

유전자 패널 검사로 진단된 당원병 III형 증례

아주대학교 의과대학 아주대학교병원 소아청소년과¹, 의학유전학과², 녹십자지놈³

김성완¹ · 장주영¹ · 이장훈¹ · 손영배² · 장자현³

A Case of Glycogen Storage Disease Type III Diagnosed by Gene Panel Sequencing

Seong Wan Kim¹, Ju Young Jang¹, Jang Hoon Lee¹, Young Bae Sohn², Ja-Hyun Jang³

Department of Pediatrics¹, Department of Medical Genetics²,
Ajou University Hospital, Ajou University School of Medicine, Suwon
Green Cross Genome³, Yongin; Republic of Korea

Type III Glycogen storage disease (Type III GSD, OMIM#232400) is a genetic metabolic disorder in which undigested glycogen accumulates in the organs due to lack of glycogen debranching enzyme caused by AGL mutation. The clinical symptoms of type III GSD include hepatomegaly, delayed growth, hypoglycemia and muscle weakness. These clinical symptoms are similar to those of other types of GSD, making it difficult to distinguish clinically. The authors report a case of type III GSD diagnosed by gene panel sequencing. A 11-month old male patient was presented with hepatomegaly. In liver biopsy, glycogen was accumulated in hepatocytes, suggesting GSDs. For differential diagnosis of types of GSD, gene panel sequencing for GSDs was performed. As a result, two novel pathogenic compound heterozygous variants: c.311_312del (p.His104Argfs*15) and c.3314+1G>A in AGL were detected and the patient was diagnosed as type III GSD. After diagnosis, he started dietary treatment with cornstarch, and has been free from complications. After two years, two same variants were also identified in the chorionic villous sampling of the pregnant mother, and the fetus was diagnosed as type III GSD. Gene panel sequencing is useful for diagnosis of disease which is indistinguishable by clinically and has high genetic heterogeneity, such as GSD. After diagnosis, familial genetic analysis can provide adequate genetic counseling and rapid diagnosis.

Key words: Glycogen storage disease type III, AGL, Gene panel sequencing, Familial mutation analysis

서론

당원병 III형(Glycogen storage disease, type III)은 글리코겐 가지제거효소(Glycogen debranching enzyme, GDE)의 결핍에 의해 조직에 글리코겐이 축적되면서 간, 근육, 심장 질환 증상이 나타나는 드문 유전 대사질환이다¹⁾. GDE는 글루코시데이스(amylo-1,6-

glucosidase)와 트랜스퍼레이스(oligo-1,4-1,4-glycanotransferase)라는 별도로 작용하는 두 개의 촉매 역할을 가지고 있으며, 인산화효소와 함께 글리코겐의 포도당으로의 분해를 돕는다²⁾. GDE의 결핍으로 인해 분해되지 못한 글리코겐이 조직에 축적되면서, GDE가 분포하던 조직에 따라 다양한 임상적 증상을 나타나게 된다.

아동기에 간 비대와 저신장 그리고 공복 시에 케톤 증을 동반한 저혈당증과 고지혈증이 흔히 나타난다. 혈액검사 상 아스파르트산 아미노 전이 효소 (AST)

책임저자: 손영배, 경기도 수원시 영통구 월드컵로 164
아주대학교 의과대학 의학유전학과
Tel: 031)219-4522, Fax: 031)219-4521
E-mail: ybsohn@ajou.ac.kr

및 알라닌 아미노 전이 효소(ALT)가 상승되고, 요산 및 젖산은 대체로 정상이다. 85%의 환자에서 근육 질환 증상이 나타나고, 심근병증이 동반되기도 하는데 이러한 경우, IIIa로 분류한다. 간질환 증세만 보이는 환자들은 IIIb로 분류하며, 그 외 IIIc (글루코시데이스 결핍) 및 IIId (트랜스퍼레이스 결핍)은 매우 희귀하다^{1,3)}. 그러나 상기 증상들은 다른 유형의 당원병 환자에서도 흔히 관찰되어 임상 증상만으로는 감별이 어렵고, III형 당원병 환자들끼리도 증상의 정도는 다양하다.

당원병 III형은 1p21 염색체에 존재하는 GDE 담당 유전자(AGL 유전자)의 변이에 의해 나타난다. 상염색체 열성 유전을 하고, 높은 유전자 이질성을 가지고 있다. 현재까지 130개 이상의 변이가 발견되었다⁴⁻⁶⁾.

당원병이 의심되는 환자는, 간 비대에 대해 복부 초음파 및 간 조직검사, 근육 증상이 동반된 경우 근전도 및 근조직검사를 시행한다. 이환된 조직에서 효소의 활성도 검사도 진행할 수 있다. 다른 유형의 당원병과 임상 증상으로 감별이 힘들어, 확진을 위해 유전자 검사가 필요하다¹⁾. 높은 유전적 이질성 때문에, 유전자들에 대한 순차적인 염기서열 분석으로 많은 시간과 비용이 소모되게 된다. 그러나, 최근에 도입된 대규모 병렬 염기서열 분석을 이용한 유전자 패널 검사는 시간과 비용을 아낄 수 있어 진단에 도움이 된다⁷⁾.

본 연구에서는 유전자 패널 검사를 이용해 당원병 III형을 확진한 한국인 가족의 증례를 보고하고자 한다.

증 례

11개월 남아가 내원 1개월 전부터 복부 팽만 및 간 비대를 주소로 내원하였다. 부모는 둘 다 건강한 한국인이었으며, 근친결혼은 아니었다. 간질환의 가족력은 없었고 환아는 외동이었다. 출생력은 재태 연령 38주 0일, 출생 체중 2.8 kg (10-25 백분위수) 이었다. 출생 전 후 특별한 문제 없었고, 발달력도 정상이었으며, 이전에 저혈당 증세가 나타난 적은 없었다. 신체 진찰상, 신장은 75 cm (25-50 백분위수) 였고 체중은 10 kg (50 백분위수) 였다. 복부 팽만이 있었고 간은 우측 늑골 연 밑으로 손바닥 정도 만져졌다. 황달 및 비장 비대는 없었다. 신경학적 진찰도 정상이었다. 말초혈액

검사상, 헤모글로빈은 13.3 g/dL (12.5-17.5 g/dL), 백혈구는 $12.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($4.0-11.0 \times 10^3/\mu\text{L}$), 혈소판은 $333 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($134-387 \times 10^3/\mu\text{L}$)로 정상이었다. AST는 405 IU/L (5-40 IU/L) 였고 ALT는 418 IU/L (5-41 IU/L)로 상승되어 있었다. 총 빌리루빈은 0.2 mg/dL (0.0-1.2 mg/dL) 였다. 총 콜레스테롤은 150 mg/dL (118-200 mg/dL) 였고, 중성지방은 143 mg/dL (37-200 mg/dL) 였다. 젖산은 1.01 mmol/L (0.7-2 mmol/L) 였고, 요산은 4.1 mg/dL (3.4-7.0 mg/dL) 이었다. 바이러스성 감염에 대한 혈청학적 검사상 감염을 시사하는 소견은 없었다. 소변 유기산 및 혈장 아미노산 분석에서도 특이 소견 없었다. 복부 초음파 검사상, 균일하게 초음파 투과도가 증가되었고, 담도 이상은 없었다. 간 조직검사상, 간 섬유화가 동반되고 PAS 염색에서 글리코겐이 세포질에 침착된 소견으로 당원병을 의심할 수 있었다. 가장 흔한 당원병 Ia형을 감별하기 위해 *G6PC* 유전자의 변이를 Sanger 염기서열분석으로 확인하였으나, 변이는 발견되지 않았다. 당원병 타입의 정확한 분자 유전학적 진단을 위해 대규모 병렬 염기서열 분석을 이용한 유전자 패널 검사를 시행하였다. 유전자 패널에는 *GYS1*, *GYS2*, *G6PC*, *SLC37A4*, *GAA*, *AGL*, *GBE1*, *PYGM*, *PFKM*, *PYGL*, *PHKA1*, *PHKA2*, *PHKB*, *PRKAG2*, *PHKG2*, *PGAM2*, *LDHA*, *ALDOA*, *ENO3*, *PGM1*, *GYG1*, *LAMP2* 유전자가 포함되었다. 환아의 말초혈액에서 추출한 DNA로 검사를 진행하였다. TruSight One sequencing panel을 이용하여 캡처한 총 22개의 유전자의 표적 엑손을 Illumina NextSeq platform으로 염기서열분석을 시행하여 UCSC hg19 표준 염기에 mapping 하여 비교하였다. 그 결과, AGL 유전자에서 두 개의 변이 c.311_312del (p.His104Argfs*15)와 c.3314+1G>A; NM_000646.2)가 이형접합체로 발견되었고, 각 변이는 부모에게서 이형접합체임이 Sanger 염기서열분석에서도 확인되어 당원병 III형으로 진단되었다(Fig. 1). 상기 변이들은 AGL 유전자에서 기존에 보고된 적 없는 새로운 변이로 ExAC, 1000 genome 등 인구집단 데이터베이스에서 보고된 바 없는 극히 드문 변이였으며, 각각 frameshift와 splicing 돌연변이를 일으켜 단백 절단(protein-truncating)을 일으키는

병적 변이(pathogenic variant)로 분류 되었다.

환자는 당원병 III형 진단 후, 근육 및 심근 이환 여부 확인 위해 시행한 검사상 크레아틴 키나아제(CK)가 334 U/L (39-308 U/L)로 약간 높았으나, 심 초음파는 특이 소견 없고 심 기능도 정상이었다. 치료로, 저혈당 예방을 위해 부모에게 단당류를 주의하고 당질 섭취를 일정하게 하도록 교육하였고, 생육수수 전분을 하루에 2 g/kg의 용량으로 4회에 나누어서 규칙적으로 섭취하도록 하였다. 고지혈증 예방을 위해 불포화지방을 섭취하고, 단백질도 충분한 섭취를 하도록 교육하였다. 생후 35개월경 마지막 외래 내원 당시 키는 90.9 cm (10-25 백분위수), 몸무게는 14.6 kg (50-75 백분위수) 였고, 운동 발달 및 지적 능력은 문제없었다. 그러나, 신체 진찰에서 간 비대는 3횡지 정도로 남아있고, 혈액검사 상, AST는 490 U/L, ALT는 565 U/L, CK는 946 U/L, 총 콜레스테롤은 223 mg/dL, 중성지방은 275 mg/dL로 높았다.

환자 진단 후 시행한 부모의 Sanger 염기서열분석에서, 환자 아버지는 c.311_312del 보인자로, 어머니는 c.3314+1G>A 보인자로 확인되었다. 이후 어머니가 동생을 임신해 제태연령 11주에 시행한 융모막 검사상, 태아에서 c.311_312del 및 c.3314+1G>A 변이가 이형접합으로 확인되어 이환된 태아로 진단되었으며 임신을 유지할 계획으로, 동생 출산 직후 말초혈액을 이용한 유전자 검사 재시행, 당원병에 대한 임상 검

사, 식이 조절 교육을 시행할 예정이다(Fig. 2).

고 찰

당원병은 다양한 임상증상을 보일 수 있으며, 증상의 정도도 환자에 따라 차이가 있다. 또한 유형이 달라도 임상 증상이 비슷해, 증상만으로 진단에 접근하기 힘들다. 따라서, 확진을 위해 염기서열 분석 등의 분자 유전학적 검사법이 도움이 되며, 특히 당원병 같이 높은 유전적 이질성을 가진 질환은 유전자 패널 검사법을 이용해 검사에 소요되는 시간 및 비용을 줄일 수 있다⁷⁾. 상기 환아는 간 조직검사서 당원병의 가능성이 높았지만, 임상 증상만으로 어떤 유형인지 감별진단이 힘들었다. 간 비대 외에 저혈당, 근육 증상, 발달 장애 등의 다른 증상이 없었고, 처음 혈액검사에서도 AST/

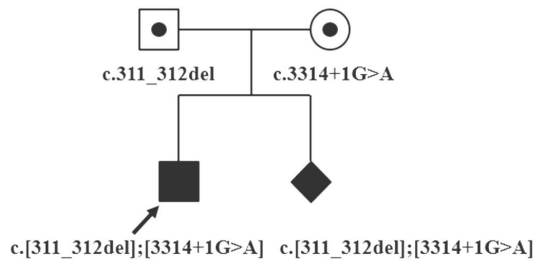


Fig. 2. Pedigree of the proband (arrow) with results of familial mutation analysis. Familial mutation analysis found that patient's parents carried the heterozygous mutation, and fetus also affected.

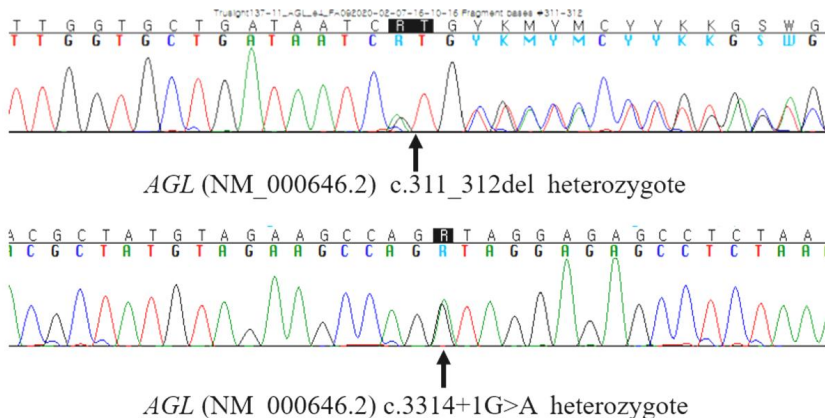


Fig. 1. AGL variant detected by confirmatory Sanger sequencing. The gene panel sequencing and confirmatory Sanger sequencing identified two heterozygous variant in AGL, c.311_312del and c.3314+1G>A.

ALT 상승 이외에, 젓산이나 요산의 상승 등도 없었다. 당원병 중 제일 흔한 Ia형을 G6PC 유전자 검사를 통해 배제한 후, 당원병에 대한 유전자 패널 검사를 시행하여 최종적으로 당원병 III형으로 진단할 수 있었다.

분자유전학적으로는, 당원병 IIIb에서 AGL 유전자의 3번 엑손의 c.18_19delGA 및 c.16C>T 변이가 자주 발견된다는 보고가 있다⁸⁾. 그러나 IIIa의 경우 높은 대립 유전자 이질성(Allelic heterogeneity)을 가져 현재까지 130개 이상의 변이가 보고되었고, 대부분의 변이는 한 명 혹은 수 명의 환자에서만 보고된 개별적 변이(Private mutation)이다. 인종에 따라 발견되는 흔한 변이들도 있으나, 그 빈도는 높지 않다^{4,6,9)}. 한국의 당원병 III형 환자의 변이를 분석한 연구에서, 8명의 환자에서 발견된 10개의 변이 중 5개가 기존에 보고된 적 없던 변이였고, 기존에 알려진 5개의 변이 중 3개 (p.R285*, c.1735+1G>T, p.L1139P)의 빈도가 높아 전체 변이의 56%를 차지하였으나 각각의 변이는 18.8% 정도만을 차지하였다¹⁰⁾. 본 환자의 경우 AGL 유전자에서 2개의 변이(c.311_312del, c.3314+1G>A)가 발견되었고, 모두 기존에 보고된 적 없는 변이었다. 두 변이 모두 이형접합체로, 보인자인 부모에게서 각각 하나씩 유전되었음이 확인하였다.

당원병 III형이 진단되면, 식이 요법을 통해 저혈당을 예방하고, 고지혈증을 교정하는 것이 중요하다. 저혈당의 예방을 위해, 장기간의 공복을 피하고, 단당류 보다는 복합 당질로 섭취하도록 한다. 생육수수 전분을 규칙적으로 복용하는 것도 권장된다. 충분한 단백질 섭취는 포도당신생성에 도움이 되며, 또한 IIIa 형 환자의 근육과 심장 증상을 호전시킬 수 있다¹¹⁾. 또한, 정기적으로 발달, 간, 근육, 심장 기능에 대한 평가를 통해 합병증 여부를 확인해야 한다¹⁾. 일반적으로, 나이가 들면서 간 비대와 간 기능이 호전되지만, 일부 환자에서 간 경변증으로 진행되거나, 간 섬유증 및 간암이 동반된 경우도 보고되었다¹²⁾. 따라서, 주기적으로 AST/ALT 등의 혈액검사와 간 초음파를 시행해야 한다. 근육 증상은 주로 성인 환자에서 근 위축 및 운동 장애로 나타난다고 알려져 있으나, 소아에서도 드물지만 발병이 가능하므로 증상에 대한 평가 및 검사가 필요하다¹³⁾. 심장 증상은 심 비대가 동반되면서 부정맥, 심부전까지 발생

할 수 있어, 주기적인 심 초음파 검사를 시행해야 한다¹⁴⁾. IIIb형은 간 증상만 동반되므로 예후가 좋다고 알려져 있고, 간 증상이 호전된 후에는 식이요법이 꼭 필요하지 않다¹⁾. 그러나 IIIa형은 근육 및 심장 증상이 나타날 수 있어 지속적인 추적 관찰과 치료가 필요하다. 환자의 경우, 진단 후 바로 생육수수 전분 복용 등의 식이요법을 시작하였고, 현재까지 발달 지연 및 근육 증상 없지만, 지속적인 간 비대와 AST/ALT 및 근육 효소/지질의 상승을 보이고 있어 IIIa로 생각된다. 그러나 아직 근력 약화의 징후는 없었고, 연령이 어리므로 식이요법을 지속하면서 추후 증상 발현 여부에 대해 추적 관찰 예정이다.

당원병 III형 환자의 가족에서는 유전 상담과 더불어, 보인자 여부를 확인하기 위해 유전자 검사를 시행한다. 임신한다면, 빠른 진단 및 치료를 위해 태아의 산전 검사가 추천된다. 이전에는 양수에서의 GDE 효소 활성도 검사를 통해 진단하였으나¹⁵⁾, 최근에는 양막/용모막 생검으로 가족에서 확인된 AGL 유전자의 변이 유무를 확인한다¹⁾. 환자의 동생의 경우, 용모막 검사로 환자에서 발견된 변이 두 개가 모두 확인되어 출산 후 재검할 예정이다. 정확한 분자유전학적 진단과 산전 검사로 환자 및 가족에게 질환에 대한 정보 및 예방, 조기 치료를 제공하는 유전상담이 도움이 되겠다.

요 약

당원병 III형은 GDE 결핍으로 분해되지 않은 당원이 간 또는 근육에 축적되는 유전대사이상질환이다. AGL 유전자 변이에 의해 발생하고 높은 유전적 이질성을 가지고 있다. 당원병 III형의 임상증상은 간 비대, 성장 지연, 저혈당 등이 있다. 이러한 임상 증상은 다른 타입의 당원병의 증상과 비슷하여 임상적으로는 구분하기가 어렵다. 저자들은 간 비대 주소로 내원한 11개월 환아에서 유전자 패널 검사로 진단된 당원병 III형 증례를 보고하고자 한다. 간 조직검사결과 간세포에 글리코겐이 축적되어 있어 당원병을 의심하였으며, 당원병 아형의 감별 진단을 위해 유전자 패널 검사를 시행하였다. 그 결과, AGL 유전자에서 이전에 보고된 바 없는 c.311_312del와 c.3314+1G>A 변이가 이형접

합체로 발견되어 당원병 III형으로 진단하였다. 진단 후 생옥수수 전분가루를 복용하는 식이요법 시작하였고, 생후 35개월인 현재까지 급·만성 합병증 없는 상태이다. 또한, 가족 검사를 통해 부모가 각각 보인자임을 확인하였고, 임신된 동생의 융모막 검사에서도 동일한 변이가 확인되어 출산 후 재검 및 조기 식이요법을 시행할 예정이다. 유전자 패널 검사법은 당원병과 같이 임상적으로 구분이 어려우며 높은 유전적 이질성을 가진 질환의 감별 진단 시 시간과 비용을 아낄 수 있어 유용하다. 또한 정확한 분자 유전학적 진단은 환아와 가족에게 질환에 대한 정확한 정보 및 치료 예방, 산전 유전 상담을 제공하는 데 도움이 된다.

참 고 문 헌

- 1) Kishnani PS, Austin SL, Arn P, Bali DS, Boney A, Case LE, et al. Glycogen storage disease type III diagnosis and management guidelines. *Genet Med* 2010;12:446-63.
- 2) Liu W, Madsen NB, Braun C, Withers SG. Reassessment of the catalytic mechanism of glycogen debranching enzyme. *Biochemistry* 1991;30:1419-24.
- 3) Shin YS. Glycogen storage disease: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. *Semin Pediatr Neurol* 2006;13:115-20.
- 4) Goldstein JL, Austin SL, Boyette K, Kanaly A, Veerapandian A, Rehder C, et al. Molecular analysis of the AGL gene: identification of 25 novel mutations and evidence of genetic heterogeneity in patients with Glycogen Storage Disease Type III. *Genet Med* 2010;12:424-30.
- 5) Rousseau-Nepton I, Okubo M, Grabs R, Consortium FC, Mitchell J, Polychronakos C, et al. A founder AGL mutation causing glycogen storage disease type IIIa in Inuit identified through whole-exome sequencing: a case series. *CMAJ* 2015;187:E68-E73.
- 6) Zimmermann A, Rossmann H, Bucerzan S, Grigorescu-Sido P. A Novel Nonsense Mutation of the AGL Gene in a Romanian Patient with Glycogen Storage Disease Type IIIa. *Case Rep Genet* 2016;2016:8154910.
- 7) Wang Z, Liu X, Yang BZ, Gelernter J. The role and challenges of exome sequencing in studies of human diseases. *Front Genet* 2013;4:160.
- 8) Shen J, Bao Y, Liu HM, Lee P, Leonard JV, Chen YT. Mutations in exon 3 of the glycogen debranching enzyme gene are associated with glycogen storage disease type III that is differentially expressed in liver and muscle. *J Clin Invest* 1996;98:352-7.
- 9) Sentner CP, Vos YJ, Niezen-Koning KN, Mol B, Smit GP. Mutation Analysis in Glycogen Storage Disease Type III Patients in the Netherlands: Novel Genotype-Phenotype Relationships and Five Novel Mutations in the AGL Gene. *JIMD Rep* 2013;7:19-26.
- 10) Ko JS, Moon JS, Seo JK, Yang HR, Chang JY, Park SS. A mutation analysis of the AGL gene in Korean patients with glycogen storage disease type III. *J Hum Genet* 2014;59:42-5.
- 11) Dagli AI, Zori RT, McCune H, Ivsic T, Maisenbacher MK, Weinstein DA. Reversal of glycogen storage disease type IIIa-related cardiomyopathy with modification of diet. *J Inherit Metab Dis* 2009;32 Suppl 1: S103-6.
- 12) Cosme A, Montalvo I, Sanchez J, Ojeda E, Torrado J, Zapata E, et al. [Type III glycogen storage disease associated with hepatocellular carcinoma]. *Gastroenterol Hepatol* 2005;28:622-5.
- 13) Ben Chehida A, Ben Messaoud S, Ben Abdelaziz R, Ben Ali N, Boudabous H, Ben Abdelaziz I, et al. Neuromuscular Involvement in Glycogen Storage Disease Type III in Fifty Tunisian Patients: Phenotype and Natural History in Young Patients. *Neuropediatrics* 2019;50:22-30.
- 14) Mogahed EA, Girgis MY, Sobhy R, Elhabashy H, Abdelaziz OM, El-Karakasy H. Skeletal and cardiac muscle involvement in children with glycogen storage disease type III. *Eur J Pediatr*. 2015;174:1545-8.
- 15) Yang BZ, Ding JH, Brown BI, Chen YT. Definitive prenatal diagnosis for type III glycogen storage disease. *Am J Hum Genet* 1990;47:735-9.