증례
Lab Med Online
Vol. 1, No. 2: 115-119, April 2011
DOI 10.3343/lmo.2011.1.2.9

MCCC2 유전자의 새로운 변이에 의한 3-Methylcrotonyl-CoA Carboxylase 결핍증

Identification of a Novel Mutation in the *MCCC2* Gene of a Korean Patient with 3-Methylcrotonyl-CoA Carboxylase Deficiency

김병철[1] · 이동환[2] · 기창석[3] · 박형두[3] · 최태윤[1] · 신정원[1] · 이용화[4]
Byung Chul Kim[1], Dong Hwan Lee[2], Chang-Seok Ki[3], Hyung-Doo Park[3], Tae-Youn Choi[1], Jeong Won Shin[1], Yong-Wha Lee[4]

순천향대학교 서울병원 진단검사의학과[1] · 소아과[2], 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과[3], 순천향대학교 부천병원 진단검사의학과[4]
Departments of Laboratory Medicine[1] and Pediatrics[2], Soonchunhyang University Seoul Hospital and Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine and Genetics[3], Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine and Genetics[4], Soonchunhyang University Bucheon Hospital and Soonchunhyang University College of Medicine, Bucheon, Korea

3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency is an autosomal recessive disorder characterized by a defect in leucine catabolism. We report the case of an 80-day-old patient with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency who had elevated levels of 3-hydroxyisovalerylcarnitine (45.56 μmol/L; reference range, <0.65 μmol/L), which was detected using tandem mass spectrometry during newborn screening, and elevated levels of 3-hydroxyisovaleric acid (375.75 mmol/mol Cr) and 3-methylcrotonylglycine (502.36 mmol/mol Cr), which were detected in urine organic acid analysis. We performed direct sequence analysis of all the exons of the *MCCC1* and *MCCC2* genes. No mutations were detected in the direct sequence analysis of *MCCC1*. However sequencing of the *MCCC2* gene revealed a mutation caused by a heterozygous G to C transversion [c.313G>C (p.Gly105Arg)] at nucleotide position 313 and a mutation caused by a heterozygous A to T transversion [c.1252A>T (p.Ile418Phe)] at nucleotide position 1252. Identification of these 2 novel *MCCC2* gene mutations in our patient suggested that analysis of the *MCCC1* and *MCCC2* genes might prove useful in the diagnosis of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency.

Key Words: 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase, 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency, *MCCC2* mutation

서 론

3-methylcrotonyl-CoA carboxylase (3-MCC)는 류신의 이화과정 중에 3-methylcrotonyl-CoA가 3-methylglutaconyl-CoA로 변환되는 과정에 작용하는 효소로, 결핍 시 3-methylcrotonyl-CoA가 3-hydroxyisovaleric acid (3-HIVA), 3-methylcrotonylglycine (3-MCG), 3-hydroxyisovalerylcarnitine (3-HIVA-C)로 변환되어 요 유기산 분석에서 3-HIVA와 3-MCG의 현저한 증가와 혈장 내에서 3-HIVA-C의 축적과 이차적인 카르니틴의 결핍이 관찰된다[1]. 임상양상은 무증상부터 유아기 사망에 이르기까지 매우 다양하며, 과거에는 증상을 나타내는 환자가 많았으나, 탠덤질량분석기를 사용한 신생아 선별검사로 발견이 가능해지면서 무증상환자의 검출 빈도가 증가하고 있어[2-4] 치료 및 예후 판단에 대해 논의가 이루어지고 있으나 아직 그 예가 많지 않아 대부분 전문가의 권고 수준의 지침만이 있을 뿐이다[5].

3-MCC는 3q26-q28에 위치한 *MCCC1*과 5q13에 위치한 *MCCC2* 유전자에 의해 만들어지는데, 이들 유전자의 돌연변이에 의해 3-MCC 결핍증이 발생하며, 상염색체 열성으로 유전된다. 지금까지 다양한 위치에서 다양한 종류의 대립유전자들이 보고되고 있으며[6], 한국인에서는 Kim[7]이 1명의 환자에서 *MCCC2* 유전자에서 D280Y, T357T 돌연변이를 보고한 예가 있다.

저자들은 탠덤질량분석기를 이용한 신생아 선별검사에서

Corresponding author: Yong Wha Lee
Department of Laboratory Medicine & Genetics, Soonchunhyang University Bucheon Hospital, Soonchunhyang University College of Medicine, 1174 Jung-dong, Wonmi-gu, Bucheon 420-767, Korea
Tel: +82-32-621-5943, Fax: +82-32-621-5944
E-mail: lywmd@schmc.ac.kr

Received: December 7, 2010
Revision received: January 5, 2011
Accepted: January 5, 2011

This article is available from http://www.labmedonline.org
© 2011, Laboratory Medicine Online
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

3-HIVA-C, 혈장 아미노산 검사에서 류신, 요 유기산 분석 검사에서 3-HIVA와 3-MCG이 증가된 소견을 보여 3-MCC 결핍증 의심하에 시행된 *MCCC1*과 *MCCC2* 유전자 염기순서 검사에서 *MCCC2* 유전자의 새로운 변이 2개가 관찰되어 3-MCC 결핍증으로 진단한 1예를 보고하고자 한다.

증 례

환아는 재태연령 36주에 출생체중 3.36 kg으로 태어났다. 가족력상 다른 유전질환은 없었으며, 산모는 첫 번째 임신이었고 지연임신으로 제왕절개하였으며, 과거력상 특이소견이 없었다. 출생 직후 타 병원에서 시행한 탠덤질량분석기를 이용한 신생아 선별검사에서 3-HIVA-C이 증가된 소견을 주소로 전원되었다. 생후 80일째 탠덤질량분석기를 이용한 신생아 선별검사에서 3-HIVA-C이 45.56 μmol/L (참고치: < 0.65 μmol/L)로 증가된 소견을 보였고, 혈장 아미노산 검사에서 류신이 258.0 μmol/L (참고치: 90.8–182.6 μmol/L)로 증가되어 있었으며, 요 유기산 분석 검사에서 3-HIVA와 3-MCG은 각각 375.75 mmol/mol Cr (참고치: 67 mmol/mol Cr 이하)과 502.36 mmol/mol Cr (참고치: not detected)으로 증가되어 있었다(Fig. 1). 3-MCC 결핍증 의심하에 이 질환의 원인 유전자를 밝

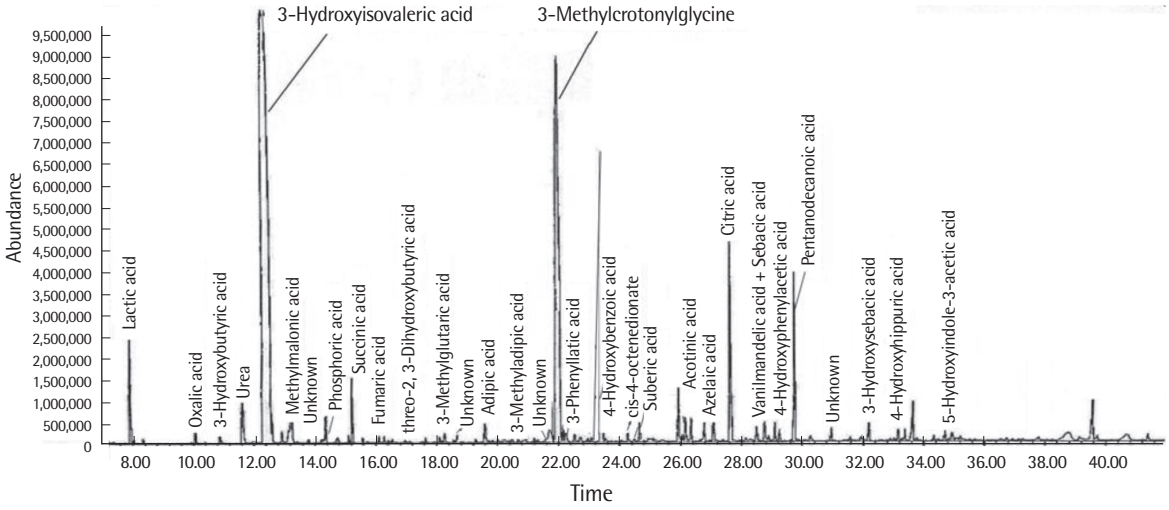

Fig. 1. Urine organic acid analysis of an 80-day-old patient who had 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency and elevated levels of 3-hydroxyisovaleric acid and 3-methylcrotonylglycine.

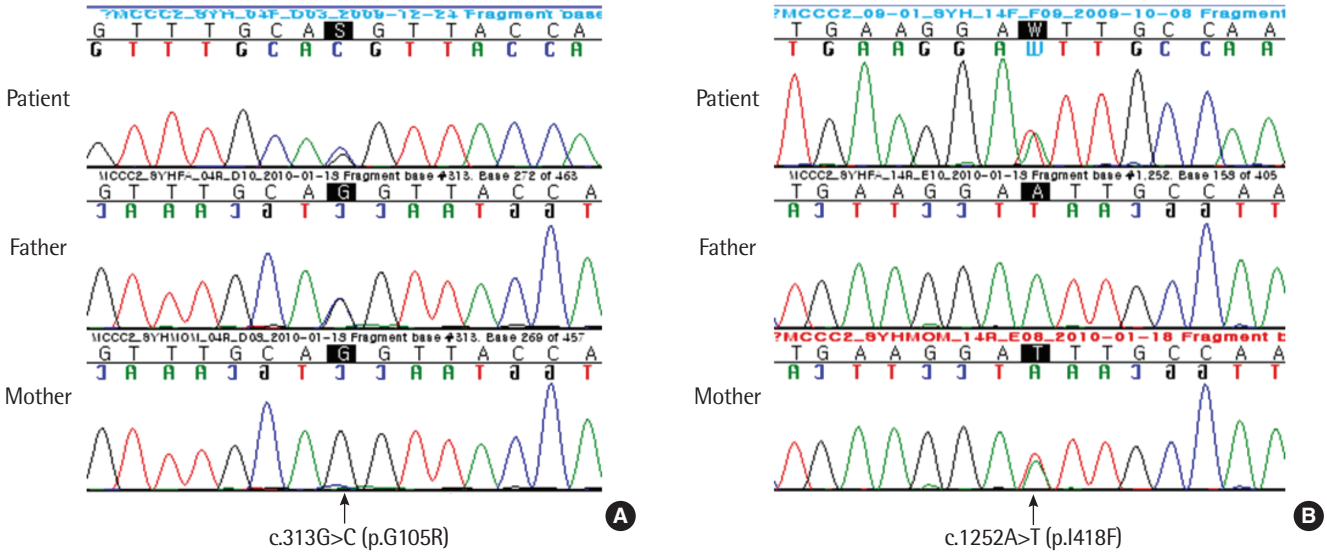

Fig. 2. Mutation analysis of the *MCCC2* gene in a Korean patient with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. Direct sequencing of the *MCCC2* gene shows overlapping peaks (arrow) at nucleotide position 313 because of a heterozygous G to C transversion [c.313G>C (p.Gly105Arg)] (A) and at nucleotide position 1252 because of a heterozygous A to T transversion [c.1252A>T (p.Ile418Phe)] (B).

DOI 10.3343/lmo.2011.1.2.9

Table 1. Plasma 3-hydroxyisovalerylcarnitine, urine 3-hydroxyisovaleric acid and urine 3-methylcrotonylglycine levels at the time of diagnosis and during the follow-up after treatment

Days after admission	Laboratory findings (referential range)		
	Plasma 3-hydroxyisovalerylcarnitine (0–0.65 μmol/L)	Urine 3-hydroxyisovaleric acid (0–67 mmol/mol Cr)	Urine 3-methylcrotonylglycine (not detected)
1 d*	45.56	375.75	502.36
1 w	47.98	57.14	224.88
4 w	60.14	5.08	122.38
3 m	23.96	57.66	74.95
6 m	23.99	127.13	448.91

*80 days after birth.
Abbreviations: d, day; w, week; m, month.

히기 위해 *MCCC1*과 *MCCC2* 유전자의 전체 엑손에 대하여 직접 염기순서 검사를 시행하였다.

MCCC1 유전자에서는 돌연변이가 관찰되지 않았고, *MCCC2* 유전자에서는 4번 엑손에서 313번째 구아닌이 시토신으로 바뀌어 105번째 아미노산인 글리신이 아르기닌으로 바뀌는 변이[c.313G>C (p.Gly105Arg)]와, 14번 엑손에서 1,252번째 아데닌이 티민으로 바뀌어 418번째 아미노산인 이소류신이 페닐알라닌으로 바뀌는 변이[c.1252A>T (p.lle418Phe)]가 발견되었다. 변이의 확인을 위해 NCBI dbSNP (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/), Ensembl (http://www.ensembl.org/index.html), Human Gene Mutation Database (HGMD, http://www.hgmd.cf.ac.uk)와 PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/)에 보고된 자료를 검색하였으나 두 변이 모두 지금까지 보고되지 않은 새로운 변이였다.

새로운 변이의 의미를 알기 위해 SIFT (http://sift.jcvi.org/)와 Polyphen (http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/index.html)을 이용한 생명정보학적 분석을 시행하였을 때 c.1252A>T (p.lle418Phe)는 SIFT와 Polyphen에서 모두 돌연변이의 가능성이 높은 것으로 예측되었고, c.313G>C (p.Gly105Arg)는 SIFT와 Polyphen에서 모두 돌연변이의 가능성이 낮은 것으로 예측되었다(Fig. 2). 그러나 부모에 대한 검사결과에서 c.313G>C는 환아의 아버지에서, c.1252A>T는 어머니에서 각각 관찰되어 복잡 이형접합체 형태의 변이를 가지고 있음을 확인할 수 있었고, 상기 두 변이 위치에 대한 100개의 대조 염색체를 이용한 염기순서 검사 결과 두 변이 모두 관찰되지 않아 돌연변이로 확인하였다.

환아의 치료는 식이요법으로 류신 제거 분유와 모유를 혼합 수유하였고 L-카르니틴(100 mg/kg/day)과 글리신(150–300 mg/kg/day)을 투여하였다. 1주, 4주, 3개월 및 6개월 후 실시한 추적검사에서 3-HIVA-C과 3-MCG은 계속 증가된 소견을 보였고, 3-HIVA는 계속 정상범위를 보이다가 6개월 후 시행한 검사에서 127.13 mmol/mol Cr로 다시 증가된 소견을 보였다(Table 1). 본 환아는 약 1년 후 다시 시행한 탠덤질량분석기를 이용한 신생아 선별검사에서 3- HIVA-C 44.75 μmol/L (참고치: < 0.65 μmol/L), 요 유기산 분석 검사에서 3-MCG 313.97 mmol/mol Cr (참고치: not detected)으로 여전히 증가된 소견을 보였고, 3-HIVA는 58.22 mmol/mol Cr (참고치: 67 mmol/mol Cr 이하)로 정상범위를 보였다. 현재까지 환아는 정상적인 성장 발달을 하고 있으며 별다른 임상증상을 보이지 않고 있다.

고 찰

3-MCC 결핍증은 류신의 이화과정 중에 작용하는 효소인 3-MCC를 만드는 *MCCC1*, *MCCC2* 유전자의 돌연변이에 의해 발생하는 상염색체 열성 질환으로, 임상증상은 매우 다양해서 무증상인 경우부터 생후 수 일 내에 치료에 반응하지 않는 경련발작 및 근긴장도의 저하, 소아에서 구토와 근무력증이 나타날 수 있고, 치료하지 않을 경우 발작, 혼수로까지 진행될 수도 있다[8, 9]. 대부분의 환자들은 감염 후에 대사성 산증, 저혈당증, 고암모니아혈증 등의 증상이 보이는 유사 라이 증후군이 동반된다[10, 11].

증상이 있는 환자들에서 진단이 이루어질 때는 드문 질환으로 알려져 왔으나, 최근 탠덤질량분석기를 사용한 신생아 선별검사가 시행되며 전 세계적으로 신생아 36,000–50,000명 중에 1명꼴로 발견되어 선별검사에서 가장 많이 발견되는 질환 중 하나가 되었다[12-14]. 확진을 위해서는 배양된 림프모세포나 섬유모세포를 통해 3-MCC의 활성도를 측정할 수 있지만[15] 검사의 어려움으로 인해 널리 시행되고 있지는 못하다.

3-MCC는 비오틴과 공유결합으로 연결된 알파 소단위와 베타 소단위로 구성된다. 알파 소단위는 725개의 아미노산으로 구성되며 염색체 3q26-q28에 위치하여 19개의 엑손으로 이루어진 *MCCC1* 유전자에 의해 만들어지며, 48번째부터 494번째 아미노산까지 ATP 결합부위를 포함한 비오틴 카르복실라제 부분이 있어, 이 부위에서 과오돌연변이가 좀 더 빈발한다. 베타 소단위는 563개의 아미노산으로 구성되며 염색체 5q12-q13에 위치하여 17개의 엑손으

로 이루어진 *MCCC2* 유전자에 의해 만들어지며[16, 17], 55번째부터 557번째 아미노산까지 카르복실 트랜스퍼라제 부분이 대부분의 엑손을 포함하여 넓게 자리잡고 있다.

본 환아는 말초혈액으로 *MCCC1*과 *MCCC2* 유전자의 전체 엑손에 대하여 직접 염기순서 검사를 시행한 결과 *MCCC1* 유전자에서는 돌연변이가 관찰되지 않았고, *MCCC2* 유전자에서 지금까지 알려지지 않은 돌연변이인 c.1252A>T (p.Ile418Phe)와 c.313G>C (p.Gly105Arg)가 관찰되었다. 가족에 대한 검사 결과, c.313G>C는 아버지에서, c.1252A>T는 어머니에게서 각각 유래하여 복잡 이형접합체 형태의 돌연변이를 가지고 있음을 확인할 수 있었으며, 두 개의 돌연변이 역시 카르복실 트랜스퍼라제 부분에 해당하였다.

3-MCC 결핍환자에서 유전자 분석을 시행한 결과를 보면, HGMD에 2010년 10월까지 *MCCC1* 유전자는 32개, *MCCC2* 유전자는 44개의 돌연변이가 등록되어 있으며, 그 외에도 Eminoglu 등[18], Stucki 등[19], 그리고 Nguyen 등[20]이 새로운 돌연변이를 계속 보고해 왔다. 돌연변이의 종류로는 과오, 무의미, 짜깁기 등 점돌연변이 및 결손, 삽입 등 다양하며, 발생하는 부위도 대부분의 엑손에서 다양하게 나타났다.

*MCCC1*과 *MCCC2* 유전자의 돌연변이 사이에 임상양상의 차이는 없으며[21], 유전형과 표현형 간에 명확한 상관관계는 역시 발견할 수 없었고, 대사이상의 위험 예측도 어려워 유전형보다는 환경적 요인 및 기타 다른 영향을 주는 유전자가 표현형에 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다[22-24].

국내에서 보고된 예로는 Kim[7]이 1명의 환자에서 *MCCC2* 유전자에서 D280Y, T357T 돌연변이를 보고했을 만큼 그 예가 적었으나, 탠덤질량분석기를 이용한 산전검사가 널리 활용되면 그 예가 증가할 것으로 예상된다.

결론적으로, 탠덤질량분석기를 이용한 신생아 선별검사로 3-MCC결핍증을 의심한 환아의 *MCCC2* 유전자에서 두 가지의 새로운 돌연변이 c.313G>C (p.Gly105Arg)와 c.1252A>T (p.Ile418Phe)를 발견하였고, 이를 통해 3-MCC 결핍증 진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대하며, 이러한 정보가 축적되면 3-MCC 결핍증 환자의 유전적 특징과 임상 양상의 다양성을 밝히는 데 유용할 것으로 생각된다.

요 약

3-Methylcrotonyl-CoA 카르복실라아제 결핍증은 류신 이화과정의 이상으로 생기는 상염색체 열성 질환이다. 저자들은 생후 80일된 남아에서 탠덤질량분석기를 이용하여 시행한 신생아 대사질환 선별검사에서 3-HIVA-C 45.56 μmol/L (참고치: 0.65 μmol/L 이하)이 증가되었고, 요 유기산 분석 검사에서 3-HIVA와 3-MCG이 각각 375.75 mmol/mol Cr (참고치: 67 mmol/mol Cr 이하)과 502.36 mmol/mol Cr (참고치: not detected)으로 증가를 보여 3-Methylcrotonyl-CoA 카르복실라아제 결핍증으로 진단하였기에 이를 보고하고자 하였다. 환아의 유전자 분석 결과, *MCCC1* 유전자의 직접 염기서열 검사에서 돌연변이가 관찰되지 않았고, *MCCC2* 유전자의 분석에서는 c.313G>C (p.Gly105Arg)와 c.1252A>T (p.Ile418Phe) 두 가지 새로운 돌연변이가 발견되어 *MCCC1*과 *MCCC2* 유전자 분석이 3-methylcrotonyl-CoA 카르복실라아제 결핍증 진단에 도움을 줄 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Stadler SC, Polanetz R, Maier EM, Heidenreich SC, Niederer B, Mayerhofer PU, et al. Newborn screening for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: population heterogeneity of MCCA and MCCB mutations and impact on risk assessment. Hum Mutat 2006;27:748-59.
2. Naylor EW and Chace DH. Automated tandem mass spectrometry for mass newborn screening for disorders in fatty acid, organic acid and amino acid metabolism. J Child Neurol 1999;14:S4-8.
3. Gibson KM, Bennett MJ, Naylor EW, Morton DH. 3-Methylcrotonyl-coenyme A carboxylase deficiency in Amish/Mennonite adults identified by detection of increased acylcarnitines in blood spots of their children. J Pediatr 1998;132:519-23.
4. Smith WE, Muenzer J, Frazier D, Millington DS, Kishnani PS, Mcdonald M, et al. Evaluation of elevated hydroxyisovalerylcarnitine in the newborn screen by tandem mass spectrometry. Am J Hum Genet 2000; 67:292.
5. Arnold GL, Koeberl DD, Matern D, Barshop B, Braverman N, Burton B, et al. A delphi-based consensus clinical practice protocol for the diagnosis and management of 3-methylcrotonyl CoA carboxylase deficiency. Mol Genet Metab 2008;93:363–70.
6. Uematsu M, Sakamoto O, Sugawara N, Kumagai N, Morimoto T, Yamaguchi S, et al. Novel mutations in five Japanese patients with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. J Hum Genet 2007;52:1040–3.
7. Kim JK. A case of asymptomatic 3-methylcrotonylglycinuria detected by tandem mass spectrometry in newborn screening. Korean J Pediatr 2004;47:912-6.
8. Lehnert W, Niederhoff H, Suormala T, Baumgartner ER. Isolated biotin-resistant 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: long-term outcome in a case with neonatal onset. Eur J Pediatr 1996;155:568-72.
9. Murayama K, Kimura M, Yamaguchi S, Shinka T, Kodama K. Isolated 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency in a 15-year-old girl.

DOI 10.3343/lmo.2011.1.2.9

Brain Dev 1997;19:303-5.
10. Bartlett K, Bennett MJ, Hill RP, Lashford LS, Pollitt RJ, Worth HG. Isolated biotin-resistant 3-methylcrotonyl CoA carboxylase deficiency presenting with life-threatening hypoglycaemia. J Inherit Metab Dis 1984;7:182.
11. Gitzelmann R, Steinmann B, Niederwieser A, Fanconi S, Suormala T, Baumgartner ER. Isolated biotin-resistant 3-methylcrotonyl CoA carboxylase deficiency presenting at age 20 months with sopor, hypoglycaemia and ketoacidosis. J Inherit Metab Dis 1987;10:290-2.
12. Wilcken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. N Engl J Med 2003;348:2304–12.
13. Koeberl DD, Millington DS, Smith WE, Weavil SD, Muenzer J, McCandless SE, et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening. J Inherit Metab Dis 2003;26:25-35.
14. Eichhorst J, Alcorn J, Lepage J, Etter M, Antonishyn NA, Fitterer B, et al. Elevated neonatal 3-OH isovalerylcarnitine due to breast milk sources in maternal 3-MCC deficiency. Mol Genet Metab 2010;101:84–6.
15. Yap S, Monavari AA, Thornton P, Naughten E. Late-infantile 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency presenting as global developmental delay. J Inherit Metab Dis 1998;21:175-6.
16. Lamhonwah AM, Barankiewicz TJ, Willard HF, Mahuran DJ, Quan F, Gravel RA. Isolation of cDNA clones coding for the α and β chains of human propionyl-CoA carboxylase: chromosomal assignments and DNA polymorphisms associated with PCCA and PCCB genes. Proc Natl Acad Sci USA 1986;83:4864-8.
17. Gallardo ME, Desviat LR, Rodríguez JM, Esparza-Gordillo J, Pérez-Cerdá C, Pérez B, et al. The molecular basis of 3-methylcrotonylglycinuria, a disorder of leucine catabolsim. Am J Hum Genet 2001;68:334-46.
18. Eminoglu FT, Ozcelik AA, Okur I, Tumer L, Biberoglu G, Demir E, et al. 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: phenotypic variability in a family. J Child Neurol 2009;24:478-81.
19. Stucki M, Suormala T, Fowler B, Valle D, Baumgartner MR. Cryptic exon activation by disruption of exon splice enhancer: novel mechanism causing 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. J Biol Chem 2009;284:28953-7.
20. Nguyen KV, Naviaux RK, Patra S, Barshop BA, Nyhan WL. Novel mutations in the human MCCA and MCCB gene causing methylcrotonylglycinuria. Mol Genet Metab 2010;In press.
21. Desviat LR, Pérez-Cerdá C, Pérez B, Esparza-Gordillo J, Rodriguez-Pombo P, Penalva MA, et al. Functional analysis of MCCA and MCCB mutations causing methylcrotonylglycinuria. Mol Genet Metab 2003;80:315-20.
22. Baumgartner MR, Almashanu S, Suormala T, Obie C, Cole RN, Packman S, et al. The molecular basis of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. J Clin Invest 2001;107:495-504.
23. Dantas MF, Suormala T, Randolph A, Coelho D, Fowler B, Valle D, et al. 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: mutation analysis in 28 probands, 9 symptomatic and 19 detected by newborn screening. Hum Mutat 2005;26:164.
24. Ficicioglu C and Payan I. 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: metabolic decompensation in a noncompliant child detected through newborn screening. Pediatrics 2006;118:2555-6.