

만성골수성백혈병 만성기에서 급성기로 전환 시 동반된 암유전자 N-ras Gene의 돌연변이

¹한양대학교 의과대학 내과학교실, ²서울대학교 의과대학 내과학교실

송성현¹ · 노영욱¹ · 안용우¹ · 김연재¹ · 변영상¹ · 최지영¹ · 황덕원¹
박병배¹ · 최정혜¹ · 김인순¹ · 김병국² · 이영열¹

Mutation of the N-ras Gene in a Patient Suffering from the Blast Phase of Chronic Myelogenous Leukemia

Sung-Heon Song, M.D.¹, Young-Wook Roh, M.D.¹, Yong-Woo Ahn, M.D.¹, Yeon-Jae Kim, M.D.¹,
Young-Sang Byoun, M.D.¹, Ji-Young Choi, M.D.¹, Deok-Won Hwang, M.D.¹, Byoung-Bae Park, M.D.¹,
Jung-Hye Choi, M.D.¹, In-Soon Kim, M.D.¹, Byoung-Kook Kim, M.D.² and Young-Yiul Lee, M.D.¹

Department of Internal Medicine, College of Medicine, ¹Hanyang University, ²Seoul National University, Seoul, Korea

The blast phase in chronic myelogenous leukemia (CML) is associated with mutation of several genes. It is well known that p53 gene mutation plays a key role in the myeloid or lymphoid blast phase of CML. But for the case of the N-ras gene, the association between N-ras mutations and the blast phase of CML is not yet known. We report here on a case of detecting N-ras point mutation without p53 mutation in a 64 year-old man who suffered from the lymphoblastic blast phase of CML. (*Korean J Hematol 2009;44:100-103.*)

Key Words: Chronic myelogenous leukemia, Gene mutation, Blast phase, N-ras

서 론

만성골수성백혈병의 발병은 염색체 9번과 22번의 전이에 따른 bcr 및 c-abl 유전자의 재배열에 다른 c-abl 유전자의 활성화에 기인하는 것으로 알려져 있다. 만성골수성백혈병은 과거에는 동종조혈모세포이식이 가능한 경우에는 동종조혈모세포이식을 통해 완치를 기대할 수 있었으며, 불가한 경우에는 interferon alpha 나 기타 항암화학요법으로 치료를 하였으나, 현재는 새롭게 진단된 만성골수성백혈병 모두에 대해 imatinib mesilate로 일차 치료를 하고 있다.

만성기에서 급성기로 전환 시 다양한 비정상적인 염색체의 변화가 관찰되고 있으며, 분자 생물학적인 면에서 암 억제 유전자인 p53의 기능 소실, 특히 점돌연변이가 발견되어 이 p53 유전자의 기능 이상이 급성기로의 전환에 깊은 관련이 있는 것으로 생각되고 있다.^{1,2)}

여러 종류의 암유전자 중 ras 암유전자는 점돌연변이가 일어나면서 암을 유발시킬 수 있다고 알려져 있으며, 급성골수성백혈병, 골수이형성증후군 등에서 대략 25~44%로 발견되고 있다고 알려져 있다.³⁾ 그러나, 만성골수성백혈병의 만성기에서 급성기로의 발전 시 N-ras 암유전자의 돌연변이의 발생은 매우 희귀하게

접수 : 2009년 3월 19일, 수정 : 2009년 6월 1일
승인 : 2009년 6월 5일
교신저자 : 이영열, 서울시 성동구 행당동 17번지
☎ 133-792, 한양대학교병원 내과
Tel: 02-2290-8334, Fax: 02-2298-9183
E-mail: leeyy@hanyang.ac.kr

Correspondence to : Young-Yiul Lee, M.D.
Department of Internal Medicine, Hanyang University Hospital
17, Haengdang-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-792, Korea
Tel: +82-2-2290-8334, Fax: +82-2-2298-9183
E-mail: leeyy@hanyang.ac.kr

보고되고 있다. 이에 저자 등은 만성골수성백혈병 만성기에서 급성기(lymphoblastic blast phase)로 전환된 환자에서 N-ras 유전자의 점돌연변이를 관찰하여 이에 보고하는 바이다.

증 례

환 자: 64세, 남자

주 소: 호흡곤란

현병력: 4년 전 골수 생검에서 필라델피아 염색체 양성 만성골수성백혈병(mixed granulocytic & megakaryocytic)의 만성기로 진단받고 항암화학요법 치료(hydroxyurea+busulfan)를 시행하면서 외래를 통해 경과 관찰 중 3개월 전 잇몸 출혈과 피부 점상 출혈이 있었고, 1개월 전부터 호흡곤란이 발생하여 내원하였다.

과거력: 폐결핵으로 2차례(20년 전, 1년 전) 치료 받은 병력이 있다.

가족력: 특이 소견 없었다.

이학적 검사: 만성병색이었고, 잇몸 출혈과 함께 사지피부에 점상 출혈을 보였고, 흉부 진찰에서 전 흉부에 수포음이 청진되었으며, 심음은 이상이 없었다. 복부 진찰에서 비장 종대가 관찰되었다.

검사실 소견: 내원 당시 시행한 일반 혈액 검사에서 백혈구 137,600/ μ L (blast 88%), 혈색소 6.6g/dL, 혈소판 18,000/ μ L이었다. 내원 당시 화학 검사 소견은 LDH 148mg/dL, total protein 7.9g/dL, albumin 4.1g/dL, total bilirubin 1.2mg/dL, alkaline phosphatase 77 mg/dL, AST 59U/L, ALT 36U/L이었다. 말초 혈액에서 blast 88%, 말초 혈액을 이용한 lymphoma-leukemia marker study를 시행하여 TdT (+) I2 (+), B4 (+), J5

(+), MY9 (+), MY7 (+)로 만성골수성백혈병의 급성기(lymphoblastic blast phase)로 진단하였다(Table 1).

급성기 전환 시의 p53과 N-ras 유전자의 이상 유무를 관찰하기 위해서 p53 유전자에 대해서 exon 5, 6, 7, 8에서, N-ras 유전자에 대해서 exon 2, 3에서 점돌연변이 선별검사로 PCR-SSCP (polymerase chain reaction- single strand conformation polymorphism)를 시행하였고, 점돌연변이의 확인은 PCR을 통한 dideoxy

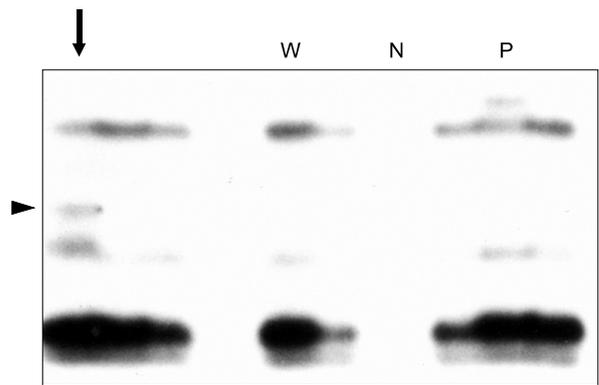


Fig. 1. PCR-SSCP analysis of N-ras exon 1 in a patient with CML-blast phase. Band shift due to point mutation was detected on the arrowed sample. Controls included DNAs from a sample with known N-ras exon 1 mutation as a positive control (P), from normal lymphocytes as a normal control (W), and a negative control (no template DNA) (N).

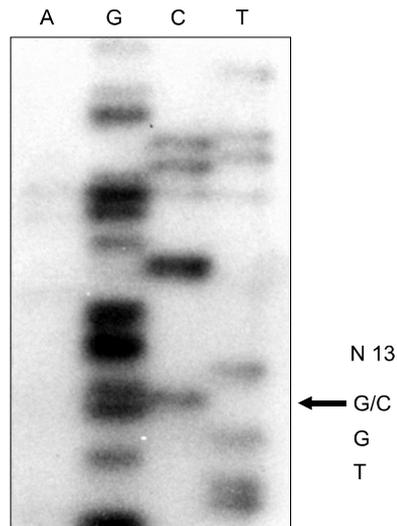


Fig. 2. Dinucleotide sequencing of exon 1 of N-ras gene from DNA of a patient with CML-blast phase. Sequences are shown 5' (top) to 3' (bottom). A codon 13, GGT, was mutated to CGT, substituting an aminoacid arginine for glycine. Arrow indicates the base that has the point mutation.

Table 1. Lymphoma-leukemia marker study

Marker study result			
Test/MoAb	Result (%)	CD	Specificity
TdT	95		Nuclear TdT
Leu-9	2	CD7	T cell
T1	3	CD5	T cell
T11	7	CD2	T cell (E-rosette receptor)
I2	95		Ia-like Ag (HLA-D/DR)
B4	92	CD19	B cell
J5	56	CD10	CALLA
MY9	86	CD33	Myeloid
MY7	19	CD13	Myeloid
GP11a	0	CD61	Platelet GP11a

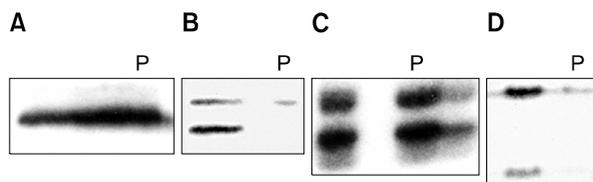


Fig. 3. PCR-SSCP analysis of p53 gene of exon 5 (A), 6 (B), 7 (C), and 8 (D) in a patient with CML-blast phase. No band shift was observed in the patient (P).

chain- termination 방법을 사용하였다. 그 결과 환자의 N-ras 유전자는 codon 13에서 GGT → CGT로의 점돌연변이를 보이며, glycine에서 arginine으로의 아미노산 변화를 나타내었고(Fig. 1, 2), p53 유전자는 정상 소견을 나타내었다(Fig. 3).

흉부방사선 소견: 양측 폐상엽에는 과거 폐결핵 병변에 의한 섬유화 소견이 관찰되었으며 전체적으로 양쪽 폐상엽으로 폐 부피가 감소되어 보였다.

치료 및 경과: 급성기 진단 후 vincristine과 함께 prednisolone의 투여를 시작하였고, 2nd cycle 시행 후에도 환자의 임상 양상 호전은 없었다. 이후 갑자기 발열, 오한을 호소하면서 호흡곤란을 심하게 호소하였고, 당시 혈압 85/50mmHg, 맥박수 140회/분, 호흡수 32회/분, 체온 40.5°C였고, 일반 혈액 검사상 백혈구 4,000/ μ L, 혈색소 7.4g/dL, 혈소판 10,000/ μ L이었다. 흉부방사선에서 양측 하부 폐하로 경결성 침윤(patchy infiltration) 소견이 새로 발생하였고, 동맥혈 검사에서 산소포화도 85%, 산소분압 62mmHg, 이산화탄소분압 26mmHg로 관찰되었다. 환자는 이후 항생제 치료에도 불구하고 활력 징후의 악화를 보이면서 호흡 부전으로 진행하여 사망하였다.

고 찰

암유전자 중의 하나인 ras 유전자는 GTPase 활성화를 갖는 21kd의 GTP-결합단백질(ras p21 단백질)을 생성한다. 이 단백질은 세포막에 위치하여 신호전달 체계에 관여함으로써 세포의 성장과 분화를 조절한다.^{4,7)} Ras 유전자에 점돌연변이가 일어나게 되면 GTPase 활성을 잃어버리면서 활성화된 GTP-결합단백질 형태로만 지속적으로 존재하게 되어 외부 자극 없이도 신호가 계속 전달됨으로써 세포성장과 분화를 조절하는 능력을 잃어버려 암을 유발시킬 수 있게 된다.⁵⁾

급성골수성백혈병과 골수이형성증후군의 경우에는 N-ras와 K-ras 유전자 codon 12, 13, 61의 돌연변이가

이들 질환의 발생과 관련이 있다고 알려져 있다.³⁾ Neubauer 등의 연구에서는 18%의 ras 유전자 점돌연변이 발생률과 함께, 돌연변이가 발생한 환자들의 예후가 더 나쁘다고 보고하였다.^{8,9)} 그러나, 현재까지도 급성골수성백혈병과 골수이형성증후군에서 ras 유전자의 돌연변이가 정확히 어떤 경로에 의해 질병의 발생과 진행에 영향을 미치며, 예후에도 어떻게 영향을 미치는 지에 대해서는 정확히 정립된 바는 없는 실정이다.

만성골수성백혈병의 경우 만성기에는 아직까지도 ras 유전자의 돌연변이가 발견된 경우는 없으나, 급성기 전환 시에 N-ras 유전자의 돌연변이가 확인된 경우가 매우 드물게 보고되고 있다.¹⁰⁾ 그러나, 증례 자체가 매우 희귀하게 보고되고 있어 N-ras 유전자 돌연변이가 만성골수성백혈병의 발생과 진행에서 어떤 역할을 할 것이라고는 알려진 바가 없다.¹⁰⁻¹²⁾ 만성골수성백혈병에서 급성기로 전환된 97명의 환자를 대상으로 한 Watzinger 등의 연구에서도 N-ras 유전자 돌연변이는 나타나지 않았으며, 필라델피아 염색체 음성의 만성골수단구백혈병의 한 가지 증례에서만 N-ras 유전자 돌연변이가 나타났다.¹²⁾

저자들은 만성골수성백혈병 환자에서 급성기로 전환 시 항암요법에 반응 없이 패혈증으로 사망한 증례에서 N-ras 유전자 돌연변이가 발견된 것을 확인하였다. 이 환자의 만성기시 N-ras 유전자의 점돌연변이가 이미 존재했을 수도 있었겠으나 환자가 내원 당시 이미 급성기 상태에 있어 그 존재 유무는 알 수 없지만 만성기시 N-ras 유전자의 점돌연변이가 보고된 예는 전무하기 때문에 그 가능성은 거의 희박하다고 사료된다. 만성골수성백혈병의 급성기로의 전환시 다양한 세포유전학적 변화가 보고되고 있는 바, p53, Rb, MYC, IL-1 beta, *L1NE-1* retrotransposon promoter, tumor suppressor protein phosphatase A2 등의 유전자의 변이가 그들이다. 그 중 가장 흔한 유전자의 변이는 p53 유전자의 변이로 알려져 있지만^{1,2)} 본 환자의 증례에서는 p53 유전자의 변이는 관찰할 수가 없었다.

따라서, 많은 수의 환자를 대상으로 한 연구에서는 돌연변이가 관찰되지 않았지만¹²⁾ 만성기 만성골수성백혈병의 급성기로의 전환 및 질병 진행 및 치료 반응에 있어서 N-ras 유전자 돌연변이가 어떠한 역할을 하지 않을까 생각된다. 결론적으로, 만성골수성백혈병에서의 급성기로의 전환에 대한 원인 규명을 위해서는 염색체 검사, p53 유전자뿐만 아니라 N-ras 유전자의 이상 유무를 동시에 조사해야 됨은 물론, 앞으로 이들

의 결과와 임상 성적과의 상관관계를 분석하는 것이 필요하다고 사료된다.

요 약

만성골수성백혈병의 급성기는 몇 가지 유전자들의 돌연변이와 관련이 있다. P53 유전자 돌연변이는 골수성 급성기나 림프구성 급성기 모두에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 그러나, N-ras 유전자의 경우는 만성골수성백혈병의 급성기와의 연관성은 아직까지 잘 알려져 있지 않은 실정이다. 이에 저자 등은 만성골수성백혈병 만성기에서 급성기(lymphoblastic blast phase)로 전환된 환자에서 p53 유전자 돌연변이 없이 N-ras 유전자의 점돌연변이를 관찰하여 이에 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

- 1) Cline MJ, Jat PS, Foti A. Molecular mechanisms in the evolution of chronic myelocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1992;7:283-7.
- 2) Ahuja H, Bar-Eli M, Arlin Z, et al. The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelocytic leukemia. *J Clin Invest* 1991;87:2042-7.
- 3) Kelly LM, Gilliland DG. Genetics of myeloid leukemias. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002;3:179-98.
- 4) Malumbres M, Barbacid M. Ras oncogenes: the first 30 years. *Nature* 2003;3:7-13.
- 5) Shin DB, Kim YI, Kim JH, Kim SY, Yoon HJ, Cho KS. Point mutations of N-ras oncogene in acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Korean J Med* 1996;50:94-105.
- 6) Barbacid M. Ras genes. *Annu Rev Biochem* 1987;56:779-827.
- 7) Gibbs JB, Marshall MS. The ras oncogene is an important regulatory element in lower eukaryotic organisms. *Microbiol Rev* 1989;53:171-85.
- 8) Neubauer A, Dodge RK, Geroge SL, et al. Prognostic importance of mutations in the ras proto-oncogenes in de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 1994;83:1603-11.
- 9) Neubauer A, Greenberg P, Negrin R, Ginzton N, Liu E. Mutations in the ras proto-oncogenes in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 1994;8:638-41.
- 10) LeMaistre A, Lee MS, Talpaz M, et al. Ras oncogene mutations are rare late stage events in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1989;73:889-91.
- 11) Collins SJ, Howrd M, Andrews DF, Aqura E, Radich J. Rare occurrence of N-ras point mutations in Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1989;73:1028-32.
- 12) Watzinger F, Gaiger A, Karlic H, Becher R, Pillwein K, Lion T. Absence of N-ras mutations in myeloid and lymphoid blast crisis of chronic myeloid leukemia. *Cancer Res* 1994;54:3934-8.