

한센사업대상자의 포도당-6-인산탈수소효소 결핍 평가

김윤지, 박진호, 김종필

한국한센복지협회 연구원

The study of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency from persons affected by Hansen's disease in Korea

Yun-Ji Kim, Jin-Ho Park, Jong-Pill Kim

Institute for Leprosy Research, Korean Hansen Welfare Association

Background

Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency is the most common enzyme deficiency disease. Drugs that cause deficiency-related hemolytic responses include dapsone, which is taken as a therapeutic drug for Hansen's disease. Due to the hemolytic adverse effects, the deficiency test should be performed before the dapsone administration, but it is not conducted on the basis of low incidence in Korea. Thus, the monitoring of deficiency in patients with Hansen's disease was needed and the study was undertaken.

Objective

The aims of this study were to determine the prevalence of deficiency and gene mutations from persons affected by Hansen's disease in Korea.

Methods

hemanalysis and activity test by venipuncture were performed against the 339 persons affected by Hansen's disease. All subjects were tested for detection of mutations by the polymerase chain reaction.

Results

The prevalence of anemia was 45.5% and the prevalence of deficiency was 1.2% from persons affected by Hansen's disease. 2 gene mutations, Mahidol and Mediterranean, were detected in foreign participants (Myanmar and Nepal).

Conclusion

In this study, we detected that the prevalence of deficiency and gene mutation was low, thus inferred that anemia was relatively less relevant to deficiency in persons affected by Hansen's

disease. However, the number of participant in our study is small, and many studies reported that deficiency test should be performed before the dapsone administration, therefore, we suggest that continuous monitoring of patients with Hansen’s disease is necessary.

■ **Key words** : Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency,

이 논문의 저자들은 본 연구에 어떠한 이해관계도 없음을 명시합니다.

서 론

한센병은 나균에 의해 발생하는 만성 감염병으로, 인류 역사상 가장 오래된 질병 중 하나이다¹. 세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 한센병의 효과적인 치료를 위해 3가지 약을 병용하는 복합화학요법(Multidrug therapy, MDT)을 권고하고 있으며², MDT 보급 이후 발견율은 지속해서 감소하였지만³, 신환자는 꾸준히 발생하고 있다⁴.

글루코스-6-인산탈수소효소(Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)는 적혈구 내에 존재하는 효소로, X-염색체와 관련된 유전적인 요인으로 결핍이 발생하기도 한다⁵. G6PD 결핍은 특정 음식, 질환, 약물 복용 등에 의해 적혈구가 파괴되어 용혈성빈혈을 유도하기도 하며⁶, 이런 용혈반응과 관련된 약물에는 한센병 환자에게 처방되는 답손도 포함되어 있다⁷. G6PD 결핍은 전 세계적으로 0.1~30.0%까지 국가마다 다양한 유병률 차이가 있으며⁸, 국내에서는 0.9~3.5%의 유병률이 보인다고 보고되고 있다⁹⁻¹⁰. 한센병 환자에서의 G6PD 결핍 유병률 역시 싱가포르¹¹, 나이지리아¹², 인도¹³⁻¹⁴, 오만¹⁵ 등에서 1.5~27.0%로 국가 간 큰 차이를 보였으며, 국내 한센병 환자에 대한 G6PD 결핍 유병률에 대한 조사는 부족한 실정이다. 따라서 현재 답손을 복용 중이거나 추후 복용할 가능성이 있는 한센사업대상자들의 G6PD

결핍 유병조사가 필요하다고 판단된다.

한편, G6PD 특정 돌연변이에 대해 국내에서는 660 C>G, 916 G>A, 1139 T>C, 1153 T>G, 1159 C>T, 1187 C>G 및 1246 G>A 등이 보고된 바 있기에¹⁻², 한센사업대상자에서 G6PD 변이형 유전자의 존재 유무를 조사하고자 한다.

▶ 대상 및 방법

1. 연구대상 및 검체 확보

연구 대상자는 총 339명으로, 현재 한센병 치료를 받고 있거나 과거에 한센병으로 진단되어 답손 복용 경험이 있는 만 18세 이상의 한센사업대상자였다. 기관생명윤리위원회(Institutional Review Board, IRB)에 연구과제를 승인 받은 후(P01-202004-31-004) 지원자를 모집하여 참여 동의를 취득한 240명과 한국한센복지협회 부설의원에 내원한 환자 99명의 익명화 한 검체를 이용하였다.

2. 빈혈 평가 검사

연구대상자의 정맥에서 혈액을 추출한 후 일반혈액검사(Complete blood cell count, CBC)를 통해 혈액색소(hemoglobin, Hb)수치, 적혈구수(red blood cell count, RBC), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV) 및 적혈구용적률(hematocrit, Hct)을 측정하였다. 세계보건기구의 판단기준에 따라 남자는 혈액색소 13 g/dL 미만, 여자는 12 g/dL 미만일 경우 빈혈로 판정하였다¹⁶.

3. G6PD 활성 분석을 통한 결핍 판단

항응고제가 처리된 용기에 혈액을 옮긴 후 외부업체인 이원의료재단(KOREA)에 의뢰하여 G6PD 활성 분

Corresponding author : Yun-Ji Kim
Yun-Ji Kim, 0000-0002-0003-8880
Address: (16048) 경기도 의왕시 원골로 59 한국한센복지협회연구원
Tel: 031 452 7094
Fax: 031 455 6592
E-mail : yunjipod@naver.com

석을 실시하였다. 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)를 기질로 하여 단위 시간당 생성되는 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산 환원형(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 생성정도를 측정하여 효소 활성수치를 나타낸 후, 혈색소 값으로 나누어 최종 G6PD 활성도를 도출하였다¹. G6PD 활성도는 정상 범위 7.9~16.3 U/gH로 7.9 U/gH 미만일 경우를 결핍으로 분류하였다.

4. 혈액에서 DNA 분리

QIAamp Blood Mini kit (QIAGEN, USA)을 통해 혈액에서 DNA를 분리하였다. 제조사가 지정한 방법으로 실리카겔막을 이용하였으며, 최종 시료는 100 µl로 제조하였다.

5. G6PD 변이형 분석을 위한 중합효소연쇄반응(PCR) 시행

혈액에서 추출한 DNA와 Asian type DiaPlexc G6PD Genotyping kit (SolGent, KOREA)을 활용

하여 G6PD 변이형에 대해 분석을 하였다. 95°C에서 15분간 초기 변성 후 95°C, 60°C, 72°C 각 30초, 30초, 40초씩 30회 반복 후 72°C에서 5분간 신장하는 과정을 통하여 증폭하였으며, 최종 산물을 전기영동기(QIAGEN)를 이용하여 확인하였다. 확인 가능한 변이형 유전자는 Vanua Lava (383 T→C), Mahidol (487 G→A), Mediterranean (563 C→T), Coimbra (592 C→T), Viangchan (871 G→A), Union (1360 C→T), Canton (1376 G→T) 및 Kaiping (1388 G→A) 등이다.

결 과

1. 연구대상자

연구참여대상자는 총 339명으로, 남자가 160명, 여자가 179명이었으며, 60대 이하가 20명, 60대 62명, 70대 141명, 80대 95명, 80대 이상이 21명이었다. 다균형(Multibacillary, MB)은 234명, 희균형(Paucibacillary, PB)은 105명이었으며, 총 대상자 중 5명은 미얀마, 네팔, 필리핀 및 인도네시아 국적의 외국인이었다.

Table 1. Demographic data of the study groups

Category	Composition	Results	Percentage (%)
Sex	M	160	47.2
	F	179	52.8
yr	< 60	20	5.9
	60 ~ 70	62	18.3
	70 ~ 80	141	41.6
	80 ~ 90	95	28
	> 90	21	6.2
Type	Multibacillary (MB)	234	69
	Paucibacillary (PB)	105	31
Nationality	Korean	334	98.5
	Foreigner	5*	1.5

* Indonesia 1, Myanmar 2, Nepal 1, Philippine 1

2. 혈액검사를 통한 빈혈 유무 평가

일반혈액검사를 통해 혈액 내 존재하는 적혈구 및 혈소판에 대한 정보를 파악하여 빈혈평가를 수행하였다. 세계보건기구의 판단기준에 따라 16 혈색소의

수치를 보았을 때, 대상자의 45.7%에 해당하는 155명(남 79, 여 76)이 빈혈로 판정되었으며, 남자는 평균 7.0~12.9±1.2g/dL, 여자는 평균 7.8~11.9±1.0g/dL의 값을 확인 할 수 있었다(Table 2).

Table 2. Prevalence of anemia from persons affected Hansen's disease

Sex	No. of total	No. of anemia	Prevalence of anemia (%)	Range (g/dL)
M	161	79	23.3	7.0~12.9
F	178	76	22.4	7.8~11.9
Total	339	155	45.5	

3. G6PD 효소 활성검사를 통한 G6PD 결핍 판단

NADPH 생성정도와 혈색소 값을 이용하여 G6PD 활성을 측정하였으며, 7.9U/dHB 미만을 결핍으로 분류하였다. 대상자의 1.2%가 0.3~7.9U/dHB 범위로 결핍에 해당하는 활성값을 나타냈으며, 97.1%는 8.0~16.3U/dHB 범위로 정상적인 수치를 보였다. 또한 2.1%는 16.4~18.4 U/dHB 범위로 약간 증가된 활성 값을 나타냈다(Table 2).

G6PD 결핍이라 판단되는 대상자는 미얀마 및 네팔국적의 외국인 2명(20-55, 20-220)과 내국인 2명

(20-256, 20-273)으로 전체 대상자의 1.2%에 해당되었다(Table 4). 특히 외국인 2명의 활성은 각 3.66U/dHB, 0.29U/dHB로 매우 낮았으며, 내국인의 수치는 각 7.85U/dHB, 7.48U/dHB로 정상에 가까웠다. 이상자의 혈액분석 결과 20-55, 20-256, 20-273은 혈색소 수치가 각 11.2~12.6g/dL로 빈혈로 판정되었다(Table 5).

Table 3. Results of G6PD activity test from persons affected Hansen's disease

G6PD (U/dHB)	Results	Percentage (%)	Range (U/dHB)
< 7.9	4	1.2	0.3 ~ 7.9
7.9 ~ 16.3	328	97.1	8.0 ~ 16.3
> 16.3	7	2.1	16.4 ~ 18.4
total	339		

*G6PD: Glucose-6-phosphate dehydrogenase

Table 4. Characteristics of the persons affected Hansen’s disease

Clinical ID	Sex	yr	Nationality	Type	G6PD activity (U/gHb)	G6PD gene mutation
20-55	M	34	Myanmar	MB	3.66	Mediterranean (563 C→T)
20-220	M	25	Nepal	MB	0.29	Mahidol (487 G→A)
20-256	M	82	Korea	MB	7.85	None
20-273	M	72	Korea	PB	7.48	None

*G6PD: Glucose-6-hosphate dehydrogenase, MB: Multibacillary, PB: Paucibacillary

Table 5. CBC results of the participants with G6PD deficiency

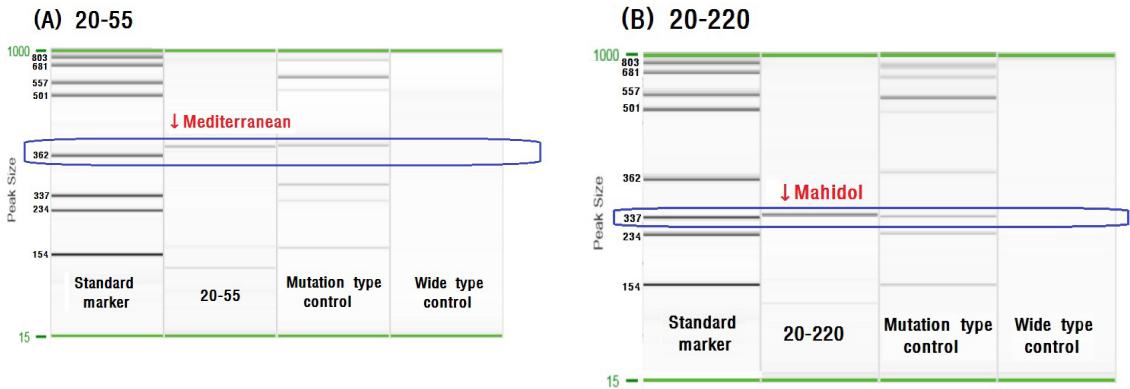
Clinical ID	Hemoglobin (g/dL)	RBC (million/mm ³)	Hematocrit (%)	MCV (%)
20-55	11.2	4.49	35.0	78.0
20-220	14.9	4.45	42.4	95.3
20-256	12.2	3.94	35.3	89.6
20-273	12.6	3.97	37.1	93.5

*CBC: Complete blood cell count, G6PD: Glucose-6-hosphate dehydrogenase
RBC: red blood cell count, MCV: mean corpuscular volume

4. 중합연쇄효소반응을 통한 G6PD 변이형 분석

G6PD 변이형 유전자 유무를 확인하기 위해 총 339명을 대상으로 중합연쇄효소반응을 수행하였으며 0.6%에 해당하는 2명(20-55, 20-220)에서 변이형 유전자를 확인 할 수 있었다. 이들은 앞선 검사에서 G6PD 결핍으로 분류군에 포함되어 있었으며(Table 4), 20-55는 563 자리에 변이가 생기는 Mediterranean (Fig. 1A), 20-220는 487 자리에 변이가 생기는 Mahidol (Fig. 1B)을 확인 할 수 있었다

Fig. 1. Results of gene mutation detection by polymerase chain reaction.



고 찰

G6PD 결핍은 가장 흔한 효소 질환으로 5 전 세계적으로 4억 명 정도의 환자가 존재하고 매년 수천 명의 환자가 사망하는 것으로 알려져 있다¹⁷. G6PD 결핍은 특정 약물과 결합하여 용혈성 빈혈을 유도하기도 하는데⁹, 이와 관련된 약물에는 한센병 환자에게 처방되는 답손이 포함되어 있다¹. 한센병 환자에서 G6PD 결핍 유병률은 싱가포르¹¹, 나이지리아¹², 인도¹³⁻¹⁴, 오만¹⁵ 등에서 1.5~27.0%로 보고되고 있지만, 국내 한센병 환자에 대한 조사는 부족하기에 본 연구를 진행하게 되었다.

현재 한센병 치료를 받고 있거나 과거에 한센병으로 진단되어 답손 복용 경력이 있는 한센사업대상자 339명을 대상으로 연구를 실시한 결과, 1.2% 해당하는 4명에서 G6PD 결핍으로 판단할 수 있었다 (Table 3). 혈액소 검사에서 전체 대상자의 45.5%가 빈혈로 판정되었지만 (Table 2) G6PD 결핍 유병률은 1.2%인 점을 보아 (Table 3), 답손을 복용 중인 한센병 환자에서 나타난 빈혈이 G6PD 결핍과 연관될 가능성은 높지 않다고 생각된다.

G6PD 특정 유전자 돌연변이 확인을 위한 339명을 대상으로 PCR을 수행한 결과, 0.6%인 2명에서 Mediterranean(563 C→T)과 Mahidol(487

G→A)이 발견되었다 (Fig. 1). 변이형 유전자 보유 대상자는 G6PD 결핍으로 분류되었던 20-55와 20-220였으며, 이들은 모두 G6PD 효소 활성값이 매우 낮았다 (Table 4). 주목할 점은, 20-220의 혈액분석 결과 빈혈 평가 지표인 혈색소를 포함해서 RBC, Hct, MCV 등이 모두 정상 범위 수준으로 나타났다는 것이다 (Table 5). 이는 빈혈 증상이 없어도 G6PD 결핍인 동시에 유전자 돌연변이를 보유할 수 있으며, 잠재적 부작용을 나타낼 가능성이 있음을 시사한다.

본 연구에서 한센사업대상자의 G6PD 결핍 유병률은 1.2%로 인도, 오만 등에 비해 낮은 편이고¹¹⁻¹⁵, 변이형 유전자 보유율 역시 0.6%로 높지 않다고 할 수 있다. 또한, 45.5%의 빈혈군이 분류된 것으로 보아 한센병 환자에서 나타난 빈혈은 G6PD 결핍과 큰 영향이 없을 것이라 생각된다. 그러나 본 연구의 대상자 수가 많지 않은 점과 변이형 유전자를 보유한 20-55, 20-220이 모두 외국인인 점 등을 보아 향후 추가 조사연구가 필요할 것이라 사료된다. 또한, G6PD 결핍이 X염색체와 연관된 열성 대사 질환임을 고려하여 잠복해있는 G6PD 결핍을 파악하기 위한 연구도 필요할 것이다.

결론

본 연구에서 한센사업대상자의 G6PD 결핍 유병률은 1.2%, G6PD 변이형 유전자 보유율은 0.6%로 확인되었다. 이 중 G6PD 결핍이면서 변이형 유전자를 가진 0.6%는 네팔 및 미얀마 국적의 외국인이기 때문에 내국인의 G6PD 결핍 유병 정도는 낮을 것이라 추측된다. 그리고 대상자 중 45.5%가 빈혈로 분류되었기에, 한센사업대상자에서 나타난 빈혈은 G6PD 결핍과 큰 영향이 없을 것이라 생각된다. 더욱이 변이형 유전자를 보유한 대상자의 빈혈 수치가 정상이었던 결과를 보아, G6PD 결핍 가능성을 빈혈 검사로만 판단하면 안 될 것이라 생각된다. 또한, 경제적 구조변화로 인한 외국인의 유입증가 추세로 G6PD 결핍 유병률의 증가 또한 예상되기에, 결론적으로 단순 복용환자의 G6PD 결핍 모니터링이 지속적으로 필요할 것이라 사료된다.

ORCID

Yun-Ji Kim, 0000-0002-0003-8880

Jin-Ho Park, 0000-0002-2613-7246

Jong-Pill Kim, 0000-0003-0421-6389

참고문헌

1. Suzuki K, Akama T, Kawashima A, Yoshihara A, Totsu RR, Ishii N. Current status of leprosy: Epidemiology, basic science and clinical perspectives. *J Dermatol* 2012;39:121-129
2. WHO. Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of leprosy, 2018
3. Rodrigues LC, Lockwood DNJ. Leprosy now: epidemiology, progress, challenges, and research gaps. *Lancet* 2011;6:464-470
4. WHO. Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives. *Weekly epidemiological record*, 2020;95:417-440
5. Frank JE. Diagnosis and management of G6PD deficiency. *Am Fam Physician* 2005;72:1277-1282
6. Maffi D, Pasquino MT, Mandarino L, Tortora P, Girelli G, Meo D, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Italian blood donors: prevalence and molecular defect characterization. *Vox Sang* 2014;106:227-233
7. E Beutler. G6PD deficiency. *Blood* 1994;84:3613-3636
8. Nikhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: A systematic review and meta-analysis. *J bcmed* 2009;42:267-278
9. Blackwell RQ, Ro IH, Yen L. Low incidence of erythrocyte G-6-PD deficiency in Koreans. *Vox Sang* 1968;14:299-303
10. Kim MK, Yang CH, Kang SH, Lyu CJ, Kim KY. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency-report of 4 cases. *J Korean Med Sci* 1992;7:71-75
11. Saha N, Wong HB, Banerjee B, Wong MO. Distribution of ABO blood groups, G6PD deficiency, and abnormal hemoglobins in Leprosy. *J Med Genetics* 1971;8:315-316
12. Ibrahim MI, Aisha KG, Ahmed SG. High hemolytic markers in G6PD-deficient compared to G6PD-normal male leprosy

- patients. Niger J basic Clin Sci 2020;16:109-133
13. Sharma A, Reddy DR, Reddy P, Tyagi B, Mathon S, Jain S. Relationship of clinical deterioration in leprosy patients while on multidrug therapy with their glucose-6-phosphate-dehydrogenase levels. JCSR 2018;7:64-68
 14. Agarwala MK, Agarwala P, Sharma A. Study on estimation of glucose-6-phosphate-dehydrogenase in patients prior to initiation of dapsone therapy in leprosy. Int J Res Dermatol 2019;5:580-582
 15. Mysore V, Al-Suwaid AR. Efficacy of WHO regimens in the management of leprosy patients with G6PD deficiency. Int J Lepr Other Mycobact Dis 1999;67:159-161
 16. WHO Working Group. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Bull World Health Organ, 1989;67:601-11
 17. WHO. Nutritional anemia: report of a WHO Scientific Group. World Health Organ Tech Rep Ser, 1968;405:5-37