



A Novel Mutation of *KRT14* Gene in a Newborn with Epidermolysis Bullosa Simplex (Dowling-Meara Type): Case Report

Sung-min Lim, MD¹,
Jin hee Kim, MD¹,
Yeseul Kim, MD²,
Seung Sam Paik, MD, PhD²,
Jeong Eun Kim, MD, PhD³,
Joo Yeon Ko, MD, PhD³,
Jinsup Kim, MD¹,
Hyun-Kyung Park, MD, PhD¹,
Chang-Ryul Kim, MD, PhD¹,
Hyun Ju Lee, MD, PhD¹

Departments of ¹Pediatrics,
²Pathology, ³Dermatology, Hanyang
University College of Medicine,
Seoul, Korea

Received: 15 July 2019
Revised: 21 August 2019
Accepted: 8 October 2019

Correspondence to
Hyun Ju Lee, MD, PhD
Department of Pediatrics, Hanyang
University College of Medicine, 222
Wangsimni-ro, Seongdong-gu,
Seoul 04763, Korea

Tel: +82-2-2290-8399
Fax: +82-2-2297-2380
E-mail: bleslee77@hanyang.ac.kr

Copyright© 2020 by The Korean Society
of Perinatology

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

Epidermolysis bullosa simplex (EBS) is a group of inherited skin diseases characterized by intraepidermal blistering upon mild trauma. They are classified into three major types based on the severity and distribution of blisters, age of onset, and histological findings. These three major types are caused by *KRT5* and *KRT14* gene mutations. EBS Dowling-Meara (DM) is one of the most severe subtypes which mostly affects neonates. Electron microscopy is a primary diagnostic tool for EBS; however, mutation analysis has recently become more important for its diagnosis, prognosis, genetic counseling, and prenatal diagnosis. Several studies have reported that almost all mutations in EBS-DM patients are found in the highly conserved rod domains of the *KRT5* and *KRT14* genes and have also demonstrated a genotype-phenotype correlation. Here, we report an EBS-DM case diagnosed by mutation analysis in a newborn and a missense mutation not identified in humans previously.

Key Words: Epidermolysis bullosa simplex, Keratin-14, Mutation, Newborn

서론

단순 수포성 표피박리증(epidermolysis bullosa simplex, EBS)은 매우 사소한 외부 자극에도 수포를 생성하는 피부 질환으로, 약 5만 명 중 1명 정도의 비율로 발생하며 주로 상염색체 우성으로 유전되는 것으로 알려져 있다.¹ 임상증상 및 전자현미경 소견에 따라 크게 3가지로 다시 분류할 수 있는데, 첫째, EBS Weber-Cockayne형은 주로 손과 발에 국한된 증상을 나타내는 가장 경한 아형이다. 둘째, EBS Koebner형은 손, 발, 팔꿈치, 무릎 등 관절에 주로 수포가 생기는 형으로 Weber-Cockayne보다 심한 증상을 나타낸다. 셋째, EBS Dowling-Meara (EBS-DM)형은 가장 심각한 형으로 출생과 동시에 증상이 나타날 수 있고, 전신에 수포를 형성하며 구강 점막을 침범하거나 손발톱이상증(nail dystrophy)이 동반되는 경우가 대부분이다. 시간이 지나면 손과 발바닥의 피부가 두꺼워지는 과다각화증(palmo-plantar hyperkeratosis)이 나타나게 된다.^{2,3} 위의 3가지 주요 EBS 아형들은 케라틴 유전자인 *KRT5* 혹은 *KRT14*에 돌연변이가 생기는 것이 원인으로 밝혀져 있다.^{2,4,5} 해외 연구에서는 EBS-DM에 대한 병적 변이(pathologic variants)의 연구가 이어져 왔고, 국내에서는 2010년 Kang 등⁶에 의하여 보고된 사례가 있지만 신생아 시기에 진단된 사례는 아니었다. 저자들은 EBS-DM 환자에서 이전에 보고되지 않은 *KRT14*과오돌연변이(missense mutation)를 신생아에서 처음으로 발견하였으며 이를 보고하고자 한다.

증례

재태 주수 38주 3일, 출생 체중 3,160 g, 제왕절개로 태어난 여아가 손과 발에 수포가 있어 출생 당일 본원 신생아 중환자실로 전원되었다. 산모는 31세 건강한 산모로 산전검사 결과 이상 없었으며, 특이 주산기력도 없었다. 환자의 오빠와 부모를 포함한 가족들도 관련 질환

환력은 없었다(Fig. 1). 입원 당시 환자의 손, 발 및 엉덩이에 다수의 수포가 있었으며, 사소한 자극에도 피부가 벗겨지는 양상을 보였다. 입원 후 수포는 팔다리와 몸통을 포함하여 점차 전신으로 퍼졌고(Fig. 2), 얼굴과 입안 점막에도 수포를 동반한 병변이 발견되었으며 탈모가 동반되었다. 신생아의 수포성 질환의 감별 진단을 위하여 여러 가지 검사가 진행되었다. 헤르페스바이러스 감염을 포함한 감염성 질환을 배제하기 위하여 혈액검사, 소변검사 및 뇌척수액검사를 진행하였다. 환자의 검사 결과

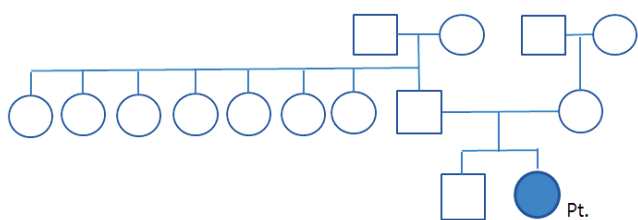


Fig. 1. Pedigree of the family. Pt., patient.



Fig. 2. Multiple herpetiform bullous and erosive skin lesions on the buttock, both hand and foot at the day of birth.



Fig. 3. Punch biopsy sites.

상 세균, 진균 및 바이러스의 감염은 모두 음성으로 감염 질환은 배제할 수 있었다. 생후 1일째 punch biopsy를 시행하였고(Fig. 3), 기본적인 광학현미경 검사(routine light microscopy), 전자현미경 검사(electron microscopy, EM)를 시행하였다. 환자의 EM 검사 결과상 케라틴 섬유 응괴(keratin filament clumping)는 발견되지 않았다(Fig. 4).

정확한 진단을 위하여 diagnostic exome sequencing을 시행하였다. TruSight One sequencing (Illumina, San Diego, CA, USA)을 사용하여 총 4,813개의 유전자와 약 62,000개의 표적 exon을 capture하여 2*150 paired end reads에 대하여 NextSeq instrument (Illumina)를 사용하여 염기서열분석을 시행하였다. UCSC hg19 표준염기에 지도화(mapping)하여 비교 분석하였으며, 분석된 변이 중 보고된 변이는 Sanger 염기서열분석을 시행하였다. 검사 결과, EBS-DM과 연관된 *KRT14* sequence variant: NM_000526.4 c.369T>G; p.(Asn123Lys) heterozygous form이 발견되었다. 가족성을 확인하기 위하여 환자의 부모 및 오빠도 유전자 검사를 시행하였으며 관련 유전자의 돌연변이는 발견되지 않았다(Fig. 5).

환아는 외부의 자극을 최소화하고 감염에 노출되지 않도록 인큐베이터 안에서 치료를 받았으며 피부가 건조해지거나 과열되지 않도록 온도와 습도 조절을 해주었다. 피부 병변이 있는 부분은 Vaseline® (Firson, Cheonan, Korea)과 gentamycin 성분의 항균 연고를 도포한 후 Bactigra® (chlorhexidine ointment; Smith and Nephew, London, UK)와 Mepilex® (non adhesive polyurethane-soft silicone foam; Mölnlycke Health Care, Göteborg, Sweden)로 덮어 주었고, 상처의 회복 및 가려움증에 대한 치료는 국소 스테로이드 연고(topical steroid)를 사용하였다.^{7,8} 통증 조절을 위하여 목욕이나 드레싱을 하기 전에 Tylenol® (Janssen Korea, Seoul, Korea)을 사용하였고, 수유 시 통증 감소를 위하여 표면 마취약인 Benocain soln® (benoxinate hydrochloride; Taejoon Pharm Co., Seoul, Korea)을 입술 주변과 입안 점막에 도포해 주었다. 또한 환아가 보채거나 움직이면서 새로운 병변이 생기는 것을 방지하기 위하여 Pocral® (chloral hydrate; Hanlim Pharm Co., Yongin, Korea)을 사용하였다.

생후 2개월째 퇴원하였으며 당시 전신의 피부 병변은 많이 호전된 상태였지만 새로운 수포가 지속적으로 생기고 있었고(Fig. 6), 체중은 4.09 kg (3th percentile 미만)으로 성장이 부진한 상태였다. 성장 평가 및 피부 병변 관리를 위하여 소아과와 피부과 외래에서 지속적인 치료를 받았다. 외래 추적관찰 중에도 손과 발의 과다각화증 및 손발톱이상증이 악화되었으며, 외부 자극에 의하여 새로운 수포가 생겨 피부과에서 통증 조절 및 증상 완화를 위한 치료를 받았다. 환아는 현재 2세이며, 여전히 새로운 병변

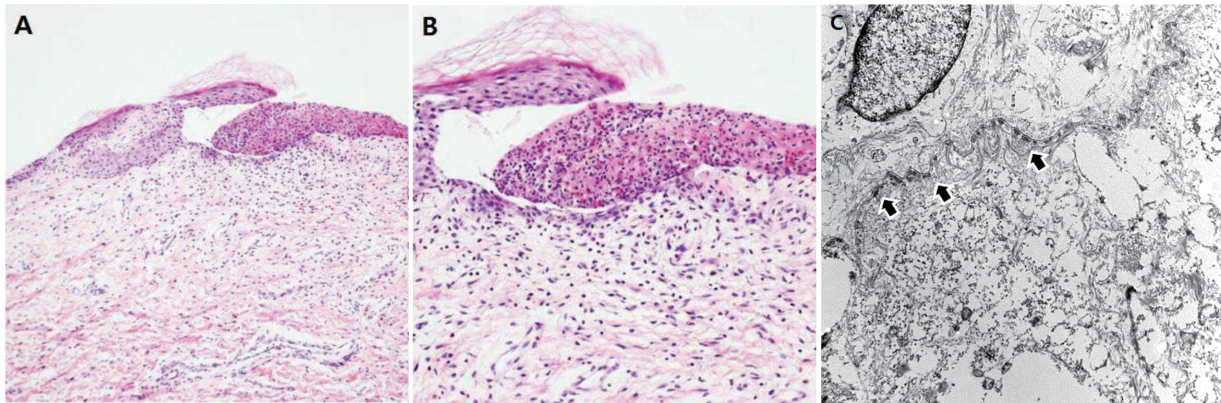


Fig. 4. Histopathologic and electromicroscopic findings of epidermolysis bullosa case. (A) Subepidermal blisters was observed in biopsied specimen of ankle. The blister was separated at the level of the dermoepidermal junctions (Hematoxylin and Eosin, ×100) (B) and contained inflammatory plugs admixed with lymphocytes, neutrophils, and neutrophils (Hematoxylin and Eosin, ×200). (C) Electron micrograph showed intact hemidesmosome structures (arrows) in dermoepidermal junctions (Electron microscopy, ×10,000). The specimen was prepared by formaline fixed paraffin-embedded tissue, some artifact could be seen.

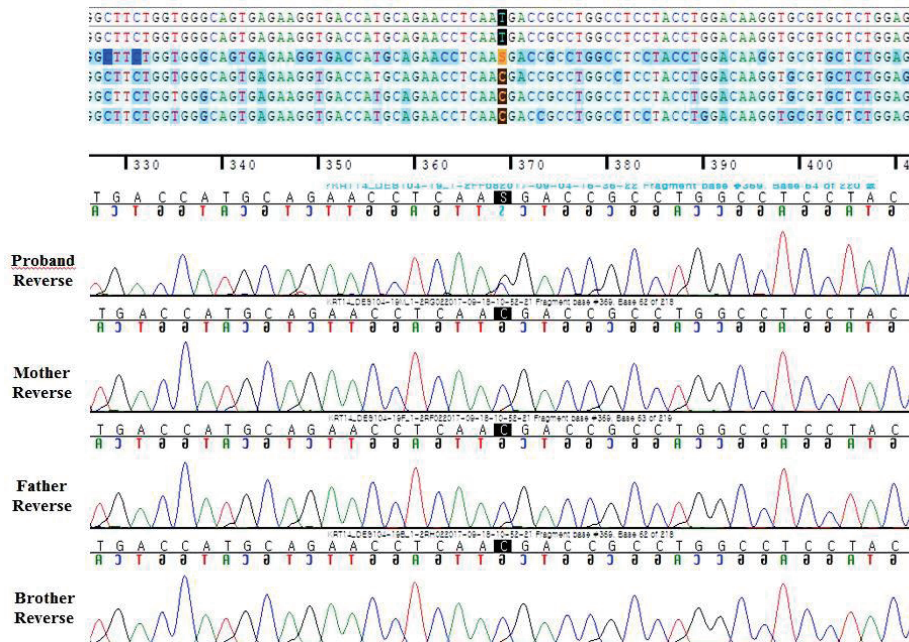


Fig. 5. The scheme for *KRT14* gene analysis [NM_000526.4(KRT14): c.369T>G p.(Asn123Lys)]. A heterogeneous point mutation was detected in the proband. The arrow points to the heterozygous nucleotides in patient's sequence. 'S' is nomenclature for heterozygous 'C' and 'G'. The homozygous nucleotides of 'C' and 'C' (benign variant) are seen in the sequence of the patient's parents and brother.

이 생기는 하지만 예전의 피부 병변들은 많이 호전되었으며 통증 조절약을 복용하지 않아도 되는 상태이다. 성장 및 발달 상태도 많이 호전되었고, 17개월 당시 키(78.7 cm, 30th percentile), 몸무게(10.2 kg, 55th percentile) 및 머리둘레(45.6 cm, 45th percentile)는 정상 성장 범위로 호전되었다. 외래 추적관찰 중에 표현언어 발달이 조금 늦는 것으로 판단되어 정확한 진단을

위하여 베일리 영유아 발달검사 3판(Bayley scales of infant and Toddler Development, third edition)을 시행하였으며 표현언어 영역이 17점으로 조금 낮았지만 정상 범위 내로 확인되었고, 그 외 다른 영역에서도 모두 정상 발달을 확인하였다.



Fig. 6. Hyperkeratosis and nail thickening at the age of 2 months.

고찰

수포성 표피박리증(EB)은 매우 약한 외부 자극에도 피부가 벗겨지거나 수포가 형성되는 희귀한 유전성 질환군으로 다양한 아형이 있다. 1962년 처음으로 Pearson⁹을 통하여 전자현미경을 이용한 수포성 표피박리증의 특성이 밝혀졌으며, 최근에는 의학의 발전과 함께 전자현미경 이외에도 표현형(phenotype), 미세구조(ultrastructural), 면역조직화학적(immunohistochemical) 그리고 유전형을 기반으로 분류 및 진단하고 있다.^{2,5} 일반적으로 수포가 형성되는 조직학적 위치에 따라 세부 그룹으로 분류할 수 있으며, 그중 단순 수포성 표피박리증은 기저층 각질 형성 세포 내에서 수포가 형성되는 아형이다. EBS는 다시 3가지로 분류할 수 있는데, 가장 심한 아형인 EBS-DM은 generalized EBS로 불리기도 하며 출생과 동시에 증상이 나타나는 경우가 많고 신생아 시기에 사망률을 증가시킬 수 있다.¹⁰ EBS에서 완치를 위한 치료법은 없으며, 대증적 치료가 대부분이다. 특히 신생아 시기에는 최대한 자극에 노출되지 않도록 하여 새로운 병변이 생기는 것을 막는 것과 감염되지 않도록 지속적으로 세심한 드레싱을 하는 것이 중요하다. 아울러 상처의 회복을 도모하고 정상 성장 발달을 위한 충분한 영양 공급과 합병증이 생기지 않도록 치료해야 한다.^{7,11}

수포성 표피박리증의 진단은 새롭게 생긴 병변을 검체로 전자현미경으로 검사하는 것이 초기 진단 방법으로 인정받고 있다.^{2,5,8} 광학현미경은 병변이 표피내(intraepidermal) 혹은 표피하층(subepidermal layer)의 어느 위치에 있는지를 구별하는 데에는 유용하지만 수포성 표피박리증의 아형(subtype)을 진단하는 데에는 한계가 있다. 반면, 전자현미경은 피부 조직의 어느 레

벨에서 수포가 형성되는지에 대한 정확한 정보를 얻을 수 있으며, 기저막층(base membrane zone)에 존재하는 다양한 단백질질의 분포를 알 수 있어 정확한 진단과 아형을 구별하는 데 유용하다. 최근에는 더욱 정확한 진단 및 예후 판단을 위하여 유전자 분석이 권고되고 있으며,² 유전형-표현형 연관성(genotype-phenotype correlation)이 있는 경우가 많아 유전형을 확인하는 것이 환자의 임상적 예후를 예측하는 데 유용하며 유전 상담과 산전 진단에 도움을 줄 수 있다.^{4,10} 이번 사례의 경우 전자현미경 검사에서는 음성이었지만 유전자 분석을 통하여 진단할 수 있었으며, 이는 진단하는데 있어서 유전자 분석의 중요성을 보여주고 있다. EBS-DM의 유전자 돌연변이는 해외에서는 2006년 Müller 등⁴의 연구에서 15개의 사례가 밝혀진 바 있으며, 15개 중 11개의 사례에서 *KRT14* 유전자의 돌연변이가 보고되었고, 그중 10개의 사례에서 the helix initiation peptide (HIP), 1A domain에 돌연변이가 생긴 것으로 확인되었다. 반면 *KRT5* 유전자의 돌연변이는 the helix termination peptide, 2B domain에 주로 생긴다고 보고되어 있다.¹² 증상은 전신에 수포성 병변이 생기고 손과 발바닥의 과다각화증, 손발톱이상증 및 구강 내 병변을 동반하는 경우가 대부분이며, 신생아 시기에 시작되어 자라면서 피부 병변의 전신화 및 구강 내 침범은 점차 줄어드는 모습을 보였다.⁴ 국내에서는 2010년 Kang 등⁶의 연구에서 *KRT14* 돌연변이가 2개 사례에서 보고되었으며 모두 HIP, 1A domain에 돌연변이가 생긴 것으로 확인되었고 임상증상은 해외에서 보고된 것과 비슷하였다. 이번 사례의 경우, *KRT14*의 c.369T>G;p.(Asn 123Lys)에 과오돌연변이가 발견되었으며 인간에서 아직까지 발견된 적 없는 유전자로써 비슷한 돌연변이인 c.369T>A가 독일에서 발견되어 보고된 바 있다.⁴ 본 사례의 경우 지금까지 보고된 바와 같이 HIP, 1A domain에 생긴 돌연변이에 해당하며 출생 당시부터 증상이 있었고, 전신의 수포성 병변, 손과 발바닥의 과다각화증, 손발톱이상증 및 구강 내 병변의 임상증상이 나타나 예전에 발표된 사례들과 비슷함을 알 수 있다.

신생아에서 피부에 수포가 있는 경우 감염성 질환뿐만 아니라 수포성 표피박리증과 같은 선천성 질환에 대한 가능성도 염두에 두고 접근해야 신속한 진단과 치료를 할 수 있다. 본 사례의 경우 첫 내원 당시에는 수포성 병변이 손과 발에 국한되었으나 일주일 내에 전신으로 퍼지면서 급격히 악화되는 소견을 보였지만 조직학적 검사와 유전자 검사를 통하여 신속한 진단 및 치료가 이루어져 합병증을 줄이고 치료 효과를 높일 수 있었다. 퇴원 후에는 가정에서의 관리가 무엇보다 중요한데, 의료진이 병의 경과와 예후에 대하여 보호자에게 충분히 설명하는 것이 보호자가 치료에 대한 확신을 가지고 끝까지 적극적으로 참여할 수 있게 하는 데 도움을 줄 수 있으며, 본 사례의 경우도 입원

치료부터 외래 진료까지 보호자에게 지속적인 설명과 지지를 해주면서 치료를 이어 나갈 수 있었다.

본 사례는 신생아 시기에 EBS-DM으로 진단된 국내 첫 사례로 *KRT14*의 c.369T>G; p.(Asn123Lys)변이는 인간에서는 처음 발견된 돌연변이이다. 이는 유전자 분석을 통한 추가적인 진단 검사 방법이 EBS-DM의 진단과 예후 그리고 유전 상담을 위하여 중요하다는 것을 보여주는 사례이며, 추후 다른 신생아의 수포성 질환을 정확하고 신속하게 진단하고 치료하는데 도움이 되는 중요한 자료가 될 것으로 생각된다.

Conflict of interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- 1) Coulombe PA, Hutton ME, Letai A, Hebert A, Paller AS, Fuchs E. Point mutations in human keratin 14 genes of epidermolysis bullosa simplex patients: genetic and functional analyses. *Cell* 1991;66:1301-11.
- 2) Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Has C, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol* 2014;70:1103-26.
- 3) Wakiguchi H, Hasegawa S, Maeba S, Kimura S, Ito S, Tateishi H, et al. A sporadic neonatal case of epidermolysis bullosa simplex generalized intermediate with *KRT5* and *KRT14* gene mutations. *AJP Rep* 2016;6:e108-11.
- 4) Müller FB, Küster W, Wodecki K, Almeida H Jr, Bruckner-Tuderman L, Krieg T, et al. Novel and recurrent mutations in keratin *KRT5* and *KRT14* genes in epidermolysis bullosa simplex: implications for disease phenotype and keratin filament assembly. *Hum Mutat* 2006;27:719-20.
- 5) Fine JD, Eady RA, Bauer EA, Bauer JW, Bruckner-Tuderman L, Heagerty A, et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): report of the third international consensus meeting on diagnosis and classification of EB. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:931-50.
- 6) Kang TW, Lee JS, Kim SE, Oh SW, Kim SC. Novel and recurrent mutations in keratin 5 and 14 in Korean patients with epidermolysis bullosa simplex. *J Dermatol Sci* 2010;57:90-4.
- 7) Gonzalez ME. Evaluation and treatment of the newborn with epidermolysis bullosa. *Semin Perinatol* 2013;37:32-9.
- 8) Sprecher E. Epidermolysis bullosa simplex. *Dermatol Clin* 2010;28:23-32.
- 9) Pearson RW. Studies on the pathogenesis of epidermolysis bullosa. *J Invest Dermatol* 1962;39:551-75.
- 10) El Hachem M, Zambruno G, Bourdon-Lanoy E, Ciasulli A, Buisson C, Hadj-Rabia S, et al. Multicentre consensus recommendations for skin care in inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:76.
- 11) Pfendner EG, Sadowski SG, Uitto J. Epidermolysis bullosa simplex: recurrent and de novo mutations in the *KRT5* and *KRT14* genes, phenotype/genotype correlations, and implications for genetic counseling and prenatal diagnosis. *J Invest Dermatol* 2005;125:239-43.
- 12) Müller FB, Anton-Lamprecht I, Küster W, Korge BP. A premature stop codon mutation in the 2B helix termination peptide of keratin 5 in a German epidermolysis bullosa simplex Dowling-Meara case. *J Invest Dermatol* 1999;112:988-90.