



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

이학석사 학위 논문

ANKRD11 유전자 돌연변이를 보유한 KBG
증후군 환자의 유전학적 특징과
임상 증상

Clinical and genetical feature in KBG syndrome
patients with *ANKRD11* gene mutation

울산대학교 대학원
의 과 학 과
최 정 민

ANKRD11 유전자 돌연변이를 보유한 KBG
증후군 환자의 유전학적 특징과
임상 증상

지도교수 이범희

이 논문을 이학석사 학위 논문으로 제출함

2021년 8월

울산대학교 대학원
의과학과
최정민

최정민의 이학석사 학위 논문을 인준함

심사위원

염미선



심사위원

이범희



심사위원

강은구



울산대학교 대학원

2021년 8월

감사의 글

대학교 4 학년 2 학기에 인연이 닿아 이범희 교수님 실험실의 위촉연구원으로 들어왔을 때가 생각이 납니다. 위촉연구원으로 연구를 진행하면서 학위 과정을 다시 생각할 수 있게 도움을 주신 이범희 교수님께 감사의 말씀 올립니다.

바쁘신 와중에도 불구하고 학위 청구 논문의 심사위원을 맡아 주시고 논문의 부족한 점을 언급해 주신 이범희 교수님, 염미선 교수님, 강은구 교수님께 감사의 말씀드립니다. 학위 논문 작성 과정에서 많은 도움을 주신 허선희 선생님, 강민지 선생님, 도효상 선생님, 최윤하 선생님께 감사하다는 말씀 전해드리고 싶습니다. 실험실 생활을 순조롭게 해 나아갈 수 있도록 도움을 주신 신혜림 선생님, 이소정 선생님, 김준영 선생님께 감사의 말씀드립니다.

마지막으로 저의 석사 과정 생활을 응원해주시고 저를 자랑스럽게 생각하시는 부모님께 감사의 인사를 드립니다. 저의 꿈을 묵묵히 지켜봐 주고 응원해준 여자친구 윤아에게 고마운 마음을 전합니다. 그리고 학위 과정 중에 생긴 성적 관리와 졸업 요건에서 받은 스트레스 때문에 힘들어 했던 저를 지탱해준 윤아에게 다시 한 번 고맙다는 말을 전하며, 이 논문을 사랑하는 가족과 윤아에게 바칩니다.

국문요약

ANKRD11 유전자 돌연변이를 보유한 KBG 증후군 환자의

유전학적 특징과 임상 증상

KBG 증후군은 *Ankyrin repeat domain 11 (ANKRD11)* 유전자의 돌연변이가 발생하거나 16q24.3 부위에 미세 결실이 발생하면 발병하고 우성 유전으로 유전되는 질환이다. 이 질환은 의학 논문에 150 명 이상 보고되어 있는 희귀 유전질환이다. 환자마다 중증도의 차이가 많이 있으며 현재 치료법은 환자에서 발생한 임상증상을 토대로 대증치료가 주된 치료이다.

본 연구에서는 *ANKRD11*에 돌연변이 및 16q24.3에 미세 결실이 있는 10 명의 한국인 KBG 증후군 환자를 대상으로 임상 증상과 유전학적 특징을 비교했다. 환자들의 말단혈액을 채취하여 얻은 gDNA를 이용하여 Whole exome sequencing을 실시한 후, sanger sequencing으로 다시 확인했다. 미세 결실이 있는 경우 Comparative Genomic Hybridization array와 RT-PCR을 사용하여 환자들이 보유하고 있는 유전적 돌연변이를 확인하였다. 임상증상은 KBG 증후군의 대표적인 두개 및 안면 장애, 골격계 장애, 신경계 비정상을 중점으로 확인했다. 추가적으로 주요 증상 이외에 기타 비주류 증상을 확인했다.

8 명의 환자에서 점 돌연변이가 발견되었고, 2 명의 환자에서 미세 결실이 발견되었다. 6 명의 환자에서 9 번 엑손을 포함하는 돌연변이가 발견되었다. 임상적으로 두눈먼거리증 (Hypertelorism)은 5 명, 긴 인중 (Long philtrum)은 4 명, 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip)은 5 명, 대치증 (Macrodonia)은 4 명이 두개 및 안면 장애로 보유하고

있었다. 골격계 이상으로 10 명 중 3 명이 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 를 갖고 있었다. 신경학적 증상으로 6 명은 지적 장애 (Intellectual disability) 가 있었다. 기타 비주류 증상으로 선천성 심장 질환이 5 명에서 나타났다.

본 논문은 한국인에서 처음으로 KBG 증후군 환자들의 유전학적 특징과 임상증상을 비교하여 보고하여, 이 희귀질환의 유전적 양상과 임상적 증상의 이해에 도움이 된다.

차례

감사의 글	I
국문요약	II
차례	IV
표 목차	V
그림 목차	VI
약어 목록	VII
서론	1
재료 및 방법	
1. <i>Subjects and Clinical symptom</i>	3
2. <i>genomic DNA (gDNA) preparation</i>	3
3. <i>Whole Exome Sequencing</i>	4
4. <i>Sanger Sequencing</i>	5
5. <i>RT-PCR</i>	5
결과	
1. <i>Genetic variants</i>	6
2. <i>Craniofacial Feature</i>	10
3. <i>Skeletal abnormalities</i>	13
4. <i>Neurological findings</i>	13
5. <i>others</i>	16
고찰	18
결론	22
참고 문헌	23
영문 요약	26

표 목차

TABLE 1. GENETIC FEATURES OF 10 KOREAN PATIENTS WITH KBG SYNDROME	8
TABLE 2. CRANIOFACIAL FEATURES OF 10 KOREAN PATIENTS WITH KBG SYNDROME	12
TABLE 3. SKELETAL AND NEUROLOGIC FEATURES OF 10 KOREAN PATIENTS WITH KBG SYNDROME	15
TABLE 4. OTHER CLINICAL FEATURES OF 10 KOREAN PATIENTS WITH KBG SYNDROME	17

그림 목차

FIGURE 1. GENETIC VARIANTS OF 10 KOREAN PATIENTS WITH KBG SYNDROME.
..... 9

약어 목록

<i>ANKRD11</i>	<i>Ankyrin repeat domain 11</i>
WES	Whole Exome Sequencing
CGH array	Comparative Genomic Hybridization array
RT-PCR	Real Time-Polymerase Chain Reaction
gDNA	genomic DNA
ADHD	Attention Deficit Hyperactivity Disorder
EEG	Electroencephalogram
PDA	Patent Ductus Arteriosus
VSD	Ventricular Septal Defect
PFO	Patent Foramen Ovale

서론

KBG 증후군 (OMIM 148050) 은 1975년 Herrmann et al이 처음 논문에서 저술한 질환으로, 이 질환의 증상으로 특징적인 치아구조, 짧은 신장 등 골격계 이상과 정신 지체, 독특한 얼굴 구조를 가지고 있다 (1). Herrmann et al이 이 질환을 명명할 때 연관되지 않은 세 가족의 성의 초성을 사용하여 KBG 증후군이라고 명명했다 (1). KBG 증후군은 의학 논문에 150명 이상 보고되어 있는 희귀 유전 질환이지만 증상이 가벼운 경우 진단되지 않아 발견되지 않은 환자 수가 보고된 환자보다 많을 가능성이 있다. 여성 보다 남성에서 더 많이 나타나는 질환이며 그에 대한 원인은 밝혀지지 않고있다 (2).

KBG 증후군은 *Ankyrin repeat domain 11 (ANKRD11)* 유전자의 이형 접합 돌연변이 또는 16q24.3 부분에 미세 결실에 의해 발병한다 (3, 4). 또한 이 질환은 상염색체 우성으로 유전되어 발생하거나 새로 발생한 돌연변이에 의해 질환이 발생한다. KBG 증후군의 원인 유전자인 *ANKRD11* 유전자는 보조 활성 인자로서 전사와 염색질 조절에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 뇌에서 뉴런 발달 과정 동안 히스톤 아세틸화와 유전자 발현을 조절하는 중요한 염색질 조절을 수행한다 (5). Gallagher et al이 저술한 바에 따르면, *ANKRD11* knockdown시 쥐과 동물과 인간의 피질 신경 전구세포의 발달 과정 중에 신경 생성과 세포 증식, 뉴런의 자리 배치가 감소된 것을 확인하였고, *ANKRD11* 돌연변이 mouse인 Yoda mouse에서 측 뇌실 주위의 뉴런이 잘못 배치되고 자폐 스펙트럼 장애 (Autism spectrum disorder) 와 같이 행동하는 것이 확인되었다 (5). *ANKRD11* 돌연변이로 인해 발병한 KBG 증후군의 주요 증상은 대표적으로 단두 증 (Brachycephaly), 일자 눈썹 (Synophrys), 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 삼각형 얼굴 (Triangular face), 긴 인중 (long philtrum) 등을 포함한 안면 이상 증상과 골격계 이상에 속하는 합지증

(Syndactyly), 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age), 짧은 신장 (Short stature), 척추 뼈 이상 (Abnormal vertebrae), 대치증 (Macrodonia) 이 주요증상으로 나타난다. 신경학적 증상으로 지적 장애 (Intellectual disability) 와 발달 지연 (Developmental delay), 발작 (Seizure) 등이 환자에서 주로 나타난다 (2, 3, 6).

본 연구에서는 서울 아산병원 어린이병원에서 KBG 증후군으로 진단받은 아홉 가족, 총 10명의 환자를 대상으로 Whole Exome Sequencing (WES), Comparative Genomic Hybridization array (CGH array), RT-PCR을 진행하여 돌연변이 위치를 확인하고, 임상 증상을 분석했다. 연구를 진행한 환자들의 결과 보고를 통해 *ANKRD11* 유전자 돌연변이를 갖고 있는 KBG 증후군 환자들의 유전학적 특징과 임상증상을 비교하여 보고함으로써 이 희귀질환의 유전적 양상과 임상적 증상의 이해에 도움이 되고, 향후 아직 발굴되지 않은 환자의 발굴에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

1. Subjects and Clinical symptom

서울 아산병원 어린이병원에서 WES을 이용하여 환자들을 진단했다. 연관성이 없는 아홉 가족으로 총 10명의 환자로 연구를 진행했다. 환자 중 7-1번과 7-2번 환자는 가족관계로 7-2번 환자는 7-1번 환자와 모녀 관계다. 1, 2, 7-2번 환자를 제외한 7명의 환자들은 WES를 진행한 후에 sanger sequencing으로 해당 변이를 재확인했다. 1번 환자는 Ji Hun. Lim et al이 저술한 논문에서 참조한 결과로 CGH array를 이용하여 진단했다 (7). 2번 환자는 RT-PCR 분석을 통해 진단했다. 7-2번 환자는 7-1번 환자의 엄마로 7-1번 환자의 exome sequencing 결과에서 변이가 확인되어 sanger sequencing만 진행했다.

환자들의 증상은 일반적인 임상 증상으로 안면 비정상, 골격계와 신경학적 이상을 중심으로 확인했고 (2, 3, 6), 추가로 KBG 증후군에서 나타나는 일반적인 임상 증상 외에 환자들이 갖고 있는 증상들을 확인했다.

2. genomic DNA (gDNA) preparation

서울 아산병원 소아청소년과에 내원한 환자의 말단 혈액을 3 ml 채혈하여 gDNA를 추출했다. 말단 혈액의 적혈구를 제거하기 위해 RBC lysis solution (QUIAGEN, Hilden, Germany) 을 처리했다. 원심분리 후에 상층액을 제거하고 백혈구 pellet에 Cell Lysis buffer (QUIAGEN) 를 넣어 세포막을 파괴시켰다. 그 다음 Protein precipitation solution

(QUIAGEN) 을 이용하여 단백질을 응축시켜 원심분리로 가라앉혔다. 상층액에 Iso-propanol을 첨가하여 DNA를 응축시키고 원심분리로 침전하여 Ethanol을 이용해 세척했다. 침전된 DNA pellet을 1.5ml tube로 옮기고 건조하여 65°C에서 DNA hydration solution (QUIAGEN) 으로 수화 시켰다.

3. *Whole Exome Sequencing*

돌연변이를 발견하기 위해 Twist Bioscience사의 Enzymatic Fragmentation와 Twist Universal Adapter System Twist library preparation (PN100803, Rev1, September 2019) 을 사용하여 WES를 진행했다. PicoGreen과 agarose gel 전기 영동을 이용하여 DNA의 정량적, 정성적 분석을 실시했다. enzymatic gDNA fragmentation System으로 gDNA를 조각으로 만들어 3' 말단에 Twist Universal Adapter를 부착시켰다. 부착된 생산물을 PCR로 증폭시켰다. PCR 결과물을 혼성화하여 포착했다. 포착된 DNA를 정제하여 다시 qPCR을 실시했다. Nova Seq platform (Illumina, San Diego, USA) 을 이용하여 qPCR 결과물을 sequencing하여 결과를 얻었다. DNA 서열은 등록된 기준 서열 (Gene Bank, NM_013275.5) 을 참고하여 분석했다.

각 변이들은 ACMG 가이드라인 (8) 을 참고하여 Pathogenic, likely pathogenic, variant of uncertain significance (VUS)로 분류했다. Automated variant prioritization system, EVIDENCE (9) 를 이용하여 환자에서 나타난 증상을 분석했다.

4. Sanger Sequencing

WES에서의 결과를 토대로 표적 유전자의 Forward Primer, Reverse Primer를 제작했다. 그 후, DNA와 BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, California, USA) 그리고 제작한 Primer를 DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal cycler (BIO-RAD, California, USA) 를 이용하여 PCR 반응을 진행했다. 명확한 결과를 얻기 위해 BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits User Guide에서 제시하는 방법으로 PCR에서 반응하지 않은 dNTP와 Primer 등을 제거하고, ABI 3730x1 DNA analyzer (Applied Biosystems) 로 Sequencing하여 sanger sequencing 결과를 얻었다.

5. RT-PCR

2번 환자의 미세 결실을 확인하기 위해 환자의 말단 혈액의 백혈구에서 mRNA를 추출하여 RT-PCR을 실시했다. 백혈구에서 RNeasy Mini kit (QUIAGEN) 를 이용하여 mRNA 추출을 진행했다. 추출된 mRNA는 역전사 시스템 (Promega Co.) 을 이용하여 cDNA를 합성했다. PCR은 SYBR Premix Ex Taq (Takara Bio Inc, Shiga, Japan) 과 forward primer, reverse primer를 사용하여 반응을 진행했다. RT-PCR의 결과물과를 대조군과 비교하여 결실을 확인했다 (10).

결과

1. Genetic variants

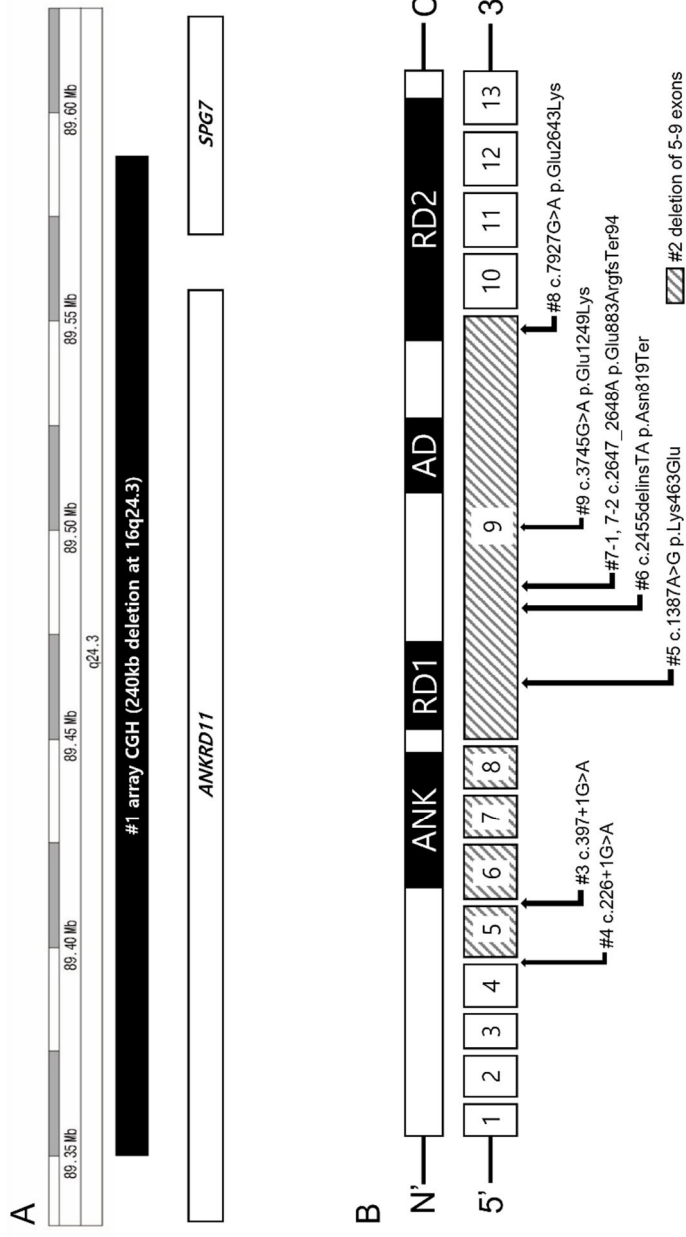
환자들 1번 환자는 CGH array, 2번 환자는 RT-PCR, 3-9번 환자는 WES 진행 후 Sanger sequencing를 통해 변이를 확인을 했다. 1번 환자에서는 16q24.3 부분에 미세 결실이 확인되었다. 2번 환자는 5번에서 9번까지의 엑손에 미세 결실이 있었다. 3번 환자에서 c.397+1G>A, splicing 변이가 발견되었다. 해당 변이는 ACMG 가이드라인 (8) 에 따라 Likely pathogenic 변이로 분류되었다. 4번 환자는 c.226+1G>A, splicing 변이가 발견되었고, ACMG 가이드라인 (8) 에 따라 Likely Pathogenic 변이로 분류했다. 5번 환자는 ACMG 가이드라인 (8) 에 따라 VUS로 분류되는 c.1387A>G, p.Lys463Glu 변이가 발견되었다. 6번 환자에서는 c.2455delinsTA, p.Asn819Ter 돌연변이가 발견되었다. 해당변이는 ACMG 가이드라인 (8) 에 따라 VUS로 분류되었다. 7-1번 환자와 7-2번 환자들은 c.2648_2649A, p.Glu883ArgfsTer94 변이를 갖고 있었으며, 해당 변이는 ACMG 가이드라인 (8) 에 의해 Likely pathogenic 변이로 분류되었다. 8번 환자는 c.7927G>A, p.Glu2643Lys 변이가 발견되었으며, ACMG 가이드라인 (8) 은 해당 변이를 VUS로 분류했다. 9번 환자에서 c.3745G>A, p.Glu1249Lys 변이가 확인되었으며 해당변이는 ACMG 가이드라인 (8) 에 의해 VUS로 분류되었다 (Table 1.)

환자들의 변이를 intron과 exon을 포함하는 유전자 지도로 표현했다 (Fig. 1). 1번 환자는 미세 결실의 발생으로 인해 *ANKRD11* 유전자와 *SPG7* 유전자의 일부분이 결실되었다. 2번 환자에서는 5번 exon에서 9번 exon까지의 미세 결실이 확인되었다. 3번 환자의 변이는 6번 exon 앞의 intron에 위치했다. 4번 환자는 5번 exon 앞의 intron에 변이를 갖고

있었다. 5번 환자의 변이는 9번 exon의 억제성 도메인 1 (repression domain 1) 에 존재한다. 6번 환자는 9번 exon에 변이를 갖고 있었다. 7-1번과 7-2번 환자 또한 9번 exon에 변이가 있었다. 8번 환자의 돌연변이는 억제성 도메인 2 (repression domain 2) 에 있으며, 9 exon의 변이에 해당한다. 9번 환자의 변이는 9번 exon에 위치하고 있다.

Table 1. Genetic features of 10 Korean patients with KBG syndrome

Index Subject NO.	Sex	Age at diagnosis (yr)	Nucleotide Change	Amino acid Change	Exon / Intron	ACMG classification	Inheritance
1	M	0.2	240kb deletion at 16q24.3			-	De novo
2	M	0.4	deletion of 5-9 exons			-	De novo
3	F	2.2	c.397+1G>A	Splicing variant	5 Intron	Likely pathogenic	De novo
4	M	11.2	c.226+1G>A	Splicing variant	4 Intron	Likely pathogenic	De novo
5	M	6.8	c.1387A>G	p.Lys463Glu	9 Exon	VUS	-
6	F	9.4	c.2455delinsTA	p.Asn819Ter	9 Exon	VUS	De novo
7-1	F	7.6	c.2648_2649A	p.Glu883Argfs Ter94	9 Exon	Likely pathogenic	Maternal
7-2	F	37.4	c.2648_2649A	p.Glu883Argfs Ter94	9 Exon	Likely pathogenic	-
8	F	7.3	c.7927G>A	p.Glu2643Lys	9 Exon	VUS	Paternal
9	F	0.2	c.3745G>A	p.Glu1249Lys	9 Exon	VUS	Maternal



2. Craniofacial Feature

Table 2에서 환자들의 얼굴형태의 특징을 정리했다. 1번 환자는 삼각형 얼굴 (Triangular face), 돌출된 이마 (Prominent forehead), 두개안면 증상 (craniofacial finding), 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 들창코 (Anteverted nostril), 대치증 (Macrodontia) 를 증상으로 갖고 있었다. 2번 환자는 단두증 (brachycephaly), 소두증 (microcephaly), 두개안면 증상 (craniofacial finding), 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip), 돌출된 귀 (Prominent ears), 안구 돌출 (Exophthalmos), 갈라진 목젓 (Bifid uvula), 높은 아치형태의 목젓 (High arched uvula) 이 증상으로 나타났다. 3번 환자는 두개안면 증상 (Craniofacial finding)으로 사시 (Strabismus), 둥글고 납작한 코 (Bulbous nose), 들창코 (Anteverted nostril), 긴 인중 (Long philtrum), 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip), 대치증 (Macrodontia), 돌출된 귀 (Prominent ears) 를 표현형으로 갖고 있다. 4번 환자는 삼각형 얼굴 (Triangular face), 두개안면 증상 (Craniofacial finding), 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 돌출된 콧등 (Prominent nasal bridge), 긴 인중 (Long philtrum), 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip), 대치증 (Macrodontia), 소치증 (Microdontia), 돌출된 귀 (Prominent ears) 의 증상을 보이며, 환자들 중 가장 많은 특징적인 얼굴형태를 보였다. 5번 환자에서는 두개안면 증상 (Craniofacial finding) 만 확인되었다. 6번 환자는 소두증 (Microcephaly), 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 사시 (Strabismus), 들창코 (Anteverted nostril), 대치증 (macrodontia), 돌출된 귀 (prominent ears) 를 증상으로 갖고 있었다. 7-1번 환자는 삼각형 얼굴 (Triangular face), 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 들창코 (Anteverted nostril), 긴 인중 (Long philtrum), 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip)의 증상을 보였다. 7-

2번 환자는 7-1번 환자와 같은 돌연변이 지점에 변이가 확인되었지만, 삼각형 얼굴 (Triangular face), 긴 인중 (Long philtrum), 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip) 만 갖고 있었다. 8번는 두눈먼거리증 (Hypertelorism), 9번 환자는 들창코 (Anteverted nostril) 가 증상으로 있었다.

Table 2. Craniofacial features of 10 Korean patients with KBG syndrome

Index Subject NO.	1	2	3	4	5	6	7-1	7-2	8	9
Sex	M	M	F	M	M	F	F	F	F	F
Craniofacial feature										
brachycephaly		(+)								
microcephaly		(+)				(+)				
triangular face	(+)			(+)			(+)	(+)		
Prominent forehead	(+)									
craniofacial finding	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					
Hypertelorism	(+)			(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	
strabismus			(+)			(+)				
prominent nasal bridge				(+)						
bulbous nose			(+)							
Anteverted nostril	(+)		(+)			(+)	(+)	(+)		(+)
long philtrum			(+)	(+)			(+)	(+)		
Tented upper lip		(+)	(+)	(+)			(+)	(+)		
Macrodonτία	(+)		(+)	(+)		(+)				
microdonτία				(+)						
Prominent ears		(+)	(+)	(+)		(+)				
Exophthalmos		(+)								
bifid uvula, high arched uvula		(+)								

3. Skeletal abnormalities

1번 환자는 대퇴골 골단의 경화성 변화 (Sclerotic change of femur epiphysis) 가 나타났다 (Table 3). 2번 환자는 다지증 (polydactyly) 만 확인되었다. 3번 환자와 4번 환자에서는 골격계 이상이 나타나지 않았다. 5번 환자에서는 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 와 합지증 (Syndactyly) 이 증상으로 나타났으며 뼈 나이는 3.8 년 지연되어 있었다. 6번 환자는 척추측만증 (Scoliosis) 만 있었다. 7-1번 환자에서 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age)가 나타났으며, 2.8 년 지연되어 있었다. 추가적으로 짧은 4번 5번 손가락 (Short 4,5th fingers), 가쪽회팔꿈치 (Cubitus valgus) 가 확인되었다. 돌연변이 지점이 같은 7-2번 환자는 골격계 비정상이 나타나지 않았다. 8번 환자는 다섯 번째 발가락에서 작은 발톱 (Small 5th toe nail) 을 보였고, 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age)가 나타났으며, 0.4 년 지연되어 있었다. 9번 환자는 짧은 노뼈와 자뼈 (Short radius ulna), 흔들의자 바닥 변형 발 (Rocker bottom foot), 기형적인 손 (Dysmorphic hand) 을 확인할 수 있었다.

4. Neurological findings

1번 환자는 지적 장애 (Intellectual disability)와 발작 (Seizure)을 신경학적 증상으로 갖고 있었다 (Table 3). 2번과 3번 환자는 신경학적 증상이 나타나지 않았다. 4번 환자는 지적 장애 (Intellectual disability), 주의력결핍 과잉행동장애 (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD), 발작 (Seizure), 비정상적인 뇌파 (Electroencephalogram, EEG), 비정상적인 뇌 MRI를 갖고 있었고 환자 중 가장 많은 신경학적 이상이 관찰되었다. 5번 환자는 주의력결핍

과잉행동장애 (ADHD) 증상이 확인되었다. 6번 환자는, 지적 장애 (Intellectual disability), 발작 (Seizure), 비정상적인 뇌파 (EGG) 를 증상으로 갖고 있었다. 7-1번 환자는 지적 장애 (Intellectual disability), 주의력결핍 과잉행동장애 (ADHD) 가 확인되었지만, 7-1번 환자의 어머니인 7-2번 환자는 지적 장애 (Intellectual disability) 만 보였다. 8번 환자에서 지적 장애 (Intellectual disability), 주의력결핍 과잉행동장애 (ADHD), 발작 (Seizure), 비정상적인 뇌파 (EGG) 가 나타났다. 9번 환자는 신경학적 증상을 갖고 있지 않았다.

Table 3. Skeletal and neurologic features of 10 Korean patients with KBG syndrome

Index Subject NO.	1	2	3	4	5	6	7-1	7-2	8	9
Sex	M	M	F	M	M	F	F	F	F	F
Skeletal abnormalities										
Scoliosis						(+)				
Abnormal vertebrae										
delayed bone age yr					Delayed 3.8		Delayed 2.8		Delayed 0.4	
Polydactyly										
Syndactyly					(+)					
Others		(+)					(+)short 4,5th fingers; Cubitus valgus		(+) small 5th toe Nails	(+) short radius, ulna, rocker bottom foot, dysmorphic hand
Neurologic findings										
Intellectual disability		(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
ADHD				(+)	(+)					
Seizure		(+)		(+)	(+)	(+)				
Abnormal EEG				(+)	(+)	(+)				
Abnormal brain MRI				(+)						

5. others

1, 4, 7-2번 환자에는 안면, 골격계, 신경계의 비정상 이외의 증상은 없었다 (Table 4). 2번 환자는 심방중격결손 (Atrial septal defect) 과 열린 동맥관 (Patent Ductus Arteriosus, PDA) 이 심장 이상으로 보였고, 잠복 고환 (Cryptorchidism), 선천성 거대 결장 (Congenital megacolon), 갑상선 기능 저하증 (Hypothyroidism) 이 확인되었다. 3번 환자는 심실중격결손 (Ventricular Septal Defect, VSD) 과 열린 타원 구멍 (Patent Foramen Ovale, PFO) 이 심장 이상으로 있었다. 5번 환자는 열린 동맥관 (PDA), 열린 타원 구멍 (PFO) 과 잠복 고환 (Cryptorchidism) 이 발견되었다. 6번 환자는 백내장 (Cataract), 수뇨관신장증 (Hydroureteronephrosis), 역류성 거대요관증 (Refluxing megaureter), 지방종증 (Lipomatosis), 중추성 성조숙증 (Central precocious puberty) 이 나타났다. 7-1번 환자는 심실중격결손 (VSD) 과 열린 타원 구멍 (PFO) 이 심장 이상으로 확인되었다. 8번 환자는 갑상선 기능 저하증 (Hypothyroidism) 만 증상으로 갖고 있었다. 9번 환자는 열린 동맥관 (PDA), 심방중격결손 (atrial septal defect), 열린 타원 구멍 (PFO) 이 심장 이상으로 확인되었고, 갑상선 기능 저하증 (Hypothyroidism) 이 증상으로 나타났다.

Table 4. Other clinical features of 10 Korean patients with KBG syndrome

Index Subject NO.	1	2	3	4	5	6	7-1	7-2	8	9
Sex	M	M	F	M	M	F	F	F	F	F
Others										
Cardiac anomaly		(+) (ASD, PDA)	(+) (VSD, PFO)		(+) (PDA, PFO)		(+) (VSD, PFO)			(+) (PDA, ASD, PFO)
cryptorchidism		(+)			(+)					
Cataract						(+)				
Congenital megacolon		(+)								
Hydronephrosis, refluxing megaureter						(+)				
Lipomatosis						(+)				
Central precocious Puberty						(+)				
Hypothyroidism		(+)							(+)	(+)

고찰

KBG 증후군은 *ANKRD11* 유전자의 돌연변이에 의해 발생하는 희귀 유전질환으로 안면과 골격의 기형 특징적인 질환이다. 또한 신경학적 이상을 보일 수 있는데 대표적으로 발달 장애와 지적 장애가 나타난다 (1). 각각의 환자마다 임상 증상이 다르게 나타나며, 특히 안면 비정상, 발달 장애, 지적 장애의 중증도가 다르다. KBG 증후군을 유발하는 *ANKRD11*은 염색질 조절자로서 두개의 전사억제 도메인과 하나의 활성화 도메인을 갖고 있다. 그로 인해 *ANKRD11*은 전사과정에서 활성인자와 억제인자로서 두가지 기능을 수행한다 (11). *ANKRD11*은 HDACs와 histone 분자와의 상호작용을 통해 전사를 억제하여, ligand에 의존적인 전사를 저해한다. 다른 한편으로 *ANKRD11*은 p160 보조 활성인자 계열과 같은 HATs와 상호작용하여 유전자 전사를 활성화시킨다 (11). HDACs와 HATs는 히스톤 아세틸화를 조절하여 신경계 발달과 시냅스 가소성에 중요한 역할을 한다 (12).

본 논문에서는 서울 아산병원에서 KBG 증후군을 진단받은 10명의 환자의 *ANKRD11* 돌연변이와 임상증상을 비교했다. 10 명의 환자 중 1번 환자는 CGH array를, 2번 환자는 RT-PCR을 진행하였고, 두 환자를 제외한 나머지 7 명의 환자는 Whole exome sequencing을 한 후 sanger sequencing을 진행했다. 1번 환자와 2번 환자는 미세 결실이 있었고, 나머지 8 명의 환자는 *ANKRD11* 유전자 돌연변이가 확인되었다. 7-1번 환자와 7-2번 환자는 모녀관계로 *ANKRD11* 돌연변이가 발생한 부분이 같았다.

KBG 증후군의 대표적인 안면 비정상 증상인 두눈먼거리증 (Hypertelorism) 은 10명의 환자 중 5명, 긴 인중 (Long philtrum) 은 10명 중 4명, 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip) 은 10명 중 5명에서

확인이 되었다. 또한 KBG 증후군의 대표적인 특징인 대치증 (Macrodontia) 은 *ANKRD11* 돌연변이를 지닌 환자의 85%-95%에서 발견된다고 보고 되어있으나, 본 연구의 환자에서는 10명 중 4명에서만 발견되었다 (13). 안면 이상과 치과적 비정상으로 인한 구개음 비정상인 환자에서 발견될 경우, 수술적인 교정과 언어 치료를 통해 개선 가능하다 (13).

골격계 이상 증상은 약 75%의 KBG 증후군 환자에서 발견되며, 가장 많이 나타나는 증상은 목 갈비뼈 (Cervical ribs), 비정상적인 척추 뼈의 형태 (Abnormal vertebral shape), 종판 비정상 (End plate abnormalities), 뒤쪽의 융합 결함 (Posterior fusion defects) 등과 같은 늑골 척추 기형이다 (14). 짧은 신장은 40%-70%의 환자에서 관찰된다. 또한 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 는 추가적으로 KBG 환자에서 발견된다 (13). 본 연구의 환자에서는 늑골 척추 기형은 나타나지 않았고, 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 를 갖고 있는 환자는 10명 중 3명이었다. 뼈 나이 지연 (Bone age delay) 에 의한 짧은 신장은 성장 호르몬 치료법을 통해 치료가 가능하다. 그러나 아동기를 넘어서 지속적으로 정상 신장에 근접하는 것은 한계가 있다 (15).

신경학적 증상은 KBG 증후군에서 흔히 나타나는 증상으로, 모든 환자에서 중증도의 차이는 있지만 발달 장애 또는 인지 장애가 발견된다. 또한 언어능력이 상당히 지체 되어있고, 행동 장애가 연령 때에 따라 발생하기도 한다 (6). 주의력결핍 과잉행동장애 (ADHD) 는 KBG 환자의 약 36%에서 발생한다 (6). 뇌파 (EEG) 이상 은 발작 (Seizure) 과 상관없이 50%의 환자에서 나타난다고 보고 되어있다 (13). 본 논문에서 10명 중 6명은 지적 장애 (Intellectual disability) 가 있었다.

주의력결핍 과잉행동장애 (ADHD) 는 4명에서 확인되었다. 발작 (Seizure)은 4명의 환자에서 나타났고, 4명 중 3명에서 비정상적인 뇌파 (Abnormal EEG) 를 보인 환자는 3명이었다. 또한 비정상 뇌파 (EEG abnormality) 를 보인 3명의 환자 중에 3번 환자에서 뇌 MRI의 구조적 이상이 확인되었다. 발작 (Seizure) 은 발작 (Seizure) 이 발생한 형태에 따라 신경학과 전문의의 적절한 치료가 필요하며, 발작 (Seizure) 이 발생할 것으로 의심되는 환자는 뇌파 (EEG) 를 측정해야 하고, 발작 (Seizure) 이 발생한 환자에서는 뇌의 비정상적인 형성을 확인하기 위해 뇌 MRI를 고려해야 한다 (13). 발달 장애와 지체 장애는 연령 때에 따라 관리 방법이 달라지는데 이는 국가마다 권장되는 관리방법이 다르다 (13).

안면 이상 증상, 골격계 비정상, 신경학적 비정상 이외에도 심실중격결손 (VSD) 과 심방중격결손 (Atrial septal defect) 등을 포함한 심장 결함은 KBG 증후군 환자의 10%-26%에서 발견되고, 남성 환자의 경우 잠복 고환 (Cryptorchidism) 이 나타나기도 한다고 보고되어 있다 (13). 본 논문에서 비교한 10명의 환자 중 5명의 환자에서 심실중격결손 (VSD), 열린 타원 구멍 (PFO), 열린 동맥관 (PDA), 심방중격결손 (Atrial septal defect) 을 포함한 심장 비정상 (Cardiac anomaly) 이 발견되었다. 잠복 고환 (Cryptorchidism) 이 확인된 환자는 2번과 5번 환자였다. 이러한 심혈관계 비정상적 소견은 심장병 전문의에 의해 각 증상에 따른 표준 치료법으로 치료해야 한다 (13).

최근 연구에 따르면, *ANKRD11* knockdown을 통해 *ANKRD11*이 Histone H3와 p53의 아세틸화를 조절하고, 피질의 뉴런에서 p53가 중재하는 신경의 표적 유전자의 발현을 조절하는 것을 밝혔다 (16). *ANKRD11* 유전자에 결함이 있는 뉴런에서 promotor 지역내의 Histone H3와 p53의 아세틸화가 감소되어 뉴런의 dendrite outgrowth와 돌기 분화에 중요한

역할을 하는 BDNF/TrkB 신호전달체계에 문제가 생긴다는 것을 확인하였다. 또한 뉴런의 가지와 돌기의 수가 감소하고, 형태에 문제가 생긴다는 것을 확인하였다 (16). 해당 논문에 따르면 Tricostatin A (TSA)를 처리함으로써 *ANKRD11*에 돌연변이가 있는 뉴런에서 Histone H3와 p53의 아세틸화를 증가시킴으로써 가지의 수와 기형이 일부 회복되는 것이 보였으며, TrkB 신호전달체계의 과발현 또한 비정상적인 뉴런 가지의 발달을 부분적으로 회복시키는 것을 확인했다 (16). 따라서 TSA를 이용한 치료법은 가지의 형태를 회복시켜 신경학적 증상을 개선시키는데 도움이 될 것으로 생각된다.

KBG 증후군 환자는 골격계, 신경계, 내분비계의 다양한 질환이 동시에 나타나는 질환으로 여러 분야의 전문의의 협진이 필수적일 것으로 보였다. 신경학적 증상은 지속적인 관찰과 적절한 관리가 필요하다. 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 에 의한 짧은 신장 (Short stature) 은 성장 호르몬 치료법이 아동기 이후에 효과가 떨어지기 때문에 조기에 징후를 발견하여 치료하는 것이 중요하다고 생각한다. 본 연구는 10명의 환자들의 증상과 돌연변이가 발생한 부분을 비교하여 보고하는 것을 통해 환자의 진단과 관리 및 치료에 필요한 데이터 축적에 도움이 될 것이라고 생각한다.

결론

본 연구에서는 서울 아산 병원에서 KBG 증후군을 진단받은 10명의 환자를 대상으로 CGH array, RT-PCR, WES 검사를 이용해 돌연변이 부분을 밝히고 임상증상을 비교했다. WES 검사를 먼저 진행한 후 sanger sequencing으로 다시 확인했다. KBG 증후군의 대표적인 안면 비정상 증상 중 하나인 두눈먼거리증 (Hypertelorism) 은 10명의 환자 중 5명, 긴 인중 (Long philtrum) 은 10명 중 4명, 위로 솟은 윗입술 (Tented upper lip) 은 10명 중 5명, 대치증 (Macrodontia) 은 10명 중 4명에서 발견되었다. KBG 증후군의 대표적인 골격계 증상인 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 는 3명에서 확인되었고, 신경계 증상 중 지적 장애 (Intellectual disorder) 는 6명에서 확인이 되었다. KBG 증후군의 주된 증상 이외에 심장 비정상을 갖고 있는 환자는 5명이었다. KBG 증후군은 여러 기관의 복합적인 증상이 나타나기 때문에 각 분야별 전문가들의 협진이 필수적으로 진행되어야 하며, 각각의 증상에 따른 표준 치료가 요구된다. 지연된 뼈 나이 (Delayed bone age) 에 의해 발생한 짧은 신장을 회복시키기 위한 성장 호르몬 치료법은 아동기 전까지 유효하다. 최근 연구에서는 TSA를 처리한 뉴런에서 가지의 기형이 회복되고 신경 가소성이 회복되는 결과를 보여줬다. 이를 통해 새로운 치료 방안으로 TSA를 이용한 치료방법이 KBG 증후군 환자의 신경학적 증상이 호전될 가능성을 내포하고 있다. 본 논문은 KBG 증후군 환자들의 유전학적 특징과 임상증상을 비교하여 보고함으로써 아직 발굴되지 않은 환자의 진단과 이 희귀질환의 유전적 양상과 임상적 증상의 이해에 도움이 될 것이다.

참고 문헌

1. Herrmann J, Pallister PD, Tiddy W, Opitz JM. The KBG syndrome—a syndrome of short stature, characteristic facies, mental retardation, macrodontia and skeletal anomalies. Birth defects original article series. 1975;11(5):7-18.
2. Brancati F, Sarkozy A, Dallapiccola B. KBG syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2006;1(1):50.
3. Sirmaci A, Spiliopoulos M, Brancati F, Powell E, Duman D, Abrams A, et al. Mutations in ANKRD11 Cause KBG Syndrome, Characterized by Intellectual Disability, Skeletal Malformations, and Macrodontia. The American Journal of Human Genetics. 2011;89(2):289-94.
4. Willemsen MH, Fernandez BA, Bacino CA, Gerkes E, de Brouwer APM, Pfundt R, et al. Identification of ANKRD11 and ZNF778 as candidate genes for autism and variable cognitive impairment in the novel 16q24.3 microdeletion syndrome. European Journal of Human Genetics. 2010;18(4):429-35.
5. Gallagher D, Voronova A, Zander MA, Cancino GI, Bramall A, Krause MP, et al. Ankrd11 is a chromatin regulator involved in autism that is essential for neural development. Developmental cell. 2015;32(1):31-42.

6. Gnazzo M, Lepri FR, Dentici ML, Capolino R, Pisaneschi E, Agolini E, et al. KBG syndrome: Common and uncommon clinical features based on 31 new patients. 2020;182(5):1073-83.
7. Lim JH, Seo EJ, Kim YM, Cho HJ, Lee JO, Cheon CK, et al. A de novo microdeletion of ANKRD11 gene in a Korean patient with KBG syndrome. Annals of laboratory medicine. 2014;34(5):390-4.
8. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. 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. Genetics in Medicine. 2015;17(5):405-23.
9. Seo GH, Kim T, Choi IH, Park JY, Lee J, Kim S, et al. Diagnostic yield and clinical utility of whole exome sequencing using an automated variant prioritization system, EVIDENCE. Clinical genetics. 2020;98(6):562-70.
10. Bustin S. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays %J Journal of Molecular Endocrinology. 2000;25(2):169.
11. Zhang A, Yeung PL, Li CW, Tsai SC, Dinh GK, Wu X, et al. Identification of a novel family of ankyrin repeats containing cofactors for p160 nuclear receptor coactivators. The Journal of biological chemistry. 2004;279(32):33799-805.

12. Guan JS, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg JH, Joseph N, Gao J, et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*. 2009;459(7243):55-60.
13. Morel Swols D, Foster J, Tekin M. KBG syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12(1):183.
14. Skjei KL, Martin MM, Slavotinek AM. KBG syndrome: Report of twins, neurological characteristics, and delineation of diagnostic criteria. 2007;143A(3):292-300.
15. Reynaert N, Ockeloen CW, Sävendahl L, Beckers D, Devriendt K, Kleefstra T, et al. Short Stature in KBG Syndrome: First Responses to Growth Hormone Treatment. *Hormone Research in Paediatrics*. 2015;83(5):361-4.
16. Ka M, Kim WY. ANKRD11 associated with intellectual disability and autism regulates dendrite differentiation via the BDNF/TrkB signaling pathway. *Neurobiology of disease*. 2018;111:138-52.

영문 요약

Clinical and genetical feature in KBG syndrome patients with *ANKRD11* gene mutation

KBG syndrome is caused by a mutation in the *ANKRD11* gene or by microdeletion exists in chromosome 16q24.3 containing *ANKRD11*. It is inherited in an autosomal dominant manner. This disease is a rare genetic disease, as only more than 150 have been reported. In the current study, clinical and genetic features of 10 Korean patients with KBG syndrome were described. Whole exome sequencing was performed using genomic DNA obtained by the patient's peripheral blood and then each mutation was again confirmed by Sanger sequencing. Comparative Genomic Hybridization array and realtime polymerase chain reaction was done to validate the exonic deletion. Typical clinical features were shown in all patients such as craniofacial dysmorphism, skeletal anomalies, and neurological abnormalities. Eight patients had a point mutation, whereas the remaining two patients had exonic deletion. Six patients had mutations in exon 9. Five patients (5/10) had hypertelorism, four patients (4/10) had long philtrum, five patients (5/10) had tented upper lip, and four patients (4/10) had macrodontia. As skeletal abnormalities, delayed bone age was observed in three patients. Six of the patients had intellectual disability as neurological abnormalities. Congenital cardiac diseases were found in five patients.

This study is the first study described the clinical and genetic

features of KBG syndrome in Korean population, which will help to understand its clinical and genetic characteristics.