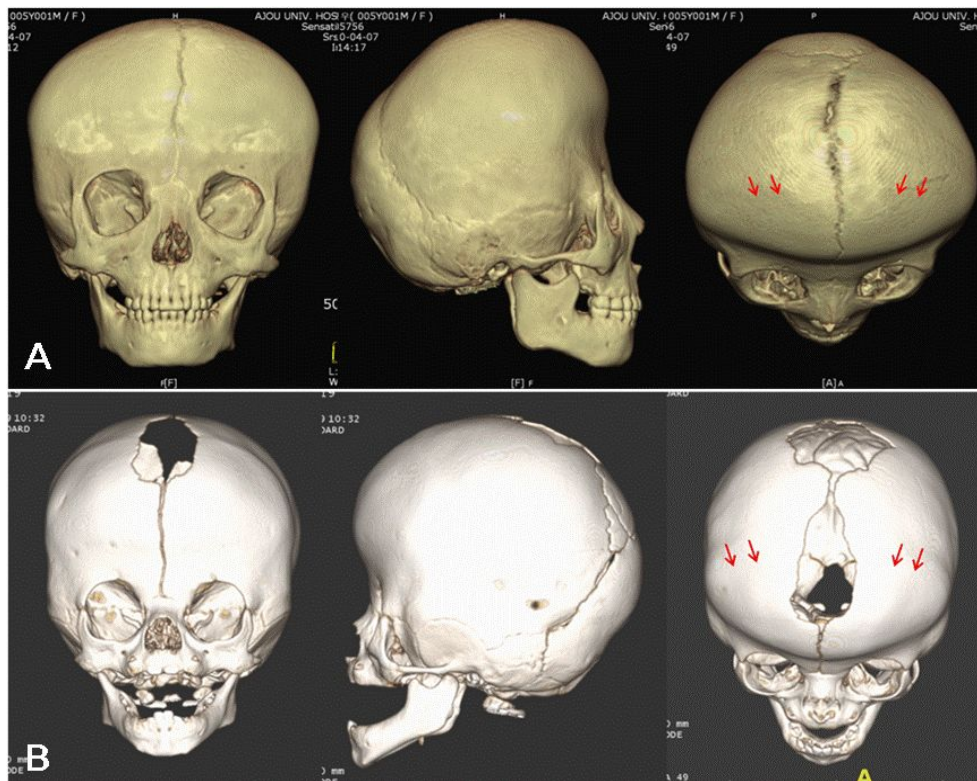


Fig. 1. Pre-operative 3D CT images of patients with Saethre–Chotzen syndrome. In the anterior, vertex and lateral volume-rendered images, arrows indicate bilateral coronal synostosis in patient 1 (A) and 2 (B).

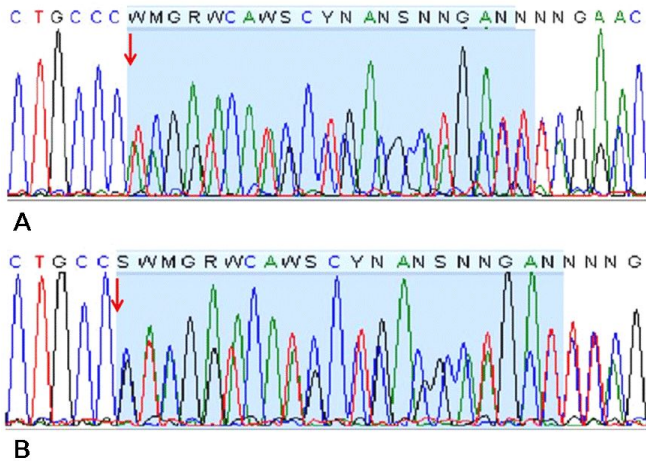


Fig. 2. Partial sequences of the *TWIST1* gene show the mutations detected in the present study. (A) In patient 1, a heterozygous insertion of AAGATCATCCCCACCCTGCCC between nucleotide 417 and 418 leads to a change of protein sequence, p.P139_S140insKIIPITLP. (B) In patient 2, a heterozygous insertion of GAAGATCATCCCCACCCTGCC between nucleotide 416 and 417 leads to a change of protein sequence, p.P139_S140insKIIPITLP.

루어 가족성 SCS가 의심되었다(Fig. 1A). 확진을 위해 SCS의 알려진 유일한 원인 유전자인 *TWIST1* 직접 염기서열분석을 실시하였으며, 환자와 환자의 어머니에서 모두 417번 염기와 418번 염기 사이에 21개의 뉴클레오티드가 삽입되어 139번째 아미노산인 proline과 140번째 아미노산인 serine 사이에 7개의 아미노산이 추가되는 c.417_418ins21bp (p.P139_S140ins KIIPITLP) 돌연변이가 확인되었다(Fig. 2A). 환이는 두개골절개확장술(expansion cranioplasty)을 두 차례 시행 받았으며, 현재까지 1년 7개월간 외래 추적 관찰 중이다.

증례 2

9개월 남아로 단두증과 납작한 이마 소견으로 타병원에서 실시한 방사선 검사에서 두개골유합증이 의심되어 수술적 치료를 위해 전원되었다. 태태 연령 41주 4일에 3.08 kg 정상 질식 분만으로 출생하였으며, 두개골유합증의 가족력은 없었다.

내원 당시 진찰 소견에서, 신장은 70 cm (10–25 백분위수), 체중은 9 kg (25–50 백분위수)이었고, 두위는 43 cm (10–25 백분위수)로 측정되었다. 환이는 단두증과 납작한 이마, 낮은 앞머리 두발선, 양안격리를 보였고 귀는 낮게 위치하여 있었으나 사시 및 안검하수는 동반되지 않았다. 손가락과 발가락의 모양은 정상이었다. 한국형 영유아 발달검사에서 역연령(chronological age)에

적절한 발달 소견을 보였고, 뇌파 소견은 정상이었으며, 안저검사 및 시각유발전위검사(visual evoked potential) 또한 정상이었다. 청각유발전위검사(auditory evoked potential)에서 양측 청각 반응이 감소되어 있었다. 척추 천자를 통해 측정된 뇌압은 19.5 mmHg으로 약간 상승되어 있었다. 두개골의 3차원 전산화 단층 촬영에서 양측 관상봉합의 조기 폐쇄로 인한 두개골유합증의 소견이 관찰되어, 환아의 임상 양상을 함께 고려할 때 SCS가 의심되었다(Fig. 1B). 질환의 확진을 위해 *TWIST1* 유전자의 직접 염기서열분석을 실시하였으며, 환아에서 416번 염기와 417번 염기 사이에 21개의 뉴클레오티드가 삽입되어 139번째 아미노산인 proline과 140번째 아미노산인 serine 사이에 7개의 아미노산이 추가되는 c.416_417 ins21bp (p.P139_S140insKIIPITLP) 돌연변이가 확인되었다. 하지만 환아의 부모에서는 돌연변이가 확인되지 않았다(Fig. 2B). 환이는 두개골절개확장술을 시행 받고 현재까지 1년간 외래 추적 관찰 중이다.

고 찰

관상봉합 유합증은 다른 유형들의 두개골유합증에 비하여 원인 돌연변이의 발견율이 보다 높으며, SCS의 원인 유전자인 *TWIST1*은 Muenke 증후군의 원인 유전자인 *FGFR3*과 더불어 관상봉합 유합증을 보이는 증후군과 관련된 대표적인 원인 유전자이다. *TWIST1*은 염색체 7p21에 위치하고 있으며, 1997년에 SCS의 원인 유전자임이 밝혀지게 되었다⁸⁾. 이 유전자의 산물인 *TWIST1* 단백질은 사지, 두개골 및 안면골의 발달 과정에서 중간엽 세포주의 분배를 조절하고, 관상봉합이 발달하는 위치에서 신경 능선(neural crest)과 두부 중간엽(cephalic mesoderm) 사이의 경계를 유지하는데 중요한 역할을 한다^{9, 10)}. 또한, *TWIST1* 단백질은 고도로 보존된 basic helix-loop-helix (bHLH) 도메인을 보유한 중요한 전사인자로서, 세포 계열 수임(lineage commitment) 및 세포 분화를 포함한 발달 과정에 관여한다¹¹⁾.

현재까지 120종 이상의 *TWIST1* 돌연변이가 보고되어 있으며, 과오(missense) 돌연변이, 정지(nonsense) 돌연변이, 틀 이동(frameshift) 돌연변이, 유전자 전체의 결손 등 다양한 형태가 존재한다¹²⁾. 대부분의 *TWIST1* 돌연변이는 *TWIST1* 단백질의 분해를 유도하는 것으로 생각되며, 이로 인해 *TWIST1* 단백질의 반수체 기능부전(haploinsufficiency)이 초래되고 표적 유전자의 촉진제(promoter) 결합 부위에 결합하는 능력이 감소된다¹³⁾.

TWIST1 단백질은 다른 *TWIST1* 단백질과 결합하여 호모다이머(homodimer) 형태로 존재하거나, 다른 단백질의 bHLH 도메인과

결합하여 헤테로다이머(heterodimer)의 형태로 존재한다. 이들 두 가지 형태의 다이머는 골 형성 과정의 조절에 있어 상반되는 역할을 수행하는 것으로 생각되며, 호모다이머는 골 형성을 촉진하고 헤테로다이머는 두개골 봉합을 열린 상태로 유지하는데 관여한다¹⁴⁾. 동물 실험으로 시상봉합에 비해 관상봉합에서 호모다이머 대 헤테로다이머의 비율이 높음이 확인되었으며, 돌연변이에 의한 TWIST1 단백질의 반수체기능부전은 호모다이머의 형성을 초래하기 때문에, 관상봉합이 다른 봉합에 비해 TWIST1 단백질의 반수체기능부전에 따른 유합증의 발생에 취약하다고 여겨진다^{15, 16)}.

본 증례들에서 확인된 돌연변이인 c.417_418ins21bp 및 c.416_417ins21bp는 모두 SCS환자에서 이미 보고된 돌연변이로¹²⁾, 두 돌연변이간에 염기 서열의 변화 위치는 1 bp의 차이가 있으나 궁극적으로는 p.P139_S140insKIIPTLP의 동일한 단백질이 합성되며, 이 변화된 TWIST1 단백질은 호모 혹은 헤테로다이머의 형성에 큰 변화를 초래함이 알려져 있다¹³⁾. 또한 이들 돌연변이는 TWIST1 유전자의 주된 기능을 담당하는 bHLH 도메인에 위치하는데, bHLH 도메인은 TWIST1 유전자의 돌연변이 호발 부위(hot spot)로서 현재까지 보고된 돌연변이의 약 70%가 이 도메인 내에 위치하고 있다¹²⁾.

현재까지 진행된 여러 연구에서, 특정 돌연변이와 임상 양상 간의 연관성은 밝혀지지 않았다²⁾. 본 연구에서도, 같은 단백질의 변화를 초래하는 돌연변이를 보유한 증례 1 및 2 환자 사이에서도 임상 양상은 차이를 보였다. 특히, 증례 1의 경우 환자의 어머니와 환자와 같은 돌연변이를 가진 SCS 환자였음에도 불구하고 특징적인 얼굴 모습, 안검하수의 동반 유무 및 청력 이상 등의 임상 양상 발현은 개인간의 차이가 있음이 확인되었다. TWIST1 유전자의 큰 결손을 보이는 환자의 경우, 유전자 내부의 점(point) 돌연변이를 가진 환자에 비해 학습 능력이 감퇴되어 있음을 보고한 몇몇 연구들이 있으나^{5, 17)}, 또 다른 연구에서는 TWIST1 유전자의 결손과 정신운동 발달의 지연과 연관성을 확인할 수 없어¹⁸⁾, 현재까지 SCS 환자의 지적 능력과 유전자형 간의 상관 관계에 대한 여러 연구들의 결과는 서로 상충된다.

본 증례 보고를 통하여, 저자들은 양측성 관상봉합 두개골유합증과 특징적인 얼굴 모습, 다양한 동반 기형을 보인 두 명의 환자에서 국내에서 처음으로 TWIST1 유전자의 원인 돌연변이를 확인하여 SCS를 확진하고 이를 보고하는 바이다. 관상봉합 유합증은 다른 형태의 두개골유합증에 비하여 유전적인 원인이 크게 작용하는 것으로 알려져 있으며, 이중에 SCS는 대표적이면서도 전형적인 관상봉합 유합증의 한 아형이다. 따라서 관상봉합 유합증 환자에서 TWIST1 유전자 분석은 질환을 확진하고, 및 환자와 가족에 대한

적절한 유전 상담을 제공하는데 유용한 방법으로 생각된다.

국문초록

Saethre-Chotzen 증후군은 상염색체 우성의 유전 방식을 보이는 두개골유합증후군(craniosynostosis)의 하나로, 원인 유전자는 TWIST1로 알려져 있다. Saethre-Chotzen 증후군의 임상 증상은 두개골유합증 중에서도 특히 관상 봉합(coronal suture)이 편측 혹은 양측으로 조기에 폐쇄되는 것이 특징적이며, 이외에도 안검하수, 낮게 위치한 귀, 청력 소실, 손발가락의 기형 등 다양한 이상이 동반될 수 있다. 저자들은 양측성 관상봉합 두개골유합증과 특징적인 얼굴 모습, 다양한 동반 기형을 보인 두 명의 환자에서 TWIST1 유전자의 원인 돌연변이를 각각 확인하고 Saethre-Chotzen 증후군을 확진하였기에, 국내에서 처음으로 보고하는 바이다. 특히, TWIST1 유전자 분석은 관상봉합 유합증을 보이는 환자에서 질환을 확진하고, 및 환자와 가족에 대한 적절한 유전 상담을 제공하는데 유용한 검사로 생각된다.

References

- 1) Jadico SK, Huebner A, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Young TL. Ocular phenotype correlations in patients with TWIST versus FGFR3 genetic mutations. J AAPOS 2006;10:435-44.
- 2) Johnson D, Wilkie AO. Craniosynostosis. Eur J Hum Genet 2011;19:369-76.
- 3) Kimonis V, Gold JA, Hoffman TL, Panchal J, Boyadjiev SA. Genetics of craniosynostosis. Semin Pediatr Neurol 2007;14:150-61.
- 4) Wilkie AO, Byren JC, Hurst JA, Jayamohan J, Johnson D, Knight SJ, et al. Prevalence and complications of single-gene and chromosomal disorders in craniosynostosis. Pediatrics 2010;126:e391-400.
- 5) Cai J, Goodman BK, Patel AS, Mulliken JB, Van Maldergem L, Hoganson GE, et al. Increased risk for developmental delay in Saethre-Chotzen syndrome is associated with TWIST deletions: an improved strategy for TWIST mutation screening. Hum Genet 2003;114:68-76.
- 6) Paznekas WA, Cunningham ML, Howard TD, Korf BR, Lipschitz MH, Grix AW, et al. Genetic heterogeneity of Saethre-Chotzen syndrome, due to TWIST and FGFR mutations. Am J Hum Genet 1998;62:1370-80.
- 7) Reardon W, Winter RM. Saethre-Chotzen syndrome. J Med Genet 1994;31:393-6.
- 8) el Ghouzzi V, Le Merrer M, Perrin-Schmitt F, Lajeunie

- E, Benit P, Renier D, et al. Mutations of the TWIST gene in the Saethre–Chotzen syndrome. *Nat Genet* 1997;15:42–6.
- 9) Rice DP, Aberg T, Chan Y, Tang Z, Kettunen PJ, Pakarinen L, et al. Integration of FGF and TWIST in calvarial bone and suture development. *Development* 2000;127:1845–55.
 - 10) Merrill AE, Bochukova EG, Brugger SM, Ishii M, Pilz DT, Wall SA, et al. Cell mixing at a neural crest–mesoderm boundary and deficient ephrin–Eph signaling in the pathogenesis of craniosynostosis. *Hum Mol Genet* 2006;15:1319–28.
 - 11) Thisse B, el Messal M, Perrin–Schmitt F. The twist gene: isolation of a *Drosophila* zygotic gene necessary for the establishment of dorsoventral pattern. *Nucleic Acids Res* 1987;15:3439–53.
 - 12) HGMD. The Human Gene Mutation Database at the Institute Medical Genetics in Cardiff. 2009.
 - 13) El Ghouzzi V, Legeai–Mallet L, Aresta S, Benoist C, Munnich A, de Gunzburg J, et al. Saethre–Chotzen mutations cause TWIST protein degradation or impaired nuclear location. *Hum Mol Genet* 2000;9:813–9.
 - 14) Connerney J, Andreeva V, Leshem Y, Muentener C, Mercado MA, Spicer DB. TWIST1 dimer selection regulates cranial suture patterning and fusion. *Dev Dyn* 2006;235:1345–57.
 - 15) Connerney J, Andreeva V, Leshem Y, Mercado MA, Dowell K, Yang X, et al. TWIST1 homodimers enhance FGF responsiveness of the cranial sutures and promote suture closure. *Dev Biol* 2008;318:323–34.
 - 16) Elanko N, Sibbring JS, Metcalfe KA, Clayton–Smith J, Donnai D, Temple IK, et al. A survey of TWIST for mutations in craniosynostosis reveals a variable length polyglycine tract in asymptomatic individuals. *Hum Mutat* 2001;18:535–41.
 - 17) Johnson D, Horsley SW, Moloney DM, Oldridge M, Twigg SR, Walsh S, et al. A comprehensive screen for TWIST mutations in patients with craniosynostosis identifies a new microdeletion syndrome of chromosome band 7p21.1. *Am J Hum Genet* 1998;63:1282–93.
 - 18) Kress W, Schropp C, Lieb G, Petersen B, Busse–Ratzka M, Kunz J, et al. Saethre–Chotzen syndrome caused by TWIST 1 gene mutations: functional differentiation from Muenke coronal synostosis syndrome. *Eur J Hum Genet* 2006;14:39–48.