

# Mutations of Renal Transporter Genes in Bartter Syndrome

단국대학교 의과대학 내과학교실

조 종 태

## 서 론

1962년에 Bartter 등<sup>1)</sup>은 저칼륨혈증, 대사성알칼리증, 고레닌, 고알도스테론, 정상이거나 낮은 혈압, 엔지오텐신 II 투여에 혈압반응 감소, 사구체염복합체의 증식 등을 특징으로 하는 새로운 증후군을 기술했다. 1966년에 Gitelman 등<sup>2)</sup>은 저마그네슘혈증, 저칼슘뇨성 Bartter 증후군 변형 (Gitelman syndrome)을 처음으로 보고했다. 그 후에 Bartter 증후군 및 이와 유사한 증후군 (Bartter-like syndrome), 즉 저칼륨혈증성 대사성알칼리증을 특징으로 하는 유전성 (상염색체 열성) 신세뇨관질환들이 많이 보고되었다. 이러한 Bartter-유사 증후군은 적어도 3가지 서로 다른 임상적 표현형으로 구분할 수 있다<sup>3,4)</sup>: ① classic Bartter syndrome; ② Gitelman syndrome; ③ antenatal (neonatal) Bartter syndrome.

이러한 Bartter-유사 증후군의 근본적인 원인이 무엇인지는 비교적 최근까지도 잘 알지 못한 상태로 여러 가설들이 제시되었다<sup>5)</sup>. 첫째, 엔지오텐신 II에 대한 혈관반응 감소가 일차적 원인이고 이에 따른 레닌, 알도스테론의 상승이 Bartter 증후군의 여러 임상소견을 초래한다는 것이다. 그러나 엔지오텐신 II에 대한 혈관반응 감소는 세뇨관 염분 소실에 의해 초래된 체액 감소에 의한 지속적 자극의 결과이고 혈중 엔지오텐신 II를 captopril과 같은 약물로 낮추면 엔지오텐신 II 투여에 혈관반응이 회복된다는 점 등으로 볼 때 엔지오텐신 II에 대한 혈관반응 감소가 Bartter 증후군의 일차적 원인이 아니라는 반론이 있었다. 둘째, 프로스타글란딘의 과잉생성이 일차적 원인이고 이에 따른 세뇨관 Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 이동 장애와 레닌의 상승이 Bartter 증후군의 여러 임상소견을 초래한다는 것이다. 그러나 프로스타글란딘의 과잉생성은 저칼륨혈증

에 의한 것이고 저칼륨혈증을 교정하면 프로스타글란딘이 감소한다는 점, cyclooxygenase-inhibiting drug으로 프로스타글란딘을 낮추어도 Bartter 증후군의 모든 현상을 개선시킬수는 없다는 점 등으로 볼 때 프로스타글란딘의 과잉생성이 Bartter 증후군의 일차적 원인이 아니라는 반론이 있었다. 셋째, 헨레고리 상행각이나 원위부 세뇨관의 Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 이동 장애가 일차적 원인이고 이에 따른 Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>의 소실로 레닌, 알도스테론의 상승과 칼륨배설의 증가가 Bartter 증후군의 여러 임상소견을 초래한다는 것이다. 이러한 세뇨관 이온 이동 장애가 Bartter 증후군의 일차적 원인이라는 생각의 근거는 Bartter 증후군과 Gitelman 증후군의 임상소견이 각각 furosemide와 thiazide를 지속적으로 사용할 때 관찰되는 임상소견과 유사하다는 점과 실제로 Bartter-유사 증후군에서 Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 재흡수가 감소되어 있다는 점 등이다.

## Materials and Methods for Testing Tubular Ion Transporter Gene as a Candidate Gene for Bartter-like Syndrome

환자, 가족, 건강대조군으로부터 채취한 혈액으로부터 genomic DNA를 분리하여 검체로 사용한다. 세뇨관 이온 운반체 (tubular ion transporter) 유전자의 변이가 Bartter-유사 증후군의 원인되는 유전자 (candidate gene)라는 것을 규명하는 방법으로는 International Study of Genetic Renal Disease (ISGRD) working group에서 제시한 접근방법을 이용한다<sup>6)</sup> (Fig. 1).

먼저 의심되는 유전자의 염기서열이나 단백질 구조와 염색체 위치를 알아야 한다 (gene characterization). 다음에 microsatellite marker들을 사용하여 의심되는 유전자를 genotyping하고 그 결과 가족내에

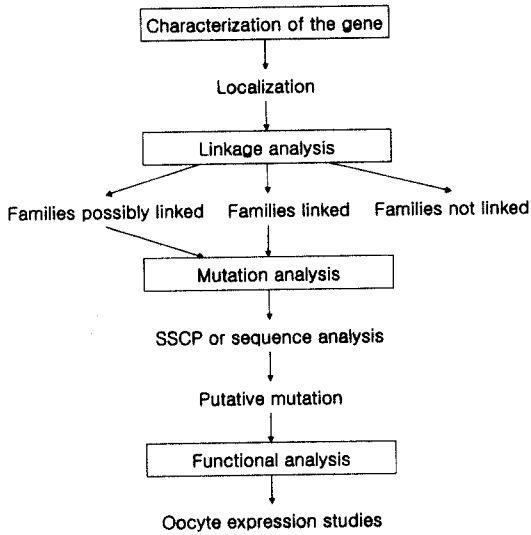


Fig. 1. Strategy for testing tubular ion transporter as a candidate gene for Bartter-like syndrome.

서 환자에게 특정 genotype이 연관되는지 알아본다 (linkage analysis). 가족내에서 환자에게 특정 genotype이 일관성 있게 연관되면, 즉 linkage 되어 있다는 것은 그 유전자가 Bartter 증후군과 밀접한 관계가 있다는 것을 의미한다. 그 다음에는 의심되는 유전자를 single strand conformational polymorphism (SSCP)나 염기서열 분석을 한다 (mutational analysis). 염기서열 분석은 polymerase chain reaction (PCR)로 얻은 증폭된 DNA 분절을 자동 DNA 염기서열분석기 (Applied Biosystems, Foster, CA, U.S.A.)를 사용하여 직접 분석한다. 관찰된 염기서열 변이로부터 아미노산서열의 변화를 알 수 있고 이로부터 세뇨관 이온 운반체 (tubular ion transporter)의 단백질 기능 변화를 추론할 수 있다. 그러나 그 관계가 의심스러우면 결국 의심되는 변이 유전자를 oocyte에 주입하여 발현시켜보는 oocyte expression study를 이용하여 세뇨관 이온 운반체 유전자의 변이가 Bartter-유사 증후군의 원인되는 유전자라는 것을 규명한다 (functional analysis).

## Mutations of Renal Transporter Genes in Bartter-like Syndrome

### 1. Mutations of the *NCCT* in Gitelman syndrome

Gitelman 증후군의 임상소견과 유사한 thiazide의 작용부위인 원위세뇨관에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수 기전을 살펴보면 세뇨관내에 있는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 는 luminal membrane에 있는 TSC (thiazide sensitive Na-Cl cotransporter; *NCCT*)에 의해 세포내로 이동한다. 따라서 *NCCT* 유전자의 변이가 있으면 원위세뇨관에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수의 장애가 발생하여 thiazide를 지속적으로 사용할 때 관찰될 수 있는 임상소견, 즉 Gitelman 증후군을 초래할 수 있다고 가정할 수 있다.

1996년 Simon 등<sup>7)</sup>은 Gitelman 증후군 환자 여덟 가족들을 대상으로 linkage analysis를 시행한 결과 Gitelman 증후군 환자들은 16번 염색체에 있는 *NCCT* 유전자에 linkage 되어 있고, mutational analysis 결과 missense mutation, splice site mutation, deletion mutation, nonsense mutation 등이 있음을 관찰하였다.

*NCCT* 유전자의 변이가 Gitelman 증후군을 초래한다는 증거는 Gitelman 증후군이 *NCCT* 유전자와 16번 염색체에서 linkage 되어 있다는 것과 *NCCT* 유전자의 변이가 Gitelman 증후군에 특이적인 (specific) 현상이고 이로 인해 충분히 TSC 기능에 장애가 초래될 수 있다는 것, 그리고 Gitelman 증후군의 다양한 임상소견들이 TSC 기능장애에 의해 설명된다는 것들이다.

### 2. Mutations of the *NKCC2* in antenatal Bartter syndrome

Bartter 증후군의 임상소견과 유사한 furosemide나 bumetanide의 작용부위인 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수 기전을 살펴보면 세뇨관내에 있는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 는 luminal membrane에 있는 BSC (bumetanide sensitive Na-K-2Cl cotransporter; *NKCC2*)에 의해 세포내로 이동한다. 따라서 *NKCC2* 유전자의 변이가 있으면 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수의 장애가 발생하여 furosemide나 bumetanide를 지속적으로 사용할 때 관찰될 수 있는 임상소견, 즉

Bartter 증후군을 초래할 수 있다고 가정할 수 있다.

1996년 Simon 등<sup>8)</sup>은 신생아 Bartter 증후군 (antenatal Bartter syndrome) 환자 다섯 가족들을 대상으로 linkage analysis를 시행한 결과 이들 신생아 Bartter 증후군 환자들은 15번 염색체에 있는 *NKCC2* 유전자에 linkage 되어 있고, mutational analysis 결과 missense mutation, 1-bp insertion 혹은 1-bp deletion으로 인한 frameshift mutation 등이 있음을 관찰하였다.

*NKCC2* 유전자의 변이가 신생아 Bartter 증후군을 초래한다는 증거는 신생아 Bartter 증후군이 *NKCC2* 유전자와 15번 염색체에서 linkage 되어 있다는 것과 *NKCC2* 유전자의 변이가 신생아 Bartter 증후군에 특이적인 현상이고 이로 인해 충분히 BSC 기능에 장애가 초래될 수 있다는 것, 그리고 신생아 Bartter 증후군의 다양한 임상소견들이 BSC 기능장애에 의해 설명된다는 것들이다.

### 3. Mutations of the *ROMK* in antenatal Bartter syndrome

헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수 기전을 다시 살펴보면 세뇨관내에 있는  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 는 luminal membrane에 있는 BSC에 의해 세포내로 이동한다. BSC의 원활한 기능을 위해서는 BSC를 통해 세포내로 들어온  $\text{K}^+$ 이 luminal membrane에 있는 K channel (*ROMK*; *KCNJ1*)을 통해 세포밖으로 환원 (recycle)되어야 한다. 즉 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수에는 BSC와 K channel의 상호작용이 필요하다. 따라서 *ROMK* 유전자의 변이가 있으면 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수의 장애가 발생하여 Bartter 증후군을 초래할 수 있다고 가정할 수 있다.

또 다른 신생아 Bartter 증후군 환자 가족들을 대상으로 linkage analysis를 시행한 결과들<sup>9, 10)</sup>을 보면 이들 환자들 중에 *NKCC2* 유전자에 linkage 되어 있지 않은 경우들이 있다. 이 환자들을 대상으로 *ROMK* 유전자에 대해 linkage analysis를 시행한 결과 이들 신생아 Bartter 증후군 환자들은 11번 염색체에 있는 *ROMK* 유전자에 linkage 되어 있고, mutational analysis 결과 missense mutation, non-sense mutation, 4-bp deletion으로 인한 frameshift mutation 등이 있음을 관찰하였다.

*ROMK* 유전자의 변이가 신생아 Bartter 증후군을 초래한다는 증거는 신생아 Bartter 증후군이 *ROMK* 유전자와 11번 염색체에서 linkage 되어 있다는 것과 *ROMK* 유전자의 변이가 신생아 Bartter 증후군에 특이적인 현상이고 이로 인해 충분히 K channel 기능에 장애가 초래될 수 있다는 것, 그리고 신생아 Bartter 증후군의 다양한 임상소견들이 K channel 기능장애에 의해 설명된다는 것들이다.

### 4. Mutations of the *CLCNKB* in Bartter-like syndrome

헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 를 원활하게 재흡수하기 위해서는 BSC와 K channel의 상호작용 뿐만 아니라 재흡수된  $\text{Na}^+$ 은 basolateral membrane에 있는 Na-K-ATPase pump에 의해 세포밖으로 이동하고,  $\text{Cl}^-$ 는 chloride channel (*CLCNKB*)이나 K-Cl cotransporter를 통해 세포밖으로 이동해야 한다. 즉 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수에는 luminal membrane에 있는 BSC와 K channel 뿐만 아니라 basolateral membrane에 있는 chloride channel의 상호작용이 필요하다. 따라서 *CLCNKB* 유전자의 변이가 있으면 헨레고리 상행각에서  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  재흡수의 장애가 발생하여 Bartter 증후군을 초래할 수 있다고 가정할 수 있다.

1997년 Simon 등<sup>11)</sup>은 전형적 Bartter 증후군 (classic Bartter syndrome)과 *NKCC2*나 *ROMK*에 mutation이 없는 신생아 Bartter 증후군 환자 가족들을 대상으로 *CLCNKB* 유전자에 대해 linkage analysis를 시행한 결과 이들 환자들은 1번 염색체에 있는 *CLCNKB* 유전자에 linkage 되어 있고, mutational analysis 결과 missense mutation, large deletion mutation, small insertion 혹은 deletion으로 인한 frameshift mutation 등이 있음을 관찰하였다.

*CLCNKB* 유전자의 변이가 전형적 Bartter 증후군과 일부 신생아 Bartter 증후군을 초래한다는 증거는 전형적 Bartter 증후군과 일부 신생아 Bartter 증후군이 *CLCNKB* 유전자와 1번 염색체에서 linkage 되어 있다는 것과 *CLCNKB* 유전자의 변이가 이들 환자들에게 특이적인 현상이고 이로 인해 충분히 chloride channel 기능에 장애가 초래될 수 있다는 것, 그리고 이들 환자들의 다양한 임상소견들이 chloride channel 기능장애에 의해 설명된다는 것들이다.

### 맺 음 말

현재까지 Bartter-유사 증후군 환자에서 4가지 서로 다른 renal transporter에 유전자 변이가 확인되었고, Bartter-유사 증후군은 유전적으로 다른 질환들로 구성되어 있다는 것 (genetic heterogeneity)이 규명되었다. 즉 Gitelman 증후군에서 원위세뇨관에 있는 ① *NCCT* 유전자; 신생아 Bartter 증후군에서 헨레고리 상행각에 있는 ② *NKCC2* 유전자; 혹은 ③ *ROMK* 유전자; 전형적 Bartter 증후군에서 헨레고리 상행각에 있는 ④ *CLCNKB* 유전자 등의 기능소실 변이 (loss-of-function mutation)이다.

따라서 Bartter-유사 증후군의 병태생리는 renal transporter 유전자 변이와 그 결과로 발생한 헨레고리 상행각이나 원위부 세뇨관의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  이동 장애가 일차적 원인이고 이에 따른  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ 의 소실로 이차적으로 레닌, 알도스테론의 상승과 칼륨배설의 증가가 Bartter-유사 증후군의 여러 임상소견을 초래한다는 것으로 설명할 수 있다.

향후 과제로는 renal transporter 유전자 변이와 단백질 기능과의 상호관계를 알아보고 (functional analysis of gene mutation), Bartter-유사 증후군의 일차적 원인으로 K-Cl cotransporter와 같은 다른 renal transporter의 역할을 규명하며, 유전형과 표현형의 상관관계(genotype-phenotype correlation)를 알아본다. 또한 특정 변이 유전자가 임상소견에 어떤 영향을 초래하는지, heterozygous carrier나 gain-of-function mutation이 임상적으로 어떤 결과를 초래하는지도 흥미롭다. 아울러 Bartter-유사 증후군의 진단이 기본적으로 exclusion diagnosis이고 치료도 renal transporter 장애에 이차적인 현상들 (저칼륨혈증, 알도스테론의 상승, 프로스타글란딘의 과잉생산)을 경감시키는 데에 국한되었는데 Bartter-유사 증후군의 진단과 치료에 유전자 수준에서의 접근을 기대해 본다.

### 참 고 문 헌

1) Bartter FC, Pronove P, Gill JP, MacCredile RC :

Hyperplasia of the juxtaglomerular complex with hyperaldosteronism and hypokalemic alkalosis. *Am J Med* 33:811-828, 1962

2) Gitelman HJ, Graham JB, Welt LG: A new familial disorder characterized by hypokalemia and hypomagnesemia. *Trans Assoc Am Physicians* 79:221-233, 1966

3) Guay-Woodford LM: Bartter syndrome: unraveling the pathophysiologic enigma. *Am J Med* 105:151-161, 1998

4) Rodriguez-Soriano J: Bartter and related syndromes: the puzzle is almost solved. *Pediatr Nephrol* 12:315-327, 1998

5) Clive DM: Bartter's syndrome: the unsolved puzzle. *Am J Kidney Dis* 25:813-823, 1995

6) Guay-Woodford LM: Molecular insights into the pathogenesis of inherited renal tubular disorders. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 4:121-129, 1995

7) Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, Ellison D, Karet FE, Molina AM, Vaara I, Iwata F, Cushner HM, Koolen M, Gainza FJ, Gitelman HJ, Lifton RP: Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nat Genet* 12:24-30, 1996

8) Simon DB, Karet FE, Hamdan JH, DiPietro A, Sanjad SA, Lifton RP: Bartter syndrome, hypokalemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the Na-K-2Cl cotransporter *NaKCC2*. *Nat Genet* 13:183-188, 1996

9) Simon DB, Karet FE, Rodriguez-Soriano J, Hamdan JH, DiPietro A, Trachtman H, Sanjad SA, Lifton RP: Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the  $\text{K}^+$  channel, *ROMK*. *Nat Genet* 14:152-156, 1996

10) International Collaborative Study Group for Bartter-like syndromes: Mutations in the gene encoding the inwardly-rectifying renal potassium channel, *ROMK*, cause the antenatal variant of Bartter syndrome: evidence for genetic heterogeneity. *Hum Mol Gen* 6:17-26, 1997

11) Simon DB, Bindra RS, Mansfield TA, Nelson-Williams C, Mendonca E, Stone R, Schurman S, Nayir A, Alpay H, Bakkaloglu A, Rodriguez-Soriano J, Morales JM, Sanjad SA, Taylor CM, Pilz D, Brem A, Trachtman H, Griswold W, Richard GA, John E, Lifton RP: Mutations in the chloride channel gene, *CLCNKB*, cause Bartter's syndrome type III. *Nat Genet* 17:171-178, 1997