



신경섬유종증 1형: 두개의 새로운 돌연변이에 대한 보고

Neurofibromatosis Type I: Case Reports of Two Novel Mutations

이호종 · 김웅전 · 김우신 · 고영진 · 박 건 · 장숙진 · 강성호

Ho Jong Lee, M.D., Ung Jun Kim, M.D., Woo Shin Kim, M.D., Young Jin Ko, M.D., Geon Park, M.D., Sook Jin Jang, M.D., Seong-Ho Kang, M.D.

조선대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Chosun University College of Medicine, Gwangju, Korea

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is characterized by multiple café-au-lait spots, axillary and inguinal freckling, Lisch nodules in the iris, and fibromatous tumors of the skin. We performed direct sequencing of 58 exons comprising the *NF1* gene along with the associated intronic regions in suspected cases of NF1. We have detected two different novel frameshift mutations in two cases, respectively. The first case involved a 59-year-old male presenting with neurofibromas and a positive family history of NF1. The patient presented with leiomyomas of the iliac bone and right adrenal gland, and an astrocytoma of the left cerebellum. The mutation in this patient was caused by heterozygous deletion of base A at nucleotide position 3108 (c.3108delA; p.Lys1036Asnfs*14). The second case involved a 25-month-old girl presenting with multiple café-au-lait spots and a positive family history of NF1. The mutation in this patient was caused by heterozygous deletion of base G at nucleotide position 7623 (c.7623delG; p.Ile2541Serfs*7). These novel mutations may be useful for advanced genetic counseling and clinical management of patients with NF1 and their families.

Key Words: Neurofibromatosis type I, *NF1* gene, Frameshift mutation

서론

신경섬유종증은 인종, 성별과 관계없이 2,500에서 3,000명당 한 명씩 발생하는 가장 흔한 상염색체 우성 질환 중 하나이다[1]. 신경섬유종증은 제1형(NF1)과 제2형(NF2)으로 나뉘게 되며, 제1형은 주로 말초신경에 종양이 많이 발생하기 때문에 말초신경형이라고도 하며, 제2형은 중추신경이나 청신경에 주로 발생하여 중추신경형이라고도 한다. 신경섬유종증 1형은 피부의 다발성 신경섬유종, 피부에 나타나는 밀크커피색 반점, 겨드랑이와 서혜부의 주근깨,

홍채의 Lisch 결절 등을 특징으로 한다[2, 3]. 이 질환의 약 50%는 *NF1* 유전자의 상염색체 우성에 의한 유전병으로 발생하고, 나머지 50%는 산발적으로 일어나는 돌연변이에 의해 생긴다[4]. 저자들은 국내에서 *NF1* 유전자의 염기서열분석에서 새로운 틀이동돌연변이(frameshift mutation)가 관찰된 2예를 보고하고자 한다.

증례

환자1은 59세 남자환자로 내원 40년 전부터 전신에 발생한 신경섬유종을 보였다. 환자 아버지가 신경섬유종증 1형이 있었다고 조사되었다. 그 외 가족에 대한 신경섬유종증 유전자 검사는 진행하지 못하였다. 환자는 내원 15년 전 오른쪽 엉덩이에 7 cm의 양성 종양(Fig. 1A), 내원 11년 전 오른쪽 부신에 양성종양(Fig. 1B), 내원 10년 전 좌측 소뇌에 털모양별아교세포종(pilocytic astrocytoma)(Fig. 1C)으로 각각 수술하였다. 환자는 가족력과 신경섬유종을 이유로 신경섬유종증 1형을 의심하고 있었다. DNA 추출은 DNA DSP Mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany)을 이용하였고, 증합효소연쇄반응은 *NF1* 유전자 전체 엑손 58개와 인접 인트론에 대하여 PalmTaqTm High-Speed PCR Kit (Aharm Biosystem, Seoul, Korea)를 사용하였다. 증합효소연쇄반응 산물은 Biomek CleanSEQ-

Corresponding author: Seong-Ho Kang, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0001-9420-6701>

Department of Laboratory Medicine, Chosun University College of Medicine, 365 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 61453, Korea

Tel: +82-62-220-3254, Fax: +82-62-232 2063, E-mail: seonghomed@hanmail.net

Received: May 29, 2020

Revision received: October 7, 2020

Accepted: October 7, 2020

This article is available from <https://www.labmedonline.org>

© 2021, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

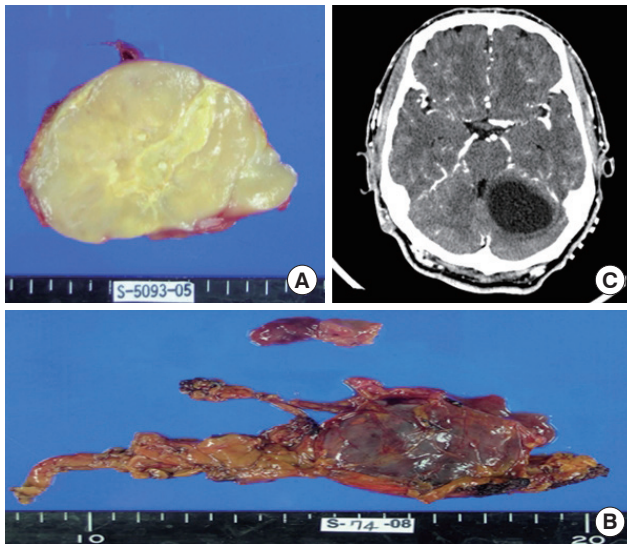


Fig. 1. Tumors observed in Patient 1. (A) Leiomyoma in the right iliac bone. (B) Leiomyoma in the right adrenal gland. (C) Pilocytic astrocytoma in the left cerebellum.

800rxn (Beckman Coulter, Miami, FL, USA)로 정제하였고, Big-Dye terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 염기서열 반응을 시행하였다. 획득된 염기서열은 sequencer software v5.3 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA)을 이용하여 분석하였고, 참고 염기서열을 참조하여 이상유무를 확인한 후 Human Gene Mutation Database (HGMD), Leiden Open Variation Database (LOVD)에서 변이를 확인하였다. 참고 염기서열은 NM_001042492.3과 NC_000017.11을 사용하였다. 병원성(pathogenic), 유사병원성(likely pathogenic), 양성(benign) 여부는 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) 가이드라인을 따랐다[5]. 염기서열분석에서 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)인 c.702G>A, c.2034G>A가 발견되었고, 새로운 염기변이인 c.3108delA (heterozygote) (p.Lys1036Asnfs*14)이 발견되었다(Fig. 2A). ACMG 가이드라인에 따르면 이 c.3108delA는 Korean Reference Genome Database (KRGDB) 인구 집단자료에서 존재하지 않고(moderate evidence of pathogenicity, PM2), neurofibromin 기능을 상실시키는 틀이동돌연변이(very strong evidence of pathogenicity, PVS1)이며, 전신의 신경섬유종과 *NF1* 유전자의 연관성(supporting evidence of pathogenicity, PP4)을 보였다. 이를 종합하면 병원성(pathogenic)으로 판단할 수 있었다[5]. 이 c.3108delA는 기준에 보고되지 않은 돌연변이이다.

환자 2는 재태연령 38주에 체중 3 kg으로 태어났다. 환아는 25개월 여아로 출생 시부터 존재한 5 mm 이상의 밀크커피색 반점이 6개 이상 있었으며, 뇌 자기공명영상에서 특이소견은 관찰되지 않았다. 어머니 또한 밀크커피색 반점이 관찰되었으나 신경섬유종증

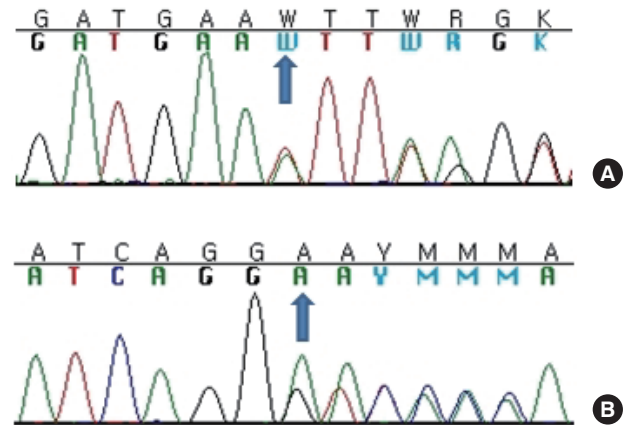


Fig. 2. Partial sequences of *NF1* showing the mutations detected in this study. (A) Patient 1, c.3108delA (p.Lys1036Asnfs*14). (B) Patient 2, c.7623delG (p.Ile2541Serfs*7). Both mutations were heterozygous. Blue arrows indicate the locations of the variants.

진단은 받지 않았다. 그 외 가족에 대한 신경섬유종증 유전자 검사는 진행하지 못하였다. 환아는 현재 갑상선기능저하증으로 하루에 levothyroxine 0.025 mg, 혈관종으로 propranolol 30 mg을 복용 중이다. *NF1* 유전자에서 SNP인 c.702G>A, c.2034G>A가 발견되었고, 새로운 염기변이인 c.7623delG (heterozygote) (p.Ile2541Serfs*7)가 발견되었다(Fig. 2B). ACMG 가이드라인에 따르면 c.7623delG는 KRGDB 인구집단자료에서 존재하지 않고(moderate evidence of pathogenicity, PM2), neurofibromin 기능을 상실시키는 틀이동돌연변이(very strong evidence of pathogenicity, PVS1)를 보였다. 이를 종합하면 유사병원성 이상으로 판단되었다[5]. 이 c.7623delG는 기준에 보고되지 않은 돌연변이이다.

고 찰

신경섬유종증 1형의 가장 흔한 원인 유전자는 *NF1* 유전자로 17번 염색체(17q11.2)에 위치한다. 이 유전자는 DNA 크기가 350 kb 이상이며, 300 kDa의 단백질을 암호화하고 있다[6]. 이 유전자는 2,818개의 아미노산으로 이루어진 neurofibromin 단백질을 만드는 역할을 한다[2]. Neurofibromin은 말이집(myelin sheath)을 생성하는 작용을 하며, RAS proto-oncogene을 억제하는 기전으로 종양 억제 단백질의 역할을 한다. *NF1* 유전자에 변이가 발생하면 neurofibromin 생성이 억제되고, 이로 인해 세포분열 억제 기능이 저하되어 종양 발생이 일어나게 된다[7].

신경섬유종증 1형은 사람에서 발생하는 상염색체 우성 유전 질환 중 가장 흔하며 피부 및 신경조직에 발현한다[3]. 1988년 만들어진 진단기준에 따르면, 다음의 7가지 항목 중에서 2가지 이상을 만족하면 신경섬유종증 1형으로 진단할 수 있다[8]. 1) 6개 이상의 밀

크커피색 반점(사춘기 이전에는 직경 5 mm 이상, 사춘기 이후에는 직경 15 mm 이상), 2) 2개 이상의 신경섬유종 또는 하나의 열기상 신경섬유종, 3) 액와부와 서혜부의 주근깨, 4) 시신경교종, 5) 2개 이상의 Lisch 결절, 6) 접형골의 형성이상이나 장골의 피질이 얇아지는 것과 같은 특징적인 골병변, 7) 일차 친족에서 신경섬유종증 1형의 가족력.

신경섬유종증 1형은 개인 간, 가족 간뿐 아니라 개인의 일생에서도 시간에 따라 임상적으로 다양한 특징을 가지며, 다음에 나오는 유전자 변이와 증상만이 연관이 있는 것으로 생각된다[9]. 전체 *NF1* 유전자의 결손은 피부섬유종의 숫자 증가, 선천기형의 빈도 증가, 체세포과다증식, 얼굴의 기형 등과 관련 있고[10-12], 17번 엑손의 3염기 결실(c.2970-2972 delAAT)은 전형적인 색소특징과 관련이 있으며[13], 29번 엑손의 암호화된 1809번째 아미노산인 arginine에 영향을 미치는 과오돌연변이(missense mutation)는 밀크커피색 반점, 학습저하, 저신장, 폐동맥 협착과 관련이 있다[14, 15]. 본 두 증례의 경우 피부병변과 가족력을 통해 제1형 신경섬유종증으로 진단할 수 있었고, 본 두 환자의 증상과 유전자변이의 직접적인 관계를 찾기는 어렵다.

신경섬유종증 1형 환자의 50% 정도는 *NF1* 유전자의 산발적인 돌연변이에 의해 발생하고 현재까지 3,300여개의 돌연변이가 HGMD에 보고되어 있다[3, 16]. 한국인 339가족을 대상으로 한 250개의 변이 조사에 따르면 틀이동돌연변이 114가족(33.6%), 무의미돌연변이(nonsense mutation) 98가족(28.9%), 과오돌연변이(missense mutation) 52가족(15.3%), 짜집기돌연변이(splicing mutation) 38가족(11.2%), 큰 결손(large deletion) 24가족(7.1%), 틀내 삽입/결손(inframe deletion/insertions) 13가족(3.8%)인 것으로 조사되었다[17]. 본 증례에서 발견된 c. 3108delA (p.Lys1036Asnfs*14)과 c.7623delG (p.Ile2541Serfs*7)는 틀이동돌연변이이고, 앞에서 기술한 바와 같이 틀이동돌연변이는 한국인에서 가장 흔한 돌연변이이다.

신경섬유종증 1형의 임상적 다양성은 유전적 요인, 비유전적 요인, 확률적 요인의 조합에 의해 만들어지는 것으로 보이며, 이러한 복잡성과 다양성은 유전자 이상과 표현형의 연관성 관찰을 어렵게 만들고 있어서 진단을 더욱 어렵게 한다[18]. 비록 신경섬유종증 1형은 임상적 양상만으로 진단이 가능하나, 증상이 뚜렷하지 않은 환자 혹은 소아 환자의 경우 유전자 변이의 확인을 통해 진단할 수 있다. 특히 밀크커피색 반점이나 주근깨만 있는 환자의 경우 분자진단은 Legius 증후군과 같은 유사질환의 감별을 위해 중요하다[19]. 본 증례의 두 번째 환자의 경우, 증상이 뚜렷하지 않아 분자검사가 *NF1* 진단에 도움이 되었다.

신경섬유종증 1형의 경우, 종양의 발생이나 척추측만증, 안과 질환 등 다양한 증상을 보일 수 있기 때문에 질환을 조기에 진단하

여 환자 및 가족들의 증상과 관련된 검사를 지속적으로 시행하는 것이 중요하다. 새로운 *NF1* 변이의 보고는 신경섬유종증 1형 환자와 가족의 유전상담과 임상관리에 유용하게 사용될 수 있다. 이에 저자들은 신경섬유종증 1형 환자 2례에서 이전에 보고되지 않은 *NF1* 유전자의 돌연변이를 보고하는 바이다.

요 약

신경섬유종증 1형(*NF1*)은 피부에 나타나는 밀크커피색 반점, 거드랑이와 서혜부의 주근깨, 홍채의 Lisch 결절, 신경섬유종 등을 특징으로 한다. 신경섬유종증 1형이 의심되는 환자에서 *NF1* 유전자의 58개의 엑손과 주변 인트론에 대하여 염기서열분석을 실시하였다. 이를 통해 2명의 환자에서 병원성으로 판단되는 이전에 보고되지 않은 틀이동돌연변이를 검출하였다. 환자1은 59세 남자 환자로 신경섬유종과 가족력이 있었고, 오른쪽 엉덩이에 양성 종양, 오른쪽 부신에 양성종양, 좌측 소뇌에 별아교세포종이 발견되었고, 3108번 핵산에 A염기의 이형 결실 돌연변이(c.3108delA; p.Lys1036Asnfs*14)가 발견되었다. 환자2는 25개월 여아로 가족력과 밀크커피색 반점이 있었고, 7623번 핵산에 G염기의 이형 결실 돌연변이(c. 7623delG; p.Ile2541Serfs*7)의 틀이동돌연변이가 발견되었다. 새로운 변이의 보고를 통해 신경섬유종증 1형 환자와 가족의 유전상담과 임상관리에 유용하게 사용될 수 있겠다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

이 논문은 2018년도 조선대학교병원 의료질향상학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

REFERENCES

1. Cawthon RM, Weiss R, Xu GF, Viskochil D, Culver M, Stevens J, et al. A major segment of the neurofibromatosis type 1 gene: cDNA sequence, genomic structure, and point mutations. *Cell* 1990;62:193-201.
2. Williams VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics* 2009;123:124-33.
3. Easton DF, Ponder MA, Huson SM, Ponder BA. An analysis of variation in expression of neurofibromatosis (NF) type 1 (*NF1*): evidence for modifying genes. *Am J Hum Genet* 1993;53:305-13.

4. Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A* 2010; 152A:327-32.
5. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17: 405-24.
6. Shen MH, Harper PS, Upadhyaya M. Molecular genetics of neurofibromatosis type 1 (NF1). *J Med Genet* 1996;33:2-17.
7. Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, Letcher R, Odeh HM, Saulino AM, et al. Type 1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science* 1990;249:181-6.
8. Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch Neurol* 1988;45: 575-8.
9. Friedman JM. Synonyms: NF1, Von Recklinghausen Disease, Von Recklinghausen's Neurofibromatosis. <https://europepmc.org/books/n/gene/nf1/?extid=20301612&src=med> (Last Updated on Jun 2019).
10. Mautner VF, Kluwe L, Friedrich RE, Roehl AC, Bammert S, Högel J, et al. Clinical characterisation of 29 neurofibromatosis type-1 patients with molecularly ascertained 1.4 Mb type-1 NF1 deletions. *J Med Genet* 2010;47:623-30.
11. Pasmant E, Sabbagh A, Spurlock G, Laurendeau I, Grillo E, Hamel MJ, et al. NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Hum Mutat* 2010;31:E1506-18.
12. Kehrer-Sawatzki H and Cooper DN. NF1 microdeletions and their underlying mutational mechanisms. In Upadhyaya M, Cooper DN, eds. *Neurofibromatosis Type 1*. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 2012:187-209.
13. Upadhyaya M, Huson SM, Davies M, Thomas N, Chuzhanova N, Giovannini S, et al. An absence of cutaneous neurofibromas associated with a 3-bp inframe deletion in exon 17 of the *NF1* gene (c.2970-2972 delAAT): evidence of a clinically significant NF1 genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2007;80:140-51.
14. Pinna V, Lanari V, Daniele P, Consoli F, Agolini E, Margiotti K, et al. p.Arg1809Cys substitution in neurofibromin is associated with a distinctive NF1 phenotype without neurofibromas. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1068-71.
15. Rojnueangnit K, Xie J, Gomes A, Sharp A, Callens T, Chen Y, et al. High incidence of Noonan syndrome features including short stature and pulmonic stenosis in patients carrying NF1 missense mutations affecting p.Arg1809: genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat* 2015;36:1052-63.
16. Cardiff University. The Human Gene Mutation Database. <http://www.hgmd.org>. (Last accessed on May 2020).
17. Kang E, Kim YM, Seo GH, Oh A, Yoon HM, Ra YS, et al. Phenotype categorization of neurofibromatosis type I and correlation to NF1 mutation types. *J Hum Genet* 2020;65:79-89.
18. Ko JM, Sohn YB, Jeong SY, Kim HJ, Messiaen LM. Mutation spectrum of NF1 and clinical characteristics in 78 Korean patients with neurofibromatosis type 1. *Pediatr Neurol* 2013;48:447-53.
19. Pasmant E, Parfait B, Luscan A, Goussard P, Briand-Suleau A, Laurendeau I, et al. Neurofibromatosis type 1 molecular diagnosis: what can NGS do for you when you have a large gene with loss of function mutations? *Eur J Hum Genet* 2015 May; 23(5): 596-601.