

피부 섬유모세포 염색체 절단검사로 진단된 Fanconi 빈혈 1예

충남대학교 의과대학 소아과학교실¹, 단국대학교 의과대학 소아과학교실²,
아주대학교 의과대학 소아과학교실³, 유전학교실⁴

이지정¹ · 윤경빈¹ · 김선영¹ · 이미정² · 정현주³ · 박준은³ · 김현주⁴

A Case of Fanconi Anemia Diagnosed by a Chromosome Breakage Test with Skin Fibroblasts

Ji Joung Lee, M.D.¹, Kyung Bin Yun, M.D.¹, Sun Young Kim, M.D.¹, Mee Jeong Lee, M.D.²,
Hyun Joo Jung, M.D.³, Jun Eun Park, M.D.³ and Hyon Joo Kim, M.D., FACMG⁴

Department of Pediatrics, College of Medicine, ¹Chungnam National University, Daejeon, ²Dankook University, Cheonan,

³Department of Pediatrics, ⁴Center for Genetic Disease, Ajou University College of Medicine, Suwon, Korea

Fanconi anemia is an autosomal recessive disease that's characterized by congenital anomalies, defective hematopoiesis and a high risk of developing acute myeloid leukemia and certain solid tumors. The clinical phenotype is extremely variable; therefore, the diagnosis is frequently delayed until the pancytopenia appears. Chromosomal instability, especially on exposure to an alkylating agent, may be seen in affected patients and it is the basis for a diagnostic test. This cellular phenotype can be demonstrated in cultured T cells, B cells, fibroblasts and fetal cells cultured from both amniotic fluid and chorionic villi. But somatic mosaicism may make the diagnosis of Fanconi anemia difficult because of inconclusive chromosome breakage studies. If the test is negative in lymphocytes and yet the clinical setting is highly suspicious, then the skin fibroblasts must be assessed. Because skin fibroblasts are somatic cells, a definitive test can be performed on primary skin fibroblasts. In this report we describe a case of Fanconi anemia that was diagnosed with the use of cultured skin fibroblasts, and this was despite the normal breakage studies in the peripheral blood. (*Korean J Hematol* 2008;43:62-67.)

Key Words: Fanconi anemia, Chromosome breakage test, Skin fibroblast

서 론

Fanconi 빈혈은 골수부전에 의한 범혈구감소증, 동반되는 다양한 선천성 기형, 염색체 불안정성 그리고 백혈병이나 골수이형성증후군 등 다른 혈액종양 질환과의 연관성을 특징으로 하는 상염색체 열성으로 유전되는 질환이다.¹⁻³⁾ Fanconi 빈혈은 표현형이 매우 다양하여 환자의 25~50%에서는 선천성 기형이 동반되지 않

기도 하며⁴⁾ 범혈구감소증이 나타나는 시기도 다양하여 진단이 늦어지는 어려움이 있다. Fanconi 빈혈을 진단하기 위해서는 염색체가 자발적으로 또는 diepoxybutane (DEB)이나 mytomicin C (MMC)에 의하여 파괴되는 특징을 이용한 염색체 절단검사(chromosome breakage test)가 사용되고 있다.^{5,6)} 이는 일반적으로 말초혈액 림프구를 사용하고 있지만 체세포섞임증(somatic mosaicism)이 있는 경우, 말초혈액 림프구로는 진단이 어려워 Fanconi 빈혈이 의심되는 임상 양상

접수 : 2007년 9월 26일, 수정 : 2008년 2월 11일

승인 : 2008년 2월 17일

교신저자 : 김선영, 대전시 중구 문화로 33

☎ 301-721, 충남대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 042-280-7252, Fax: 042-255-3158

E-mail: sunyoung@cnuh.co.kr

Correspondence to : Sun Young Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Chungnam National University

33, Munhwa-ro, Jung-gu, Daejeon 301-721, Korea

Tel: +82-42-280-7252, Fax: +82-42-255-3158

E-mail: sunyoung@cnuh.co.kr

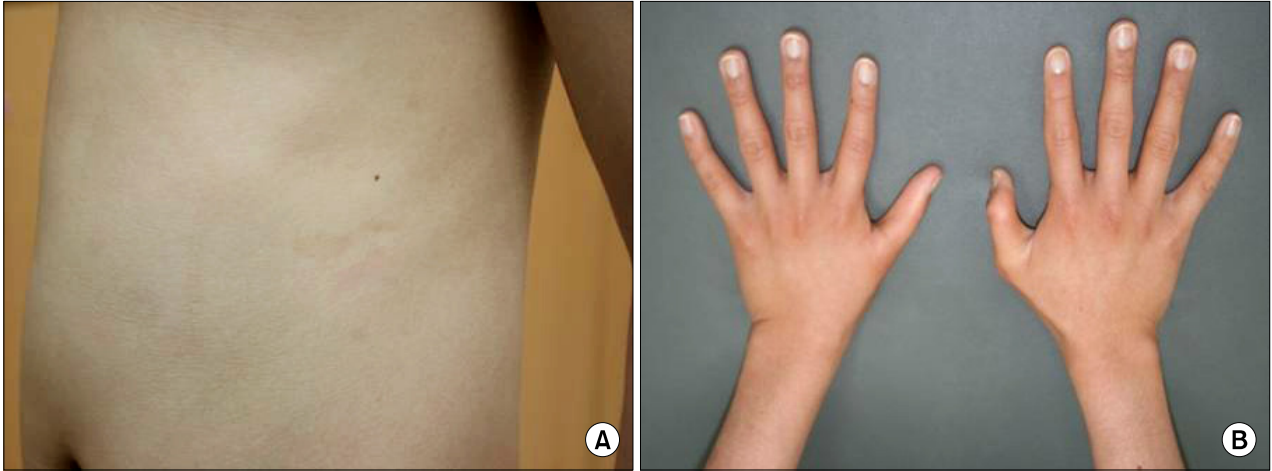


Fig. 1. (A) 4 Café au lait spots were shown in his back. (B) Thumb and ulnar anomalies are noted at both hands.

을 보이지만 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 이상 소견을 보이지 않는 경우 피부 조직의 섬유모세포와 같은 체세포(somatic cell)로 염색체 절단검사를 재시행할 것을 고려해 보아야 한다.⁷⁻⁹⁾

저자들은 선천성 기형과 범혈구감소증을 보이는 환아에서 말초혈액 림프구를 이용하여 반복적으로 시행한 염색체 절단검사에서 특이소견이 없었으나, 피부 조직의 섬유모세포를 사용한 검사에서 체세포섬유증이 의심되는 Fanconi 빈혈 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증 례

환 아: 오○○, 9세, 남아

주 소: 반복적인 비출혈

과거력: 7세에 중등도 재생불량성빈혈을 진단받았으며 진단 시 Fanconi 빈혈이 의심되어 말초혈액 림프구로 염색체 절단검사를 시행하였으나 정상으로 나왔으며, 6개월 간격으로 말초혈액 림프구에서 3회 더 시행한 염색체 절단검사에서 정상이어서 관찰 중이었다.

가족력: 환아의 부모는 외견상 정상이었고 환아의 첫째 누나는 성장 지연과 소두증을 보이고 있었으며 말초혈액검사와 염색체 검사에서 정상 소견을 보였으나 말초혈액 림프구에서 DEB와 MMC로 시행한 유도성 염색체 절단검사에서 세포당 절단계수가 2.62로 Fanconi 빈혈에 합당한 소견을 보였다. 환아의 둘째 누나는 외견상 특이 소견이 없었고 말초혈액검사와 염색체 절단검사에서 이상 소견은 없었다.

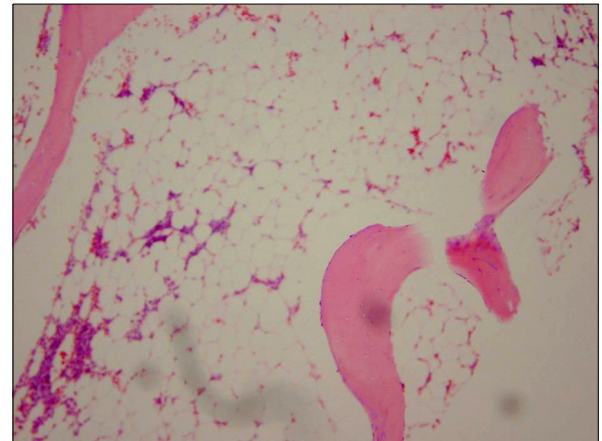


Fig. 2. Bone marrow biopsy shows markedly reduced hematopoiesis and increased fat. The cellularity was about 10%, which was acellular for his age (H&E stain, $\times 100$).

이학적 소견: 입원 당시 체온은 37.1°C, 맥박 102회/분, 호흡수 26회/분, 혈압 120/80mmHg이었다. 계통 문진상 환아는 피로감을 호소하였으나 호흡곤란, 빈호흡, 현기증 등의 증상은 없었다. 진찰 소견상 체중 20.5kg (3 percentile 미만), 신장 119cm (3 percentile 미만), 머리둘레 50cm (3 percentile 미만)로 왜소하였으며 소두증을 보였다. 결막은 약간 창백하였고 경부 림프절종대는 없었으며 흉부 청진소견상 심음과 호흡음은 정상이었다. 복부는 부드러웠고 압통이나 촉진되는 종물은 없었으며 간비대와 비비대도 없었고 장음은 정상이었다. 엄지와 요골의 기형이 관찰되었고 고환의 크기가 작았으며, 등과 목의 피부에 Café au lait spot이 4개 관찰되었으며, 출혈반은 관찰되지 않았다(Fig. 1).

검사실 소견: 입원 당시 시행한 말초혈액검사에서 혈색소 9.5g/dL, 적혈구용적률 27.3%, 백혈구 5,560/ μ L (호중구 57%, 림프구 37%, 단구 6%) 혈소판 32,000/ μ L였으며 교정 망상적혈구 1.73%, 프로트롬빈 시간은 12.0초, 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간은 30.6초였다. 혈액화학 검사상 총단백질 6.9g/dL, 알부민 4.6g/dL, aspartate aminotransferase (AST) 24IU/L, alanine aminotransferase (ALT) 15IU/L, 총빌리루빈 0.57mg/dL, 혈액요소질소 8.0mg/dL, 크레아티닌 0.73mg/dL, LDH 475IU/L이었고 혈청 전해질은 모두 정상범위였으며 소변검사도 특이소견이 없었다. 골수의 세포충실도는 약 10%로 저세포성 골수 소견을 보였으며(Fig. 2), 염색체 검사는 46,XY로 정상이었다. 환자의 혈액 3mL를 sodium heparin이 든 튜브에 채혈하여 잘 혼합한 후 이중 0.3mL씩을 배양액이 들어있는 플라스크 2개에 넣어 37°C, 5% CO₂ 부란기에서 72시간 동안 배양하여 수확 2시간 전에 colcemid의 최종 농도가 0.05 μ g/mL이 되도록 첨가하여 슬라이드를 제작한 후 Giemsa 염색을 하여 시행하는 말초혈액 림프구를 이용한 자발적 염색체 절단검사에서 특이 소견은 없었다. 환자는 Fanconi 빈혈이 의심되는 상태였으므로 유도성 염색체 절단 검사를 시행하였으며 이는 자발성 염색체 절단검사와 동일한 방법으로 배양한 슬라이드에 수확 48시간 전에 DEB의 최종 농도가 0.1 μ g/mL이나 MMC의 농도가 0.05 μ g/mL이 되도록 첨가하여 슬라이드를 제작하였다. 환자의 유도성 염색체 절단검사에서 50개의 중기세포 중 염색체 절단이 의심되는 6개의 부위가 관찰되었으나 세포당 절단계수(breakage/cell)는 0.12로 진단 범위에 해당하지는 않았으며(정상범위 \leq 0.12),¹⁰⁾

정상 대조군은 0.1 미만으로 나타났다. 환아에서 피부 조직의 섬유모세포로 DEB를 이용한 유도성 염색체 절단검사를 시행하였으며 이는 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사와 방법은 유사하지만 DEB 최종 농도를 0.01 μ g/mL로 하거나 MMC의 농도를 0.005 μ g/mL로 하는 것이 다르다. 환아의 경우 50개의 중기세포 중 29개의 부위에서 주절단과 부절단된 소견을 보여 세포당 절단계수는 0.58로 Fanconi 빈혈을 의심할 수 있었으며(Fig. 3) 정상 대조군은 0.1 미만으로 나타났다.

치료 및 경과: 환아는 범혈구감소증이 있으나 수혈 요구량은 없는 상태이며, 환아의 누나는 말초 혈액검사상 특이 소견 없으며 현재 추적 관찰 중이며 조혈모세포이식을 고려중이다.

고 찰

Fanconi 빈혈은 상염색체 열성으로 유전되는 질환으로 범혈구감소증과 함께 약 2/3의 환자들에서 뚜렷한 선천성 기형이 동반될 수 있는데 성장지연, café au lait 형태의 피부착색 혹은 색소결핍, 골격 이상으로 엄지와 요골 기형, 신장 기형, 소두증, 선천성 심질환 및 성선기능 감퇴증 등을 보일 수 있다.^{10,11)}

이 질환의 유병률은 전 세계적으로 100만 명당 1~5명 내외이며 추정되는 보인자는 인구의 0.3~1%에 이른다고 한다.¹²⁾ 병인은 아직 밝혀져 있지 않으나 손상된 DNA의 복원 장애가 그 원인으로 추정되고 있으며 악성 종양으로 발전하는 데 있어 상당히 높은 위험률을 가지고 있다.^{2,3)}

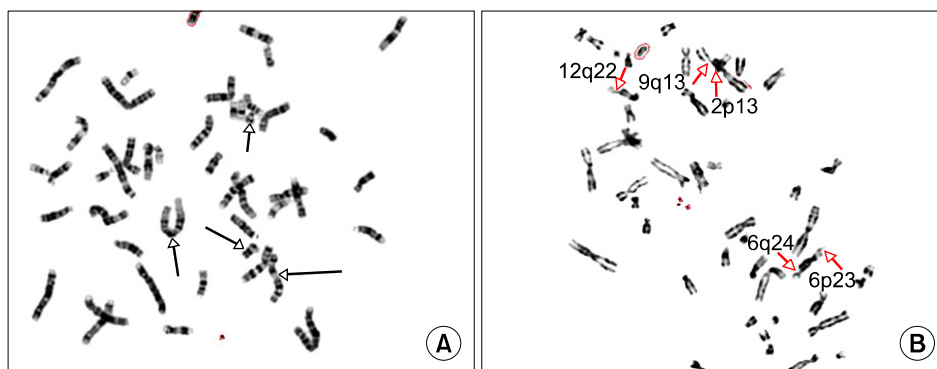


Fig. 3. Cytogenetic findings of induced chromosome breakage test with DEB (diepoxybutane). (A) No chromatid breakage is noted in peripheral blood lymphocyte culture. (B) Open arrowheads indicate chromatid breakages in skin fibroblast culture. We studied 50 cells from MMC and DEB stress test in this patient. Major and minor breaks (total breaks/cell: 0.58) were observed, especially in DEB stress test. These results were significantly different compared with a parallel control and exceed the normal limits.

Fanconi 빈혈로 진단된 환자들은 출생 당시 말초혈액 소견이 대부분 정상이나 5세에서 10세 경, 평균 7세에 범혈구감소증이 나타나기 시작하여 20세에는 84%에서 나타나게 되고, 40세까지 급성골수성백혈병이나 골수이형성증후군 등에 이환될 확률이 98%이며 이로 인해 사망할 확률은 81%에 이른다.¹³⁾ 또한 45세까지 두경부와 항문, 식도, 질, 잇몸, 하인두 등에 편평세포상피암이 발생할 확률도 30%에 이른다고 한다.⁹⁾

Fanconi 빈혈은 그 표현형이 매우 다양하여 환자의 25~50%에서는 선천성 기형이 동반되지 않기도 하고 범혈구감소증의 발병시기가 1.5세에서 22세까지 다양하게 나타나기 때문에 임상적으로 진단하기가 매우 어렵다.^{3,4)} 또한 혈액학적으로 비슷한 소견을 보이는 후천성 재생불량성빈혈과 정확한 감별진단이 중요한데, Fanconi 빈혈의 경우 후천성 재생불량성빈혈의 치료제로 쓰이는 면역억제치료제 antithymocyte globulin이나 cyclosporine 등에 대부분 반응하지 않아 조혈모세포이식이 유일한 치료이고, 조혈모세포이식 시에 전 처치과정도 후천성 재생불량성빈혈과 차이가 있기 때문에 반드시 정확한 감별진단과 확진이 필요하다.¹⁴⁾

Fanconi 빈혈의 진단에 널리 이용되고 있는 염색체 절단검사는 원리와 방법에 따라 자발성 염색체 절단을 분석하는 것과 배양 도중에 Fanconi 빈혈 세포에 민감한 화학 물질을 첨가하여 유도성 염색체 절단을 분석하는 방법이 있다. 그러나 1989년 Auerbach 등⁶⁾의 Fanconi 빈혈이 의심되는 310명을 대상으로 실시한 연구에서 자발성 염색체 절단의 빈도가 Fanconi 빈혈군 202명에서는 0.02에서 1.90로 평균 0.27이었고, Fanconi 빈혈이 아닌 군 108명에서는 0.00에서 0.12로 평균 0.02라고 보고하면서 두 군 간의 자발성 염색체 절단의 빈도 차이가 통계적 의의가 없어 자발성 염색체 절단검사만으로는 Fanconi 빈혈의 진단에 유용하지 않다고 하였다. 유도성 염색체 절단검사는 Fanconi 빈혈 환자의 염색체가 방사선 및 여러 가지 알킬화 약물(alkylating agent)에 매우 취약하여 DNA 손상에 의해 염색체 파열을 초래한다는 특성이 밝혀진 후로, 환자의 염색체를 DEB나 MMC, nitrogen mustard와 같은 물질에 노출시킨 후 염색체의 절단 정도를 측정하여 Fanconi 빈혈을 확인하는 방법으로 현재 가장 유용하게 사용되고 있다.^{1,5,6)} 염색체 절단검사가 가능한 세포로는 말초혈액의 림프구, 피부 조직의 섬유모세포, 양수와 융모막의 태아세포들이 있으며 말초혈액 림프구를 이용한 검사가 현재 가장 널리 사용되고 있다.^{6,10)}

본 증례의 경우처럼 범혈구감소증을 보이면서 Fanconi 빈혈이 의심되는 선천성 기형이 동반되었으나, 말초혈액 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 진단기준보다 낮은 세포당 절단계수를 보이는 경우가 드물게 있는데 이때에는 반드시 피부 조직의 섬유모세포를 이용한 재검사가 시행되어야 한다. 그 이유는 Fanconi 빈혈 환자의 15%에서는 말초혈액에서 조혈모세포의 변이로 인해 체세포섬유증을 가지게 되는데 이러한 환자들에서는 MMC나 DEB에 민감한 세포와 내성 세포가 공존하기 때문에 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 음성 반응을 보일 수 있으나, 섬유모세포는 체세포이므로 이러한 경우라도 양성 반응을 보일 수 있기 때문이다.⁷⁻¹⁰⁾ 섬유모세포를 이용한 유도성 염색체 절단검사는 말초혈액을 이용한 검사와 동일한 방법으로 이루어지나, 섬유모세포의 DEB에 대한 민감도가 말초혈액 림프구보다 높아 10배 낮은 농도의 DEB나 MMC를 첨가한다는 점이 다르다.¹⁰⁾ 따라서 림프구를 이용한 염색체 절단검사보다 더 진단에 예민한 방법이 될 수 있다.

Fanconi 빈혈이 아닌 경우에는 자발성 및 유도성 염색체 절단검사에서 절단된 염색체가 거의 관찰되지 않기 때문에 본 증례와 같이 진단 기준에 맞지 않는 경우라도 다수의 염색체 절단이 관찰되는 경우에는 체세포섬유증을 염두에 두어야 한다.¹⁰⁾ 체세포섬유증을 보이는 Fanconi 빈혈 환자들의 경우 임상 증상도 체세포섬유증의 정도에 따라 미약하게 나타날 수 있으며 증상이 나타나는 시기도 늦어질 수 있다.^{9,15)} Fanconi 빈혈이 체세포섬유증인 경우 확진이 어려운데 이러한 경우 Auerbach 등⁶⁾은 임상 증상으로 Fanconi 빈혈일 가능성에 대한 단순화 점수 체계(probability of having Fanconi anemia based on the simplified score)를 제안한 바 있다. 이에 의하면 전체 점수는 -2에서 6까지로 나뉘는데 점수가 4 이상인 경우 유도성 염색체 절단검사에서 양성을 보이거나 그 이하에서는 음성을 보일 수도 있다고 하였다. 본 환자의 경우 성장 지연, Café au lait spot, 학습 장애, 혈소판감소증, 엄지와 요골 기형이 있어 점수가 +3에 해당하는데 이러한 경우 Fanconi 빈혈일 가능성은 92%이다⁶⁾. 또한 점수가 0~1인 경우는 30%가 유도성 염색체 절단검사에서 양성으로 나타났는데, 이는 임상 증상이 다양하지 않더라도 Fanconi 빈혈로 진단될 수 있음을 의미한다.⁶⁾ 환자의 첫째 누나와 같은 경우처럼 성장 지연이 있어 점수는 +1인데 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 세포당 절단계수는 2.62로 Fanconi 빈혈이 진단된 경우도 있을

수 있다. 따라서 Fanconi 빈혈의 진단에 있어 임상 증상과 유도성 염색체 절단검사의 결과를 같이 고려해야 할 것이다.

Fanconi 빈혈은 조혈모세포이식만이 유일한 완치를 위한 치료가 될 수 있는데 체세포수입증을 가지는 Fanconi 빈혈 환자들에서는 조혈모세포이식을 시행한 경우 거부 반응의 위험이 높다고 한다.¹⁵⁾ 이는 Fanconi 빈혈 환자들이 알킬화 약물에 민감하기 때문에 전 처치 과정이 다른 질환들에서보다 경감된 강도로 시행되는데 체세포수입증이 있는 경우 전 처치 제제에 내성을 보이는 세포가 같이 존재할 수 있기 때문이며 이로 인해 거부 반응이 잘 일어나게 되어 주의를 요한다.¹⁵⁾

범혈구감소증을 보이는 환자가 임상적으로 Fanconi 빈혈이 의심되나 말초혈액 림프구를 이용한 염색체 절단검사에서 특이 소견이 없는 경우 반드시 피부 조직의 섬유모세포에서 염색체 절단검사를 시행하여 확인해 주어야 할 것이다. 그 이유는 유도성 염색체 절단검사에서 림프구를 이용했을 때 이상 소견이 없더라도 체세포수입증이 있는 경우에는 체세포인 섬유모세포를 이용한 경우 의미 있는 결과가 나올 수도 있기 때문이다. 따라서 Fanconi 빈혈이 의심되는 임상 증상을 보이는 환자의 경우 피부 조직의 섬유모세포를 이용한 유도성 염색체 절단검사를 시행하는 것이 필요하다.

요 약

Fanconi 빈혈은 다양한 선천성 기형, 골수부전에 의한 범혈구감소증, 그리고 백혈병이나 다른 고형암과의 연관성을 특징으로 하는 상염색체 열성으로 유전되는 질환이다. 이 질환의 표현형은 매우 다양하여 범혈구감소증이 나타날 때까지 진단이 늦어지는 경우가 많으며, 임상 증상만으로 진단하기에는 어려움이 많다. 최근에는 Fanconi 빈혈에서 보이는 염색체 불안정성, 특히 알킬화 약제에 민감한 특징을 이용한 유도성 염색체 절단검사가 진단에 이용되고 있다. 이러한 특징을 보이는 세포로는 말초혈액 림프구, 피부의 섬유모세포, 양수와 용모막의 태아세포들이 있으며 진단에 이용할 수 있다. 그러나 체세포수입증이 있는 Fanconi 빈혈 환자들의 말초혈액 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 음성 반응을 보일 수 있어 진단하기 어려운 경우가 있는데 이러한 경우 즉, 임상적으로 Fanconi 빈혈이 의심되나 말초혈액 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 특이소견이 없는 경우에는 반드시 피부 조직 섬유모세포를 이용한 재검사를 시행하

여야 한다. 섬유모세포는 체세포이므로 이러한 경우라도 양성 반응을 보일 수 있기 때문이다.

저자들은 말초혈액 림프구를 이용한 유도성 염색체 절단검사에서 특이소견이 없었으나, 피부 조직의 섬유모세포를 이용한 검사에서는 의미 있는 결과를 확인하여 Fanconi 빈혈을 진단한 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

- 1) Fanconi G. Familial constitutional panmyelocytopenia, Fanconis anemia (F.A.).I. Clinical aspects. *Semin Hematol* 1967;4:233-40.
- 2) Auerbach AD, Allen RG. Leukemia and preleukemia in Fanconi anemia patients. A review of literature and report of International Fanconi Anemia Registry. *Cancer Genet Cytogenet* 1991;51:1-12.
- 3) Alter BP. Fanconi's anemia and its variability. *Br J Hematol* 1993;85:9-14.
- 4) Auerbach AD, Alder B, Chaganti RS. Prenatal and postnatal diagnosis and carrier detection of Fanconi anemia by cytogenetic method. *Pediatrics* 1981;67:128-35.
- 5) Auerbach AD. Fanconi anemia diagnosis and the diepoxybutane (DEB) test. *Exp Hematol* 1993;21:731-3.
- 6) Auerbach AD, Rogatko A, Schroeder-Kurth TM. International Fanconi Anemia Registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity. *Blood* 1989;73:391-6.
- 7) Mankad A, Taniguchi T, Cox B, et al. Natural gene therapy in monozygotic twins with Fanconi anemia. *Blood* 2006;107:3084-90.
- 8) Gregory JJ Jr, Wagner JE, Verlander PC, et al. Somatic mosaicism in Fanconi anemia: evidence of geneotypic reversion in lymphohematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:2532-7.
- 9) Bagby GC, Alter BP. Fanconi anemia. *Semin Hematol* 2006;43:147-56.
- 10) Auerbach AD. Diagnosis of Fanconi anemia by Diepoxybutane analysis. *Current Protocols in Human Genetics* 2003;37:1-15.
- 11) Taniguchi T, D'Andrea AD. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress. *Blood* 2006;107:4223-33.
- 12) Joenje H, Patel KJ. The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anemia. *Nat Rev Genet* 2001;2:446-57.
- 13) Tischkowitz MD, Hodgson SV. Fanconi anemia. *J Med Genet* 2003;40:1-10.
- 14) Cho B, Jeong DC, Kim HK, Kook H, Whang TJ. A case of allogeneic bone marrow transplantation for Fanconi anemia using low-dose cyclophosphamide/

TN1 as conditioning regimen. Korean J Hematopoietic Stem Cell Transplant 1997;2:155-9.

15) D'Andrea AD, Grompe M. Molecular biology of

Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy. Blood 1997;90:1725-36.
