

VWF 유전자 R816W 동형접합자 돌연변이가 확인된 네팔인 여성 Type 2N von Willebrand 병 1예

이숙영¹ · 남은미² · 이순남² · 김희진³ · 홍기숙¹

이대동대문병원 진단검사의학과¹ · 내과², 삼성서울병원 진단검사의학과³

A Case of Type 2N von Willebrand Disease with Homozygous R816W Mutation of the VWF Gene in a Nepalese Woman

Sook Young Lee, M.D.¹, Eun Mi Nam, M.D.², Soon Nam Lee, M.D.², Hee-Jin Kim, M.D.³, and Ki Sook Hong, M.D.¹

Departments of Laboratory Medicine¹, Internal Medicine², School of Medicine, Ewha Womans University, Dongdaemun Hospital, Seoul; Department of Laboratory Medicine & Genetics³, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

Type 2N von Willebrand disease (vWD) can be confused with hemophilia A due to decreased factor VIII levels and a bleeding tendency, and differential diagnosis is of importance for providing the optimal treatment and genetic counseling. For the accurate diagnosis of type 2N vWD, von Willebrand Factor (vWF) function tests, multimer assay and gene mutation analysis are needed. The patient was a 38-yr-old Nepalese woman with a history of bleeding manifestations from childhood, such as hemarthrosis, intramuscular hematoma, and menorrhagia. Family history revealed that her mother and elder brothers also had bleeding manifestations from childhood. When she had a laparotomy in 1991, she was diagnosed as hemophilia A with factor VIII level of 3.6% and was transfused with whole blood, factor VIII and cryoprecipitates. In June 2007, she was admitted to our hospital for further evaluation of bleeding tendency. Blood tests revealed normal CBC; bleeding time, 2 min; PT, 14.9 sec (11-14 sec); aPTT, 51.2 sec (24-38 sec); and factor VIII, 4.9% (50-150%). The prolonged aPTT was corrected by 1:1 mixing test to the levels of 106% and 84%, respectively, before and after 2 hr-incubation at 37°C. No abnormalities were found in the vWF antigen level (71.3%), ristocetin cofactor assay (130.4%), and multimer assay. Direct DNA sequencing of the VWF gene revealed homozygous missense mutation located in exon 19, c.2446C>T (p.Arg816Trp), confirming the diagnosis of type 2N vWD. (*Korean J Lab Med* 2008;28:258-61)

Key Words : Von Willebrand disease, Type 2N, R816W, Nepalese

서 론

Von Willebrand factor (vWF)는 혈관내피세포 및 거핵구에

서 합성되며, 1차 전사 산물은 2,813개의 아미노산으로 이루어져 있다[1]. 합성된 pre-pro 다량체는 pro 다량체로 가공되고, 골지체를 통과하면서 성숙 다량체가 된다[2]. 성숙 다량체는 혈관내피 Weibel-Pallade body 및 혈소판 α -granule에 저장되었다가 분비된다[1]. 대부분의 vWF는 혈장에 분포하며 중형 또는 대형이고 500 kDa에서 수천 kDa 크기인데 이것은 단백분해 효소인 ADAMTS13에 의해 조절되며, 성숙 다량체(D'D3A1A2-A3D4BC1C2) 중 A2 부분이 이 효소에 의해 분해된다[2]. vWF는 혈소판과의 상호작용을 통해 손상된 혈관이나 조직에서 1차

접 수 : 2007년 10월 24일 접수번호 : KJLM2080
수정본접수 : 2008년 5월 26일
게재승인일 : 2008년 6월 10일
교신저자 : 홍 기 숙
우 158-710 서울시 양천구 목동 911-1
이대목동병원 진단검사의학과
전화 : 02-2650-5320, Fax : 02-2650-5091
E-mail : kshong@ewha.ac.kr

지혈과정을 조절하고, 혈소판 부착과 응집 시작을 매개하는 부착단백질이며, 응고인자 VIII과 결합하여 그 안정성에 기여하고 섬유소 생성에 간접적으로 영향을 미친다[2]. 또한 vWF에는 응고인자 VIII, 혈소판 수용체 GPIb, 혈소판 수용체 GPIIb-IIIa 및 헤파린, 콜라겐과 반응할 수 있는 부위가 있어서 vWF의 이량체화 및 다량체화에 관여하게 된다[1, 2].

Von Willebrand disease (vWD)는 출혈 경향의 가장 흔한 원인 질환으로서, 인종과 성별에 관계 없이 약 1% 정도의 유병률을 보인다[1]. vWD는 type 1, 2, 3으로 분류되며 type 1과 3은 vWF 항원량이 감소되고, type 2는 기능적 이상을 보이며 A, B, M, N으로 세분할 수 있다[1, 2]. 이 중 type 2N은 응고인자 VIII과 vWF 간의 결합력이 저하되는 것이 특징으로 vWF 항원검사, ristocetin 보조인자검사, 다량체검사 등의 기능검사에서 대개 정상 소견을 보이며, 응고인자 VIII이 중등도에서 매우 심한 정도까지 감소하면서 지혈 장애가 나타나므로 A형 혈우병과 감별하기 어렵다[2]. 성염색체 열성 질환인 A형 혈우병과 달리 vWD는 상염색체 유전 양상을 보이므로 이 두 질환을 감별하기 위해서는 환자의 과거력, 특히 가족력을 반드시 검토해야 하고, 유전자 돌연변이 검사로 질환 특이 유전자의 이상을 확인하면 확진이 가능하다. 본원에서는 기존에 A형 혈우병으로 진단받은 네팔인 38세 여자 환자에서 각종 응고검사 및 vWF 기능검사와 유전자 돌연변이 검사를 이용하여 type 2N vWD로 최종 진단한 예를 보고하고자 한다.

증 례

환자는 38세 여자로서 소아 때부터 출혈 증상이 있었으며 발목과 고관절에 혈관절증 및 외상 후 심부근육혈종과 상처지연 등의 과거력이 있었다. 환자의 어머니와 남자 형제들이 환자와 같이 소아 때부터 출혈 경향이 있다고 하였다. 환자는 불임으로

치료를 받으면서 1991년 소파수술을 받았으며 이때 혈복강이 있었고, 2차례 자궁 외 임신으로 개복하여 난관 수술을 받았는데 출혈이 지속되어 전혈 2단위를 수혈 받았다. 1995년에는 응고인자 VIII과 동결침전제제를 수혈받으면서 난소낭종 흡인술을 시행하였다. 1998년 인도에서 왼쪽 자궁내막 낭종흡인 및 자궁내막생검을 위해 복강경을 시행하면서 응고인자 VIII을 수혈 받았다. 당시 환자의 출혈시간은 2분 3초로 정상이었으며, 프로트롬빈시간은 15.1초, 활성화부분 트롬보플라스틴시간은 53초로 연장되어 있었고, 혈소판 응고검사에서 ristocetin에 대한 반응이 정상이었다. 이와 같은 검사 결과를 토대로 vWD 아형 혹은 A형 혈우병으로 의심되었는데, 동결침전제제를 투여하고 난 뒤 2, 6, 24시간에 측정한 응고인자 VIII의 농도가 8.4%, 3.5%, 2.8%로 교정되지 않는 경향을 보여 A형 혈우병으로 진단하였다. 본원 내원 약 4개월 전에도 오른쪽 하지에 근육내출혈이 있어 응고인자 VIII을 수혈받았으며 보다 정확한 진단과 치료를 위해 2007년 6월 본원 혈액종양 내과에 진료 의뢰되었다. 말초혈액 백혈구 $8,600/\text{mm}^3$, 혈색소 12.8 g/dL , 헤마토크리트 37.7%, 혈소판 $320,000/\text{mm}^3$ 이었으며, 출혈시간 2분(참고치 1-4분)으로 정상이었고, 프로트롬빈시간 14.9초(참고치 11-14초), 활성화 부분트롬보플라스틴시간 51.2초(참고치 24-38초)로 연장되어 있었다. 응고인자 VIII은 4.9% (참고치 50-150%)로 매우 감소되어 있었으며 혈장혼합검사에서 연장된 활성화 부분트롬보플라스틴시간이 37°C 향온 전과 2시간 향온 후 각각 106%, 84%로 교정되었다.

환자의 검사 결과 및 가족력상 응고인자 VIII이 매우 감소되어 있으나 뚜렷한 성염색체 열성 유전양상을 보이지 않고 여성 혈우병 환자는 무척 드물기 때문에 vWD 가능성이 있어, vWF 기능검사와 유전자 돌연변이 검사를 추가로 시행하였다. vWF 항원검사 71.3% (참고치 47-197%), ristocetin 보조인자검사 130.4% (참고치 52-154%) 및 vWF 다량체검사 결과 정상범위였다.

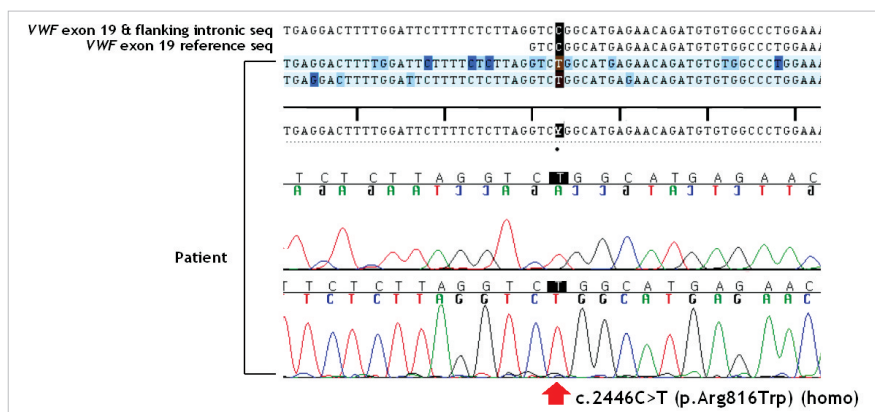


Fig. 1. VWF gene mutation analysis by direct sequencing revealed that the patient was homozygous for a missense mutation, c.2446C>T (p. Arg816Trp), which is a known mutation causing von Willebrand disease, type 2N.

말초혈액 백혈구에서 genomic DNA를 추출하여 type 2N vWD와 연관이 있는 돌연변이의 호발부위로 알려져 있는 exon 18-26을 표적으로 직접염기서열 분석을 하였다. 검사 결과 VWF 유전자의 2,446번 염기서열이 C에서 T로 바뀌면서 816번째 아미노산인 아르기닌이 트립토판으로 치환되는 과오돌연변이가 동형접합자 형태로 관찰되었으며(c.2446C>T [p.Arg816Trp]) (Fig. 1), 이는 기존에 보고된 돌연변이로서 상염색체 열성인 type 2N vWD로 확진할 수 있었다.

고 찰

VWF 유전자는 12번 염색체 단완에 존재하며, 52개의 exon으로 이루어져 있다[2]. Type 2N vWD와 연관된 유전적 결함은 대부분 응고인자 VIII 결합 부위인 D' 영역을 관장하는 exon 18-20에 있는 것으로 알려져 있다[2]. 환자는 vWF와 응고인자 VIII의 친화력이 매우 저하되므로 응고인자 VIII 역시 감소되지만, vWF 항원검사, ristocetin 보조인자검사 및 다량체검사에서 정상 혹은 거의 정상에 가까운 값을 보이며, 혈소판 기능검사 및 출혈시간 역시 정상 결과를 보인다[1, 2]. 이러한 특징 때문에 type 2N 환자들은 종종 type 1이나 증상이 심하지 않은 A형 혈우병으로 오진되는 사례가 있으며, 본 증례의 환자도 기존에 A형 혈우병으로 진단받고 응고인자 VIII을 수혈 받았었다. 국내에서 type 2N vWD로 확진된 사례는 보고된 적이 없으며, 송 등의 연구에서 vWD 40예 중 10예(25%)가 type 2로 추정되었고 이 중 type 2N으로 의심되는 것이 2예(5.0%) 있었으나 유전자 검사에서 특이적인 돌연변이는 발견되지 않았다[3]. 강 등의 연구에서는 출혈경향이 있고 vWD가 의심되었던 환자 16예 중 2예(12.5%)를 vWF 항원검사와 ristocetin 보조인자검사 및 다량체검사가 정상인데 반해, 응고인자 VIII이 감소되어 있고 여자인 점으로 보아 A형 혈우병이거나 type 2N vWD일 것으로 추정하였다. 그러나 응고인자 VIII 결합검사 및 vWF 유전자 돌연변이 검사를 시행하지 못하여 확진은 할 수 없었다. 저자들은 가족력이 확실치 않으며 여성 혈우병 환자로 의심되는 경우 분자생물학적 검사를 추가해야 할 필요가 있다고 하였다[4]. Schneppenheim 등은 혈우병으로 진단받은 177명과 type 1 vWD로 진단받은 199명의 환자를 응고인자 VIII 결합 검사를 통해 재평가하였는데 이 중 13명(3.4%)이 type 2N vWD로 의심되었으며, 유전자 돌연변이 검사로 확진하였고[5], Nesbitt 등은 경증 A형 혈우병 환자 32명과 그 보인자 1명 및 type 1 vWD 환자 36명에서 응고인자 VIII 결합검사를 시행하였더니 이 중 6명에서 감소하여 type 2N vWD로 최종 진단한 사례를 보고하여[6] type

2N vWD 환자가 A형 혈우병 및 type 1 vWD로 오진될 소지가 있음을 알 수 있었다.

Miller 등은 출혈경향이 있으면서 응고인자 VIII 농도가 낮은 환자와, 경증 A형 혈우병 진단을 받은 남아의 여자 형제의 정확한 진단을 위해 혈액 응고검사 및 vWF 기능검사와 응고인자 VIII 결합검사를 시행하였다[7]. 또 vWD와 A형 혈우병 진단이 가능한 유럽 12개국과 미국, 이스라엘, 일본의 검사실들을 대상으로 시행한 두 가지 설문조사에서도 X 염색체 연관성이 확실치 않으면서 응고인자 VIII 농도가 낮은 환자에서 응고인자 VIII 결합력 감소를 보이는 환자가 58명(4.6%)이었으며, 응고인자 VIII 결합 검사를 시행한 100명의 환자 중 중등도 이상 감소한 결과를 보여 type 2N vWD로 진단한 경우가 69건이라고 보고하였다[8]. 이와 같이 type 2N vWD 진단에 응고인자 VIII 결합 검사가 유용하지만 검사에 필요한 vWF 등의 직접 제조, 방사성 표지자 사용, 4일 이상 소요되는 검사시간 등 제한점이 있어 통상 검사로 시행하기 어렵다[9]고 하였으며, 본 증례 환자에서도 이 검사는 시행하지 못하였다.

Type 2N vWD와 연관된 유전자 돌연변이 중 본 증례 환자와 같이 R816W 돌연변이를 갖고 있는 경우는 Caron 등의 연구에서 동형접합자가 1예(6.7%), Mazurier 등의 연구에서 동형접합자가 3예(7.9%), 복합이형접합자가 5예(8.6%) 보고되었다[10]. 이외에 Simon 등은 경증 A형 혈우병 환자 48명 중 6명(12.5%)에서 type 2N에 특이적인 유전자 돌연변이 R854Q, H817Q, R816W를 발견하였으며 이들 중 50%는 R854Q로 가장 많은 수를 차지하였다[11].

본 증례 환자는 여성이고 과다월경의 과거력이 있으며 A형 혈우병으로 진단받았는데, 인도 뉴델리 지역 966명의 유전성 출혈경향 환자를 대상으로 한 연구를 보면 vWD가 8.5%인데 반해 A형 혈우병이 42.4%로 가장 많은 수를 차지하고 있어[12] 이 A형 혈우병 환자 중에는 type 2N vWD 환자가 포함되어 있을 가능성도 있으리라 생각된다. 이 지역에서는 vWD 중 type 1이 21.3%, type 2가 44.7%, type 3가 34.5%로 type 2와 3가 다수를 차지하였으며[13, 14], 이러한 현상은 인도 지역의 풍습상 동일 부족 및 근친결혼이 흔하기 때문인 것으로 생각된다[15]고 하였다. 본 증례 환자 가족력상 환자의 어머니 역시 출혈경향의 병력을 가지고 있었던 점으로 미루어 상염색체 열성질환의 보인자가 아니라, 환자에게 물려준 R816W와 또 한 개의 돌연변이를 가진 환자였을 것으로 추정된다. 환자 외 추가 가족검사는 시행되지 못하였다.

위의 결과를 종합해볼 때, 본 증례 환자는 유전자 돌연변이 검사를 통해 국내 및 인도 지역을 통틀어 처음으로 R816W 돌연변

이 동형접합자로 확인되어 type 2N vWD로 확진할 수 있었다.

요 약

Type 2N von Willebrand Disease (vWD)는 응고인자 VIII 농도가 감소되고 출혈 경향이 뚜렷하여 성염색체 열성으로 유전되는 A형 혈우병으로 오진되는 경우가 종종 있어 적절한 치료 및 유전 상담을 위해 감별진단이 필요하다. 각종 von Willebrand Factor (vWF) 기능검사 및 다량체검사와 유전자 돌연변이 검사를 시행함으로써 보다 정확한 진단을 내리는데 도움이 된다. 환자는 네팔인 39세 여자로서 소아 때부터 출혈 경향을 보여 혈관질, 심부근육혈종, 불규칙한 월경주기 및 과다월경의 과거력이 있었다. 가족력상 환자의 어머니와 남자 형제들이 소아 때부터 환자와 유사한 출혈 경향이 있었다. 환자는 1991년 개복수술을 받으면서 전혈 및 응고인자 VIII과 동결침전제제를 수혈받았으며 당시 응고인자 VIII이 3.6%로 감소되어 vWD 보다는 A형 혈우병이 의심된다는 진단을 받았다. 본원에서 시행한 말초 혈액 검사는 정상이었으며, 출혈시간 2분(참고범위 2-4분), 프로트롬빈 시간 14.9초(11-14초), 활성화 부분트롬보플라스틴 시간 51.2초(24-38초)로 연장되어 있었고 응고인자 VIII이 4.9% (50-150%)로 감소되어 있었다. 혈장혼합검사에서 2시간 항은 전, 후 결과가 106%, 84%로 교정되어 응고인자 결핍이 의심되었고, vWF 항원검사 71.3%, ristocetin 보조인자 검사 130.4% 및 vWF 다량체검사 결과가 정상이었다. VWF 유전자의 직접염기서열분석법을 통한 돌연변이 검사 결과 type 2N vWD와 연관된 19번째 exon에서 2,446번째 염기서열이 C에서 T로 치환되는 알려진 과오 돌연변이(c.2446C>T [p.Arg816Trp])가 동형접합자로 관찰되어 type 2N vWD로 확진할 수 있었다.

참고문헌

- Greer JP, Rodgers GM, et al. eds. Wintrobe's clinical hematology, 11th ed, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004:1628-37.
- Michiels JJ, Berneman Z, Gadisseur A, van der Planken M, Schroyens W, van de Velde A, et al. Classification and characterization of hereditary types 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2M, 2N and 2U (unclassifiable) von Willebrand disease. Clin Appl Thromb Hemost 2006;12:397-420.
- Song J, Choi JR, Song KS. Investigation of von Willebrand factor gene mutations in Korean von Willebrand disease patients. Korean J Lab Med 2007;27:169-76. (송재우, 최종락, 송경순. 한국 von Willebrand 병 환자의 von Willebrand 인자 유전자 돌연변이 조사. 대한진단검사의학회지 2007;27:169-76.)
- Kang SH and Kim EJ. Subtypes of von Willebrand disease based on vWF multimer analysis in Korea. Korean J Pediatr Hematol-Oncol 2000;7:42-9. (강신혜 및 김은주. vWF multimer assay로 확진된 von Willebrand disease 의아형 분류. 대한소아혈액종양학회지 2000;7:42-9.)
- Schneppenheim R, Budde U, Krey S, Drewke E, Bergmann F, Lechler E, et al. Results of a screening for von Willebrand disease type 2N in patients with suspected haemophilia A or von Willebrand disease type 1. Thromb Haemost 1996;76:598-602.
- Nesbitt IM, Goodeve AC, Guillaud AM, Makris M, Preston FE, Peake IR. Characterisation of type 2N von Willebrand disease using phenotypic and molecular techniques. Thromb Haemost 1996;75:959-64.
- Miller CH, Kelley L, Green D. Diagnosis of von Willebrand disease type 2N: a simplified method for measurement of factor VIII binding to von Willebrand factor. Am J Hematol 1998;58:311-8.
- Mazurier C and Meyer D. Factor VIII binding assay of von Willebrand factor and the diagnosis of type 2N von Willebrand disease--results of an international survey. On behalf of the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. Thromb Haemost 1996;76:270-4.
- Caron C, Mazurier C, Goudemand J. Large experience with a factor VIII binding assay of plasma von Willebrand factor using commercial reagents. Br J Haematol 2002;117:716-8.
- Mazurier C, Goudemand J, Hilbert L, Caron C, Fressinaud E, Meyer D. Type 2N von Willebrand disease: clinical manifestations, pathophysiology, laboratory diagnosis and molecular biology. Best Pract Res Clin Haematol 2001;14:337-47.
- Simon D and Roisenberg I. Type 2N von Willebrand disease mutations in Brazilian individuals. Haemophilia 2004;10:473-6.
- Gupta M, Bhattacharyya M, Choudhry VP, Saxena R. Spectrum of inherited bleeding disorders in Indians. Clin Appl Thromb Hemost 2005;11:325-30.
- Gupta PK, Charan VD, Saxena R. Spectrum of Von Willebrand disease and inherited platelet function disorders amongst Indian bleeders. Ann Hematol 2007;86:403-7.
- Gupta PK, Ahmed RP, Sazawal S, Choudhry VP, Saxena R. Relatively high frequency of VWD types 3 and 2 in a cohort of Indian patients: the role of multimeric analysis. J Thromb Haemost 2005;3:1321-2.
- Pasi KJ. Von Willebrand's disease -- awareness influences diagnosis. Indian J Med Res 2005;121:628-30.