

동종 제대혈 이식으로 치료한 X 염색체 Exon 10에 1316 G 결손을 가진 Wiskott-Aldrich 증후군 1례

아주대학교 의과대학 소아과학교실, ¹단국대학교 의과대학 소아과학교실, ²한경대학교 생명공학부 권덕근 · 이강균 · 지윤희¹ · 정현주 · Baatarsogt Oyungerel² · 최강덕² · 박준은

A Case of Wiskott-Aldrich Syndrome with 1316 G Deletion in Exon 10 on X-chromosome Treated with Allogeneic Cord Blood Transplantation

Duck Geun Kwon, M.D., Kang Gyoon Lee, M.D., Youn Hee Jee, M.D.¹, Hyun Joo Chung, M.D., Oyungerel Baatarsogt, M.S.², Kang Duk Choi, Ph.D.² and Jun Eun Park, M.D.

Department of Pediatrics, Ajou University School of Medicine, Suwon,
¹Department of Pediatrics, Dankook University School of Medicine, Cheonan,
²School of Genomic Engineering, Hankyong National University, Anseong, Korea

Wiskott-Aldrich syndrome, an X-linked immuno-deficiency disorder caused by mutations of Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) gene, is characterized by thrombocytopenia, recurrent infections, and eczema. Most of the cases of Wiskott-Aldrich syndrome, reported previously in Korea, were diagnosed entirely based on clinical symptoms and through serum levels of IgM, IgA, and IgE. A deletion of 1316 G in exon 10 of x-chromosome was detected through deoxyribonucleic acid (DNA) gene sequencing in a Wiskott-Aldrich Syndrome patient, who later on was successfully treated with unrelated allogeneic cord blood transplantation. (*Clin Pediatr Hematol Oncol* 2007;14:207~211)

Key Words: Wiskott-Aldrich syndrome, Gene mutation, Allogeneic cord blood transplantation

Wiskott-Aldrich 증후군은 X-염색체의 WASP 유전자의 돌연변이로 인해 생기는 만성 열성 유전성을 따르는 면역결핍질환으로 혈소판 감소증, 면역결핍으로 인한 잦은 감염, 습진을 주 증상으로 한다¹⁾.

WASP의 구조 및 몇 가지 특이결합 도메인은 밝혀지긴 했으나, WASP의 정확한 역할과 혈소판

감소증이 일어나는 정확한 기전은 알려져 있지 않다²⁾. 하지만 WASP와 유전자 분석은 정확한 진단과 환자의 추적관찰에 이용될 수 있으며 특히 비전형적 혹은 특발성 환자, 그리고 보인자의 발견에 사용될 수 있다³⁾.

Wiskott-Aldrich 증후군은 국내에서는 임상 양상과 면역글로불린의 수치를 근거로 하여 몇례가 보고된 바 있으며, 선천성 면역결핍증 환아에서 X-염색체의 중합 효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 시행하여 직접 DNA 유전자 서열 분석으로 WASP 유전자 변이를 발견한 1례만이

책임저자 : 박준은, 경기도 수원시 영통구 원천동 산5,
아주대학교 의과대학 소아과교실, 443-749
Tel: 031-219-5160, Fax: 031-219-5169
E-mail: pedpje@ajou.ac.kr

보고 된 바 있다^{4,5)}. 저자들은 생후 10개월경부터 빈번한 폐렴과 중이염의 병력을 호소하고 습진, 점상출혈과 혈소판 감소증을 보인 13개월 된 남아에서 유전자분석을 이용하여 WASP 유전자의 1316 G 돌연변이를 증명하여 Wiskott-Aldrich 증후군을 진단하였고 비혈연 동종 제대혈 이식을 통해 성공적으로 치료하였기에 보고하고자 한다.

증 례

환 자: 박○○, 13개월, 남아

주 소: 양 하지의 점상 출혈과 습진

과거력 및 현병력: 태태기간 36주, 3,100 g으로 정상 질식 분만하였고 생후 10개월경 중이염과 아토피성 피부염으로 입원치료를 받았으며 이때 시행한 전혈 세포 수 검사에서 혈소판 감소(35,000/mm³)를 보였다. 환아는 13개월경 양 하지에 발생한 점상출혈과 출혈을 동반한 구강 궤양을 주소로 입원하였다. 이때 시행한 검사에서 혈소판 수는 20,000/uL이었고 면역성 특발성 자반증 의심하에 감마글로불린 치료와 스테로이드를 투여하였으나 혈소판 감소는 호전되지 않았다. 얼굴과 손에 심한 습진은 호전과 악화를 반복하였고, 출혈을 동반한 구강궤양, 폐렴과 중이염이 자주 발생하였다. 임상적으로 Wiskott-Aldrich 증후군으로 진단받은 후 혈소판 수혈을 받았고, 잦은 감염에 대하여 항생제를 투여 받았다. 진단을 위하여 부모와 환아의 혈액으로 유전자 분석을 하였다.

가족력: 환아의 형이 임상적 증상으로 Wiskott-Aldrich syndrome으로 진단받았으나 사망하였으며, 그 외 더 이상의 자세한 가족력은 조사할 수 없었다(Fig. 1).

이학적 소견: 진단당시 체중은 8.0 kg으로 3~10 백분위수, 신장은 74 cm로 10~25 백분위수였으며 활력징후는 비교적 안정되어 있었고, 고막의 발적과 출혈을 동반한 심한 구강궤양을 보이며 주로 얼굴과 귀 주위, 손의 심한 습진을 보였다. 직경 0.5 cm 정도의 수개의 작은 경부림프절과 액와 림프절이 촉지 되었으며 간비종대는 없었다.

검사소견: 말초 혈액 검사에서 혈색소 7.7 g/dL, 적혈구 용적률 24%, 백혈구 8,000/uL, 혈소판 36,000/uL이었다. 말초 혈액 도말 표본에서 백혈구 감별 계산은 호중구 27%, 림프구 52%, 단구 15%, 호산구 4%로 확인 되었으며, 이상 혈소판은 관찰되지 않았으나 혈소판 분포 폭은 8%였다. 혈청 면역글로불린의 검사에서 IgM은 63 mg/dL로 하한치를 보이고, IgE는 144 IU/mL로 증가되어 있었으며 IgG는 1009 mg/dL, IgA는 167 mg/dL로 정상소견이었다. T3, CD3 (Total T)는 55% (54~82), B4, CD (B cells)은 34% (6~23), T4, CD4 (Helper/Inducer)은 18% (29~55), T8, CD8은 37% (12~35), NK, CD16+CD56 (NK cell)은 11% (7~35), T4/T8 비는 0.49 (0.9~3.2)로 T4 세포가 감소하였고, B4와 T8은 증가하였다. 골수검사에서는 거핵구가 증가된 것 이외에 다른 소견은 없었다.

검사방법: (1) 환자로부터 유전체 DNA를 분리하고 WASP유전자의 12개 Exon 각각에 대한 primer를 합성하여 PCR을 시행하였다. PCR 제품은 Qiagen PCR purification kit를 이용하여 정제 분리하고 ABI 3100 automatic sequencer를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

(2) 환아의 부모로부터 각각 말초혈액을 추출하여 WASP유전자의 Exon 10에 대한 primer를 합성하여 PCR 시행 후 같은 방법으로 염기서열을 분석하였다.

환아의 아버지는 정상이었으며, 환아의 어머니

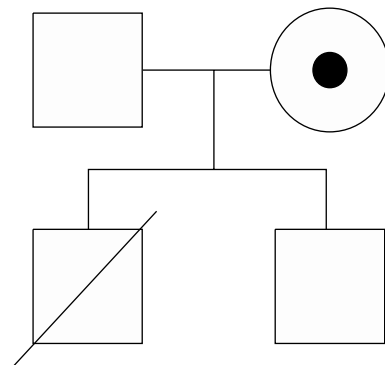


Fig. 1. The pedigree of the patient.

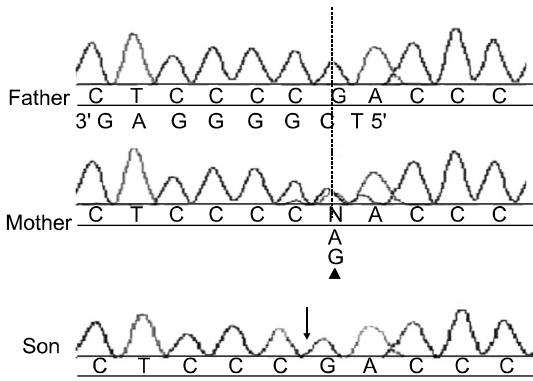


Fig. 2. This PCR shows the deletion of 1316 G (↓) in exon 10 of X chromosome (5' TCGGGGAG 3' == TCGGGAG). Father was normal and his mother had heterozygote (A or G). The patient had deletion of 1316 G with next base sequence A or G, which eventually led to frameshift/termination of gene of WASP.

는 염기 A 혹은 염기 G를 갖는 이형 접합체였다. 환자의 X 염색체 10번째 exon에서 1316 G 결손을 보이며 다음 염기서열이 A 혹은 G가 배열되어 유전자의 frame shift/termination 이 발생함을 발견하였다(Fig. 2).

치료 및 경과: 환아는 10,000/uL 이하로 떨어지는 낮은 혈소판 감소증으로 혈소판 수혈을 하였으며 수혈 빈도가 잦아지며 상태가 악화되어 비장절제 수술을 받았으나, 이후에도 감염이 자주 반복되고 혈소판 감소증으로 거의 매일 혈소판 수혈을 필요로 하여 4년 9개월에 비혈연간 동종 제대혈 이식을 시행하였다. 공여자의 제대혈 혈액형은 O+형으로 인 백혈구 항원(human leukocyte antigen: HLA)은 DNA 방법으로 검사하여 A*2404 (A24) A*3101 (A31) B*5101 (B51) B*1501 (B62) DRB1*0901 (DR9) DRB1*1101 (DR11)였으며, 수여자의 혈액형은 A+으로 HLA형은 A24 A32 B51 B62 DR9 DR11로 1개의 불일치 항원을 가지고 있었다. 전 치료로는 D-7일부터 D-4일까지 busulfan (3.2 mg/kg/일, 4일), D-3일과 D-2일에 cyclophosphamide (60 mg/kg/일, 2일), D-3일부터 D-1일까지 Antithymocyte globulin (thymoglobuline[®],

Sangstat, France; 3 mg/kg/일, 3일)을 투여하였고 이식편대숙주병의 예방을 위해 cyclosporin과 methylprednisolone을 사용하였다. 총 주입된 유핵세포는 0.64×10^8 /kg개였으며, 백혈구 생착은 절대 중성구 수치가 500개 이상 2일 이상 연속적으로 상승된 첫날로 정의하여 이식 후 24일째 이루어졌다. 혈소판 생착은 혈소판 수치가 $50,000/\text{mm}^3$ 이상 유지되며, 최소 7일 이상 혈소판 수혈이 필요 없는 첫날로 정의하였으며 이식 후 55일째 이루어졌다. 이식 후 34일째 짧은 연속반복 서열(short tandem repeat) 방법으로 시행한 키메리즘에서 90% 이상 공여자와 일치함이 확인되었으며, 이식 161일 이후부터는 100% 완전 공여자 키메리즘이 확인되었다. 현재는 정상 골수 검사 소견을 보이며 혈소판 수혈 없이 건강한 상태로 외래에서 추적 관찰 중에 있다. 아토피 피부염은 아직 슬와부 후벽부에 남아있으나 많이 호전된 상태이다.

고 찰

Wiskott-Aldrich 증후군은 혈소판 감소증, 잦은 감염, 습진을 주 증상으로 하는 X-염색체열성의 유전질환으로서 우리나라에서는 몇 례가 보고된 바 있다^{4,5)}. 1937년 Wiskott이 처음으로 혈소판 감소증, 혈변, 습진, 잦은 중이염을 호소하는 세 명의 남자 환자 들에서 보고한 이후, 1954년 Aldrich와 동료 연구자들이 한 가정에서 5대에 걸친 남자 환자들을 발견하고 이 질환이 성염색체 열성 유전을 따른다고 보고하였다¹⁾. 많은 연구자들이 이 질환의 원인으로 WASP의 역할과 WASP 유전자의 변이에 대해 연구하였는데, 아직 정립된 바는 없다²⁾. 발생빈도는 10만 명당 4명이며 환자의 약 70%는 3년 2개월 이내에 사망하고, 드물게는 10대 후반, 20대 초반까지 생존하는데, 영아기에서는 감염과 출혈 으로, 청년기에서는 악성 종양으로 사망하는 경우가 많으며, 림프종이 생길 가능성이 정상인에 비해 100배 정도 높은 것으로 보고되고 있다. 혈액학적 검사에서는 혈소판 크기와 수의 감소, 혈중 IgA와 IgE증가 및 IgM의 감

소, 다당류 항원에 대한 항체형성의 결핍, 동종 혈구응집소의 부재, 면역글로불린의 과산화작용, 일시적인 이상단백혈증, 정상적인 골수흡인 소견 등을 나타내고 혈소판에 대한 항체는 보이지 않는다^{1,2,6}. 혈소판의 기능은 심하게 떨어진 채로 지속되지만, 면역결핍의 정도는 다양하여 가벼운 감염에서부터 치명적인 감염을 일으키는 것까지 다양하다⁷.

WASP 돌연변이는 정상수치의 10% 정도 되는 심한 혈소판 감소증을 유발하고, 혈소판 크기는 평균 $1.82 \pm 12 \text{ um}$ 으로 작으며, 당단백 IIa/IIIb와 당단백 IV의 발현이 감소되어 있다^{1,8}. 혈소판이 감소하는 원인은 아직 정확하지는 않으나 비장에서 파괴되는 것으로 여겨지며, 혈소판 관련 IgG가 증가되어 있어 이것이 혈소판 파괴의 주 원인이라는 견해도 있다^{8,9}. 하지만 비장 절제술을 시행하더라도 혈소판의 숫자와 직경이 정상이 되지는 않는다는 보고와 함께, 비효과적인 혈소판 조혈과 말초에서 혈소판의 파괴가 발견되어 있다는 보고도 있다¹. 초기 연구에는 중성구와 단구 주화성의 결핍도 발견되어 WASP가 세포 운동성과 세포 골격 조절에 관여하여 조혈세포의 신호전달에 영향을 미친다고 고려해 볼 수도 있다¹.

WASP는 53-kDa의 크기로 X 염색체 단완(Xp11.22~p11.23)에 있으며 1,823개의 염기쌍이 있는 12개의 exon으로 구성되어 502개의 아미노산을 encoding 하며 조혈세포의 세포질에서 외부에서 자극을 받았을 때 액틴 세포골격의 조절과 T-세포의 전사를 활성화 시키는 역할을 한다^{2,6,10}.

Anna 등의 연구에서는 병의 정도가 심한 환자의 혈소판에서 WASP가 보이지 않는 경우도 있어 림프구에서의 WASP의 농도가 병의 심각도를 결정한다고 하였고¹¹, WASP가 없는 경우 혈소판의 기능이 현저히 떨어지는 것을 증명하였다⁷.

Wiskott-Aldrich 증후군 환자들에게는 C168T 변이가 가장 흔한 것으로 알려져 있으나¹⁰, 유전자 변이가 다양하여 Y. Sasahara 등은 6명의 환자를 대상으로 유전자 분석하여 2개의 새로운 돌연변이(45delG, 395insGGAGAT)와 5개의 다른 돌연변

이를 밝혔고³, Christina 등은 14명의 스페인 가족을 대상으로 한 연구에서 여러 유전자 변이를 보고하였으며, 그중 과오 돌연변이(missense mutation)의 유형이 제일 많았다⁶.

본 증례에서는 exon 10번에서 1316 G의 결손이 관찰되었으며, Qili 등이 보고한 exon 10번에서 일어난 돌연변이로 주로 삼입과 결실이 발생하는 것과 일치하였다¹². 아직도 유전형과 표현형이 일치하느냐에 대한 논란의 여지는 있지만^{6,7}, 과오돌연변이 보다는 null 돌연변이의 경우가 증상이 심하다고 알려져 있으며⁷, Itoh S 등은 10명의 환자를 연구하여 WASP분석과 유전자 분석이 병의 심각도를 판단하는데 유용하다고 하였다¹³.

Wiskott-Aldrich 증후군의 치료로는 보존적인 혈소판 수혈과 감염에 대한 항생제의 치료이며, 주기적인 주사용 면역글로불린의 투여와 혈소판 감소를 위하여 비장 절제 등의 고식적 방법이 있으나, 완치를 위한 유용한 치료 방법은 골수이식이다. Alexandra 등은 1968년부터 1996년까지 동종 조혈모세포 이식을 받은 170명의 Wiskott-Aldrich 증후군의 환자의 경과와 변수들에 대해 조사하였다¹⁴. 연구에 따르면 환자 들의 5년 생존율은 70%였으며, 가장 좋은 예후를 보인 그룹은 HLA가 일치하는 혈연으로부터 골수를 공여 받은 경우 5세 이전의 한아들 이었다¹⁴. 하지만 조기 동종 조혈모세포 이식(5세 이전)은 혈연 또는 비혈연 인으로부터 공여 받은 모든 경우에서 좋은 예후를 나타내었다¹⁴. 최근에는 성공적인 동종 제대혈 이식의 보고도 이뤄지고 있으나 아직 혈연과 비혈연 공여자 간의 직접적인 결과 비교는 어려운 상태이다¹⁴.

환아의 경우에는 혈소판 수혈의 빈도가 잦아져 비장절제술을 하였으나 큰 효과를 보지 못했으며, 반복적인 감염으로 항생제 및 면역글로불린 투여를 필요로 하였다. 5세 이전에 비혈연 동종 제대혈 이식을 하였고 성공적인 생착 이후 30개월 현재까지 혈소판 수혈 없이 건강한 상태로 외래에서 추적관찰 중에 있어 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1. Snapper SB, Rosen FS. The Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP): roles in signaling and cytoskeletal organization *Annu Rev Immunol* 1999;17: 905-29
2. Kato M, Miki H, Imai K, Nonoyama S, Suzuki T, Sasakawa C, et al. Wiskott-Aldrich syndrome protein induces actin clustering without direct binding to cdc42. *J Biol Chem* 1999;274:27225-30
3. Sasahara Y, Kawai S, Kumaki S, Ohashi Y, Minegishi M, Tsuchi S. Novel mutation, no detectable mRNA and familial gene analysis of the Wiskott-Aldrich syndrome protein gene six Japanese patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *Eur J Pediatr* 2000; 159:23-30
4. Choi HK, Park JY, Sohn JH. A Case of Wiskott-Aldrich Syndrome Misdiagnosed as Chronic Idiopathic Thrombocytopenia. *Korean J Pediatr Hematol-Oncol* 1998;5:340-5
5. Baek HJ, Choi SH, Sohn KR, Kook H, Kim SJ, Song ES, et al. Mutation analysis in X-linked recessive congenital immunodeficiency syndrome. *Chonnam Med J* 2005;41:48-61
6. Fillat C, Espanol T, Oset M, Ferrando M, Estivill X, Volpini V. Identification of WASP mutation in 14 Spanish families with Wiskott-Aldrich syndrome. *Am J Med Genet* 2001;100:116-21
7. Shcherbina A, Rosen FS, Remold-O'Donnell E. WASP levels in platelets and lymphocytes of wiskott-aldrich syndrome patients correlate with cell dysfunction. *J Immunol* 1999;163:6314-20
8. Oda A, Ochs HD. Wiskott-Aldrich syndrome protein and platelets. *Immunol Rev* 2000;178:111-7
9. Thrasher AJ, Burn S. Wiskott-Aldrich syndrome: a disorder of haematopoietic cytoskeletal regulation. *Microsc Res Tech* 1999;47:107-13
10. Ho LL, Ayling J, Prosser I, Kronenberg H, Iland H, Joshua D. Missense C1687T in the Wiskott-Aldrich Syndrome protein gene is a common mutation in X-linked thrombocytopenia. *Brit J Haema* 2001;112: 76-80
11. Stewart DM, Treiber-Held S, Kurman CC, Facchetti F, Notarangel LD, Nelson DL. Studies of the expression of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *J Clin Invest* 1996;97:2627-34
12. Zhu Q, Watanabe C, Liu T, Hollenbaugh D, Blaese M, Kanner SB, et al. Wiskott-Aldrich syndrome/ X-linked thrombocytopenia: WASP gene mutations, protein expression, and phenotype. *Blood* 1997;90: 2680-9
13. Itoh S, Nonoyama S, Morio T, Imai K, Okawa H, Ochs HD, et al. Mutation of the WASP gene in 10 Japanese patients with Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia. *Int J Hematol* 2000; 71:79-83
14. Filipovich AH, Stone JV, Tomany SC, Ireland M, Kollman C, Pelz CJ, et al. Impact of donor type on outcome of bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the National marrow Donor Program. *Blood* 2001;97: 1598-603