

양극성장애와 tryptophan hydroxylase

및 5-HT_{2A} 수용체 유전자

다형성과의 관련성

연세대학교 대학원

의학과

김택수

양극성장애와 Tryptophan
Hydroxylase 및 5-HT_{2A} 수용체
유전자 다형성과의 관련성

지도교수 김 세 주

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2009 년 6 월

연세대학교 대학원

의학과

김 택 수

김택수의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2009 년 6 월

<차례>

국문요약.....	1
I. 서론.....	3
II. 재료 및 방법	6
1. 연구대상	6
2. 연구방법	6
가. 유전자 분석.....	6
나. 자료 처리 및 분석.....	8
III. 결과	8
1. 환자군 및 대조군의 인구학적, 임상적 특성.....	8
2. 양극성장애 환자군과 정상 대조군의 tryptophan hydroxylase 유전자형 및 대립형질의 빈도 비교.....	9
3. 양극성장애 환자군과 정상 대조군의 5-HT2A 수용체 유전 자형 및 대립형질의 빈도 비교.....	9
4. 양극성장애 환자군 내의 임상 변인과 유전자형 및 대립형 질 간의 연관관계.....	9
IV. 고찰	10
V. 결론	15
참고문헌	16
영문요약	19

<표 차례>

표 1. Demographic characteristics of bipolar patients and control subjects	8
표 2. Genotype and allele frequencies of tryptophan hydroxylase gene-218A/C polymorphism in bipolar patients and control subjects	9
표 3. Genotype and allele frequencies of 5-HT _{2A} receptor gene-1438A/G polymorphism in bipolar patients and control subjects	10
표 4. Distributions of patients with their clinical variables according to genotypes and allele frequency; 218A/C polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene	11
표 5. Distributions of patients with their clinical variables according to genotypes and allele frequency; 1438A/G polymorphism of the 5-HT _{2A} receptor gene	12
표 6. Age at onset and the 5HT _{2A} receptor gene & TPH gene polymorphism in bipolar patients	12

<국문요약>

양극성장애와 Tryptophan Hydroxylase 및 5-HT_{2A} 수용체 유전자
다형성과의 관련성

배경: 세로토닌은 중추신경계의 중요한 신경전달물질로서 기분, 수면, 식욕 등 다양한 기질과 행동에 영향을 미친다. 이전의 연구들은 세로토닌의 기능이상과 양극성장애의 발병의 관련성을 보고하기도 하였다. Tryptophan hydroxylase (TPH) 유전자는 세로토닌 합성의 시작단계 효소이자 속도 조절 단계의 효소로서 세로토닌 대사에 중요한 역할을 한다. 5-hydroxytryptamine 2_A (5-HT_{2A}) 수용체 유전자도 이전 연구에서 양극성장애와 연관이 있음이 보고되었다. 이 연구의 목적은 TPH 유전자, 5-HT_{2A} 수용체 유전자 등 세로토닌 관련유전자와 한국인 양극성장애 환자 사이에 연관성을 보고자 한다.

방법: 본 연구는 184명의 1형 양극성장애 환자와 216명의 정상인이 참여한 환자-대조군 연구이다. 1형 양극성장애 환자는 정신과 의사의 면담을 통해 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-IV에 의거하여 진단되었다. DNA 채취를 위해 모든 참여자의 말초 혈관에서 혈액이 채취되었으며 TPH 유전자의 218A/C 유전다형성과 5-HT_{2A} 수용체 유전자의 1438A/G 유전다형성 관찰이 SNaPShot method에 의해 시행되었다. 양극성장애 환자와 정상인 간에 유전자형 및 대립형질 분포의 차이를 보기 위해 카이제곱 검정이 시행되었으며 양극성 장애 환자에서 임상 특성과 유전자형 및 대립형질 분포간의 연관성을 확인하기 위해 카이제곱 검정 및 일원분산분석이 시행됐다.

결과: 양극성장애 환자와 정상인 사이에 TPH와 5-HT_{2A} 수용체 유전다형성의 유전자형 및 대립형질 분포의 차이는 관찰되지 않았다($p>0.05$). 양극성장애 환자에 있어서 이들 유전자의 유전자형

및 대립형질과 임상특성과도 유의한 연관관계는 확인되지 않았다($p>0.05$).

결론: 본 연구는 한국인에서 TPH 유전자의 218A/C 유전다형성과 5-HT_{2A} 수용체 유전자의 1438A/G 유전다형성이 양극성장애와 연관성이 없음을 보여주었다. 또한 본 연구는 양극성장애 환자의 가족력, 자살력 등의 임상 특성과 이들 유전자와의 관련성도 없음을 보여주었다.

핵심되는 말 : 양극성장애, tryptophan hydroxylase 유전자, 세로토닌 수용체 유전자

양극성장애와 Tryptophan Hydroxylase 및 5-HT_{2A} 수용체 유전자
다형성과의 관련성

<지도교수 김세주>

연세대학교 대학원 의학과

김택수

I. 서론

양극성장애는 지속적인 기분상태의 이상으로 조증과 우울증이 교대로 또는 조증이 반복적으로 나타나는 질환이다. 이러한 기분 변화는 반복되는 경향이 있으며, 그 정도가 경미함에서 극심함까지 다양하고 지속 기간 또한 다양하여 환자를 고통스럽게 할 뿐 아니라 고양된 기분, 증가된 활력과 과활동 상태에서 발생하는 심리적, 경제적 손실은 증상에서 회복된 후에도 환자와 가족의 짐이 된다. 양극성장애의 원인에 대해서는 아직 명확히 밝혀진 바가 없지만 여러 유전 요인들이 관여하고 있을 것으로 생각되고 있다¹. 지금까지 보고된 양극성장애에 대한 가족연구, 쌍생아 연구, 분리연구 등을 살펴보면 유전적인 요소들이 양극성장애의 원인에 어떠한 역할을 할 것이라는 점이 강력히 시사된다².

세로토닌은 솔기핵(raphe nuclei)에서 만들어지는 신경전달물질로서 수면, 학습, 기억 등과 함께 기분조절에도 관여한다³. 세로토닌의 기능이상은 기분장애를 비롯한 여러 정신과적 질환의 원인 요인으로

주목 받고 있다^{4,6}. 세로토닌의 주요 대사물인 5-Hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)가 목매(hanging)과 같은 위험한 방법으로 자살시도 경력 (suicide by violent means)이 있는 우울증 환자의 뇌척수액에서 낮게 보고되었다^{7, 8}. 또한 우울증 환자에서 혈소판 세로토닌 재흡수가 저하되었다는 보고가 있으며⁹ 특히 이러한 소견은 양극성장애에서도 동일하게 관찰되었다^{10, 11}. 이런 연구결과들은 양극성장애에서 세로토닌 기능 이상을 시사한다. Tryptophan Hydroxylase (TPH)는 이러한 세로토닌 형성에 있어서 속도 조절 효소(rate limiting enzyme)¹²로서 이 유전자의 변화는 세로토닌 형성에 영향을 주어 기분장애의 발병에 관여할 것으로 생각된다. TPH는 두 개의 아형이 있는데¹³ 이 중 TPH1은 주로 말초 신경계를 담당하고, TPH2는 주로 중추신경계에 작용하는 것으로 알려져 있다. 최근 연구에 의하면 TPH1 유전자 변이가 우울증, 양극성장애, 자살과 관련 있음을 보고하고 있다¹⁴⁻¹⁶. TPH1 유전자는 chromosome 11p15.3-p14에 위치하고 있으며 대표적인 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)으로는 218A/C와 779A/C이 있다. 이들 부위는 7번째 인트론에 위치하여 이들 부위의 염기 변화가 아미노산 배열을 바꾸는 것으로 보고되었다¹⁷. 지금까지 218A/C와 양극성장애에 대한 몇몇의 연구들이 보고되었는데, 일부는 유의미한 연관성을 보고한 반면¹⁸, 다른 연구들에서는 특별한 연관성을 발견하지 못하였다^{19, 20}.

한편, 세로토닌의 수용체는 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₇ 등 여러 종류가 존재하는데²¹, 이 중 5-HT_{2A} 수용체는 기분장애 병태생리와 관련하여 오랫동안 주목을 받아왔다²². 5-HT_{2A} 수용체는 주로 신경계에 존재하는데²³, 지속적인 항우울제 치료 후 이 수용체가 하향조절(downregulation) 되는 것이 관찰되었으며²⁴, 5-HT_{2A}에 작용하는 mirtazapine이나 olanzapine 등의 약물을 치료저항성 우울증 환자들에게 병합 치료하였을 때 치료효과가 증대된다는 연구결과가 보고되

었다^{25, 26}. 또한 5-HT_{2A} 수용체 유전자와 기분장애와의 연관을 본 이전 연구^{27, 28}에서 유의한 결과들이 보고되었다. 이런 소견들은 5-HT_{2A} 수용체 유전자가 양극성장애를 비롯한 기분장애의 병태생리에 영향을 미칠 가능성을 제기한다.

5-HT_{2A} 수용체 유전자는 chromosome 13q14-q21에 위치한다. 5-HT_{2A} 수용체 유전자의 대표적인 SNP 중 하나인 1438A/G 는 특히 RNA 중합효소가 전사를 위해 붙는 촉진자 부위에 존재하는 SNP로 이 부위의 염기서열의 변화는 다른 부위의 변화보다 이후 단백질 합성에 큰 영향을 미치기 때문에 더욱 주목을 받고 있다. 이 유전자다형성은 정신분열증²⁹, 알코올 의존증³⁰, 식이 장애³¹, 강박장애³²와 연관을 보이는 것으로 보고되었다. 양극성장애의 경우 이전 연구결과를 종합하여 보면 102T/C, 74C/A, 1354C/T 등 여러 부위의 유전자다형성이 조사되었는데, 양극성장애와 연관성을 증명하지 못하였고³³, 1438A/G 유전자다형성이 일부 연구에서 양극성장애와 연관이 있음이 보고되었다. 유의한 결과를 보인 연구는 Caucasian계 프랑스인³⁴과 한국인³⁵을 대상으로 한 연구였다.

상대적으로 한국인은 다른 인종에 비해 유전적으로 동질하여 층화 오류를 최소화 할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 따라서 본 연구는 한국인을 대상으로 tryptophan hydroxylase 218A/C 유전자다형성 및 5-HT_{2A} 수용체 1438A/G 유전자다형성에 대한 정상인의 대립형질 빈도와 유전자형 분포를 확인하고 양극성장애 환자와 비교하여 유의한 차이가 있는지를 알아봄으로서 tryptophan hydroxylase 218A/C 유전자 및 5-HT_{2A} 수용체 유전자가 양극성장애와 연관성이 있음을 밝히고자 한다. 아울러 아직 한국인을 대상으로 자살력, 발병연령 등 임상적 특성과 유전자형 및 대립형질 간의 연관관계에 대해 알아본 연구가 없는데, 본 연구에서는 주요 임상 특성과 유전자형 및 대립형질 간의

연관관계도 알아보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 서울 및 경기지역에 위치한 4개의 병원(세브란스 정신건강병원, 세브란스 병원, 한림대학교 성심병원, 국민건강보험공단 일산병원)에서 치료 받은 1형 양극성장애 환자 중 연구자와 충분한 의사소통을 할 수 있으며 연구 목적과 과정에 동의한 환자를 대상으로 하여, 184명의 혈액을 채취하였고, 환자군의 양극성장애의 진단은 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-IV 진단기준에 의거하여 정신과 의사의 면접을 통해 이루어 졌다. 양극성 장애 증상이 환자의 현저한 증상이라고 판단된 경우 다른 정신과적 질환이 동반되어도 연구에 참여시켰다. 전체 환자 중 33명(17.9%)이 DSM-IV 진단기준을 만족시키는 정신과적 동반 질환이 있었다. 알코올 의존과 인격장애가 각각 13명(7.1%)으로 가장 흔한 동반질환으로 조사되었다. 신체적 질환이 있는 환자도 연구에 포함시켰으며 다만 간질, 심각한 두부외상, 정신지체 및 약물 남용 등의 과거력이 있는 환자는 제외시켰다. 참여한 양극성장애 환자 모두가 정신과적 약물을 복용 중이었다. 정상 대조군은 자발적으로 참여한 사람으로, 주로 의과대학 학생과 병원 내 광고를 통해 모집된 사람들 이었다. 정신과의사나 임상심리사의 면접을 통해 DSM-IV 상 양극성장애를 포함한 정신과적 질환의 과거력이 없음이 확인이 되었다. 연구 계획서는 각 병원의 연구윤리위원회의 허락을 받았다.

2. 연구방법

가. 유전자 분석

혈액의 채취 및 DNA분리: 양극성장애 환자 및 정상인의 말초

정맥에서 채취된 혈액은 EDTA 처리된 튜브에 담겨 -20°C 냉동 보관되었다. 이후 냉동 보관된 혈액을 상온에서 녹인 뒤, 1.5ml micro tube에 전혈 400 μ l와 EDB solution 60 μ l, LDB 500 μ l를 넣은 후, 15초 정도 잘 휘젓고 56°C에서 5분 배양시켰다. 99%Ethanol 500 μ l 넣은 후 15초 정도 다시 저은 뒤, QuickGene-810 cartridge (FUJIFILM, Japan)에 옮겨 DNA를 추출하였다.

유전자형별: 5-HT_{2A} 수용체 유전자의 1438A/G 염기서열과 TPH 유전자에 있는 218A/C 염기서열이 증폭되도록 사용한 시발체의 염기서열은 5-HT_{2A} 수용체 유전자는 5'-GGGTGGCATATTTCTGCTG-3', 5'-TGTCTGCACCAAGGGACTC-3'였고 TPH 유전자는 5'-CATGTTCCATGCTCTATATGTGT-3', 5'-TGTCTGATTTTTTTCAGTGTTAC ATT-3'였다. 유전자형별은 ABI PRISM SNaPshot Multiplex kit (ABI, USA)을 사용하여 single base primer extension assay로 이루어졌다. 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reactin; PCR)은 Genomic DNA 10ng, forward & reverse primer 각각 0.5pM, 10X PCR buffer 1ul, dNTP 250uM, i-StarTaq DNA polymerase (iNtRON Biotechnology, Korea)를 잘 섞은 후 반응시켰다. PCR 과정은 최초 95°C에서 10분간 열 변성을 시킨 후, 95°C에서 30초간(변성), 58°C에 1분간(폴림), 72°C에 1분간(신장)을 35회 반복하였고 마지막으로 신장을 극대화 하기 위해 72°C에서 10분간 유지하였다.

PCR후 PCR 산물은 shrimp alkaline phosphatase (SAP)(Roche)와 exonuclease I (USB Corporation)에 의해 37°C에서 75분, 72°C에서 15분간 정제 과정을 거쳤으며 이후 SNaPshotTM Reaction이 시행되었다. 이것은 SNP 바로 앞까지 합성된 시발체를 변성된 PCR 산물과 폴리메어 (anneaing) 한 후 형광색으로 표지된 dideoxynucleotide와 taq polymerase를 첨가시켜 96°C에 10초, 50°C에 5초, 60°C에 30초 간 25회 반복하는 과정으로 이 과정을 통해 단일 염기 신장이 된다. 여기서 만들어진

반응산물은 SAP 처리를 통해 정제되고 ABI Prism® 3730xl DNA analyzer를 이용하여 분석되었다. 결과의 분석은 Genemapper software (version 3.0; Applied Biosystems)를 이용하였다.

나. 자료처리 및 분석

양극성장애 환자군, 정상대조군의 평균값 비교는 t-검정(t-test)을 시행하였고 두 군의 유전자형과 대립형질의 빈도를 조사하여 카이제곱검정(chi-square test)을 사용하여 분석하였다. 양극성장애 환자내의 자살 시도력, 과거력의 유무에 따른 차이도 카이제곱검정(chi-square test)으로 분석하였고 유전자형에 따른 발병연령의 차이는 일원분산분석(one way ANOVA)을 시행했다. 유전자형의 분포를 Hardy-Weinberg 평형의 예측치와 비교하여 편위 여부를 확인하였다. 통계 값의 유의 수준은 0.05 미만으로 양측 검정을 시행하였고 SAS 9.1이 통계 분석 프로그램으로 사용되었다.

III. 결과

1. 환자군 및 대조군의 인구학적, 임상적 특성

환자군의 성비는 남자가 67명으로 전체의 36.4%였고 평균 연령은 41.5 ± 13.3 이었다. 교육기간은 13.3 ± 3.4 년으로 조사되었다. 발병 연령은 26.1 ± 6.2 세였으며 첫 삽화가 조증으로 조사된 환자가 116명(63.0%), 우울증으로 조사된 환자가 68명(37.0%)이었다. 환자군에서 가족력은 59명(32.1%)에서, 자살 시도력은 23명(12.5%)에서 관찰되었다. 정상군의 성별은 환자군과 별 차이가 없었으며 평균 연령은 23.7 ± 2.5 세로 환자군과 유의하게 달랐고($p < 0.01$) 교육기간도 15.5 ± 1.0 으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.01$).

Table1. Demographic characteristics of bipolar patients and control subjects

	Bipolar patient , n=184	Healthy control, n=216
Age, year	41.5±13.3	23.7±2.5
Gender, male/female	67/117	83/131
Education, year	13.3±3.4	15.5±1.0
Age of onset, year	26.2±6.2	
Family history (%)	59(32.1)	·
Suicidal attempt (%)	23(12.5)	·
Psychiatric comorbidity (%)	33(17.9)	·

2. 양극성장애 환자군과 정상 대조군의 tryptophan hydroxylase 유전자형 및 대립형질의 빈도 비교

Tryptophan hydroxylase 유전자형의 빈도는 환자군, 정상군 모두에서 Hardy-Weinberg equilibrium의 분포를 따랐다($X^2=0.03$, $df=1$, $p=0.87$; $X^2=2.28$, $df=1$, $p=0.13$). (표 2)에서 보면 정상군에서 전체 216명 중 A/A 유전자형이 43명(19.9%), A/C 유전자형이 113명(52.3%), 그리고 C/C 유전자형이 60명(27.8%)의 빈도를 보였다. 환자군은 A/A 유전자형이 48명(26.1%), A/C 유전자형이 93명(50.5%), 그리고 C/C 유전자형이 43명(23.4%)로 두 군간에 유전자형의 유의한 차이는 보이지 않았다($X^2=2.25$, $df=2$, $p=0.29$). 대립형질의 빈도를 비교할 때도 정상군에서는 A 대립형질이 199개(46.1%), C 대립형질이 233개(53.9%)의 빈도를 보였고 환자군은 A 대립형질이 189개(51.4%), C 대립형질이 179개(48.6%)의 빈도를 보임으로서 두 군간에 유의미한 차이는 없었다($X^2=2.23$, $df=1$, $p=0.14$).

Table 2. Genotype and allele frequencies of tryptophan hydroxylase gene-218A/C polymorphism in bipolar patients and control subjects

	Control, n=216	Patient, n=184	X^2	p
Genotype				
A/A (%)	43(19.9)	48(26.1)	2.25	0.29
A/C (%)	113(52.3)	93(50.5)		

C/C (%)	60(27.8)	43(23.4)		
Allele				
A (%)	199(46.1)	189(51.4)	2.23	0.14
C (%)	233(53.9)	179(48.6)		

3. 양극성장애 환자군과 정상 대조군의 5-HT_{2A} 수용체 유전자형 및 대립형질의 빈도 비교

양극성장애 환자군과 정상 대조군의 5-HT_{2A} 수용체 유전자형 빈도는 모두 Hardy-Weinberg equilibrium의 분포를 따랐다($X^2=0.91$, $df=1$, $p=0.34$; $X^2=0.60$, $df=1$, $p=0.44$). 각군의 유전자형 및 대립형질의 분포는 (표 3)에 기술하였다. 정상군 216명 중 A/A 유전자형이 52명(24.1%), A/G 유전자형이 110명(50.9%), 그리고 G/G 유전자형이 85명(25.0%)의 빈도를 보였다. 환자군은 A/A 유전자형이 51명(27.7%), A/G 유전자형이 86명(46.7%), 그리고 G/G 유전자형이 47명(25.5%)로 두 군간에 유전자형의 유의한 차이는 보이지 않았다($X^2=0.98$, $df=2$, $p=0.61$). 대립형질 빈도비교 또한 정상군에서 A 대립형질이 214개(49.5%), G 대립형질이 218개(50.5%)인데 비해 환자군은 A 대립형질이 188개(51.1%), G 대립형질이 180개(48.9%)로 두군 간에 유의미한 차이가 없었다($X^2=0.19$, $df=1$, $p=0.66$).

Table 3. Genotype and allele frequencies of 5-HT_{2A} receptor gene-1438A/G polymorphism in bipolar patients and control subjects

	Control, n=216	Patient, n=184	X ²	p
Genotype				
A/A (%)	52(24.1)	51(27.7)		
A/G (%)	110(50.9)	86(46.7)	0.98	0.61
G/G (%)	54(25.0)	47(25.5)		
Allele				
A (%)	214(49.5)	188(51.1)	0.19	0.66
G (%)	218(50.5)	180(48.9)		

4. 양극성장애 환자군 내의 임상 변인과 유전자형 및 대립형질 간의 연관관계

가. Tryptophan hydroxylase 유전자

가족력이 있는 환자군에서 A/A형은 15.3%, A/C형은 59.3%, C/C형은 25.4%이었고 가족력이 없는 환자군은 각각 27.2%, 47.2%, 25.6%로 유의한 차이를 보이지 않았다($X^2=2.28$, $df=2$, $p=0.32$). 대립형질의 빈도는 가족력이 있는 환자군의 A 대립형질이 44.9% C 대립형질이 55.1%이었고 가족력이 없는 환자군은 각각 50.6%, 49.4%로 가족력에 따른 차이가 없었다($X^2=0.71$, $df=1$, $p=0.40$). 자살력이 있는 환자군에서 각 유전자형의 분포는 A/A형, A/C형, C/C형이 17.4%, 52.2%, 30.4%이었고 자살력이 없는 환자군에서는 각각 23.0%, 52.8%, 24.2%로 비슷한 분포를 보였다($X^2=0.59$, $df=2$, $p=0.74$). 자살력이 있는 환자군에서 A 대립형질과 G 대립형질의 %는 각각 44.9%, 55.1%이었고 자살력이 없는 환자군에서는 각각 50.6%, 49.4%로 차이를 보이지 않았다($X^2=0.71$, $df=1$, $p=0.40$). 각 유전자형에 따른 발병연령은 A/A 유전자형이 32.0 ± 15.7 세, A/C 유전자형은 29.0 ± 11.4 세, C/C 유전자형은 27.4 ± 10.9 세로 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($F=1.01$, $df=2$, $p=0.37$).

Table 4. Distributions of patients with their clinical variables according to genotypes and allele frequency; 218A/C polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene

	Genotypes(%)			X^2	p	Allele frequency(%)		X^2	p
	A/A	A/C	C/C			A	C		
Family history									
Present	9(15.3)	35(59.3)	15(25.4)	2.28	0.32	53(44.9)	65(55.1)	0.71	0.40
Absent	34(27.2)	59(47.2)	32(25.6)			127(50.6)	123(49.4)		
Suicidal history									
Present	4(17.4)	12(52.2)	7(30.4)	0.59	0.74	20(44.9)	26(55.1)	0.71	0.40
Absent	37(23.0)	85(52.8)	39(24.2)			159(50.6)	163(49.4)		

나. 5HT_{2A} 수용체 유전자

가족력이 있는 환자군(59명)에서 A/A형, A/G형, G/G형의 %가 각각 28.8%, 42.4%, 28.8%이었고 가족력이 없는 환자군(125명)에서는 각각 24.8%, 51.2%, 24.0%로 유의한 차이를 보이지 않았다($X^2=1.26$, $df=2$, $p=0.53$). 대립형질의 빈도도 가족력이 있는 환자군과 가족력이 없는 환자군 간에 차이가 없었다($X^2=0.01$, $df=1$, $p=0.93$). 자살력이 있는 환자군(23명)에서 각 유전자형의 분포는 A/A형, A/G형, G/G형이 13.0%, 52.2%, 34.8%이었고 자살력이 없는 환자군(161명)에서는 각각 28.6%, 46.6%, 24.8%로 자살력의 유무에 따른 유의한 차이가 없었으며 ($X^2=1.26$, $df=2$, $p=0.26$) 대립형질의 빈도 비교에 있어서 자살력이 있는 환자군에서 A 대립형질과 G 대립형질이 각각 38.2%, 61.8%인데 비해 자살력이 없는 환자군에서는 각각 52.1%, 47.9%로 통계적으로 유의하지 않았다($X^2=2.55$, $df=1$, $p=0.11$). 각 유전자 형에 따른 발병연령이 (표 6)에 제시되었다. A/A 유전자형에서의 발병연령은 28.8 ± 10.4 세, G/A 유전자형은 29.3 ± 12.3 세, G/G 유전자형은 29.4 ± 14.1 세로 차이를 보이지 않았다($F=0.02$, $df=2$, $p=0.97$).

Table 5. Distributions of patients with their clinical variables according to genotypes and allele frequency; 1438A/G polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene

	Genotypes(%)			X^2	p	Allele frequency(%)		X^2	p
	A/A	A/G	G/G			A	G		
Family history									
Present	17(28.8)	25(42.4)	17(28.8)	1.26	0.53	59(50.0)	59(50.0)	0.01	0.93
absent	31(24.8)	64(51.2)	30(24.0)			126(50.6)	124(49.4)		
Suicidal history									
Present	3(13.0)	12(52.2)	8(34.8)	2.72	0.26	18(38.2)	28(61.8)	2.25	0.11
absent	46(28.6)	75(46.6)	40(24.8)			167(52.1)	155(47.9)		

Table 6. Age at onset and the 5HT_{2A} receptor gene & TPH gene polymorphism in bipolar patients

Tryptophan hydroxylase gene				5HT _{2A} receptor gene			
Genotype	Age	F	p	Genotype	Age	F	p

A/A	32.0±15.7			A/A	28.8±10.4		
A/C	29.0±11.4	1.01	0.37	G/A	29.3±12.3	0.02	0.97
C/C	27.4±10.9			G/G	29.4±14.1		

IV. 고찰

이 연구에서는 tryptophan hydroxylase 유전자와 5-HT_{2A} 수용체 유전자가 양극성장애와 연관을 맺고 있는지를 알아보았다. 또한 양극성장애 환자에서 가족력, 자살력, 발병연령 등의 임상 변인과 연관성을 알아보았다. 그 결과 한국인에서 tryptophan hydroxylase 유전자 및 5HT_{2A} 수용체 유전자와 양극성장애 발생과의 연관성을 관찰하지 못하였다. 아울러 주요 임상 변인과의 관련성도 발견되지 않았다.

Bellivier¹⁸ 등은 152명의 Caucasian계 프랑스인을 대상으로 218A/C 유전자다형성에 대해 양극성장애와 연관성이 있는지를 연구하였으며 A 대립형질이 양극성장애와 유의한 상관관계가 있음을 보고하였다. 이들의 연구에서 1형 양극성장애와 2형 양극성장애 환자 간의 대립형질 빈도의 차이는 없었으며 환자군 내에서 자살력 유무에 따른 대립형질의 빈도차이도 관찰되지 않았다. 그러나 297명의 아일랜드인 양극성장애 환자를 대상으로 한 연구¹⁹나 아시아인을 대상으로 한 연구¹⁹에서 218A/C 유전자다형성 부위와 양극성장애 간의 연관성은 없는 것으로 보고되었다. 본 연구가 이전 Bellivier 등의 연구와는 달리 양극성장애와 218A/C 유전자다형성 간에 연관성을 입증하지 못한 이유는 두 연구에 참여한 환자군 간에 차이가 있기 때문으로 생각된다. 두 연구의 환자군이 다른 이유는 첫째, 두 연구에 참여한 대상의 인종적 차이가 있었다. 정상 대조군의 결과도 같은 아시아인인 정상 일본인과는 비슷한 유전자 분포를 보이고 있지만 Caucasian계 프랑스와는 유전자 분포가 유의하게 달랐다. 둘째, 본 연구에서는 제 1형 양극성장애 환자만을 대상으로 한 반면 Bellivier 등의 연구는 제 1형과 2

형 환자가 함께 연구에 포함되었다. 셋째, 본 연구는 외래 환자를 대상으로 시행된 것에 비해 Bellivier의 연구는 입원환자들을 대상으로 연구가 시행되었다.

본 연구에서는 5-HT_{2A} 수용체 유전자와 양극성장애 간의 연관 관계도 발견되지 않았다. 5-HT_{2A} 수용체 유전자와 양극성장애에 대한 기존 연구를 살펴보면 Bonnier³⁴ 등은 94명의 1형 양극성장애 환자, 33명의 2형 양극성장애 환자, 65명의 단극성 우울증 환자를 대상으로 연구한 결과, 1형 양극성장애 환자에서 1438A/G 유전자다형성의 A 대립형질의 빈도가 정상인에 비해 유의하게 높음을 보고하였다. 그러나 이 연구는 환자군과 대조군 간에 남녀의 성비 분포가 달랐고 1형 양극성장애의 표본 크기가 충분치 못한 제한점이 있었다. 이들의 결과와는 반대로, Chee³⁵ 등은 142명의 한국인 양극성장애 환자를 대상으로 하여 1438 A/G 유전자다형성의 A 대립형질의 빈도가 양극성장애 환자에서 정상인에 비해 유의하게 낮음을 보고하였다. 본 연구가 Chee 등의 연구처럼 유의한 결과를 보이지 못한 이유는 다음과 같은 점들을 생각해 볼 수 있다. Chee 등의 연구는 입원 환자를 대상으로 하였고 본 연구는 입원 여부와 상관없이 외래 추적관찰 중인 환자를 대상으로 하였다. 입원 여부가 질환의 중증도가 연관을 맺고 있음을 고려할 때 두 군사이의 중증도의 차이가 있을 수 있다. 양극성장애의 정신병적 증상은 질환의 중증도에 영향을 준다³⁶. 또한 정신병적 증상이 있는 군과 없는 군 간에는 유전학적 차이가 있음이 보고되고 있다³⁷⁻³⁹. 그러나 본 연구는 연구 설계 당시에 이러한 점을 미처 고려하지 못하여 환자의 정신병적 증상 유무 및 입원 치료의 유무가 조사되지 못했다.

이 연구의 제한점은 다음과 같은 사항을 고려해 볼 수 있다. 첫째 1형 양극성장애 진단에 있어 구조화된 면접을 시행하지 못했다는 점이다. 이 때문에 진단의 불확실성을 완전히 배제하기 어렵고 이

것이 결과에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 둘째, 양극성장애 내에 존재하는 여러 하위 그룹을 통제하지 못했다는 점이다. 양극성장애는 다양한 증상 군과 다양한 원인적 배경을 가진 집합체로서 각 하위 그룹이 서로 다른 유전적 기원을 가질 가능성이 높다. 이후 양극성장애를 대상으로 한 연구에서는 정신병적 증상의 유무, 입원력 유무 등 임상 양상에 따른 하위 그룹과 유전자간의 상관관계를 알아보아야 할 것으로 본다. 셋째, 5-HT_{2A} 유전자와 TPH 유전자에서 대표적인 하나의 SNP만을 조사하였다. 이들 유전자에는 본 연구에서 조사한 SNP 외에 여러 유전적 변이들이 존재한다. 예를 들어 TPH 218A/C 유전자 다형성은 다른 다형성 부위와 함께 단백질 결합을 변화시키는 것으로 보고되었지만⁴⁰ 218A/C 유전자 다형성만으로는 아미노산 서열을 바꾸거나 유전자 전사에 영향을 미치지 못한다는 것이 보고되기도 했다⁴¹. 따라서 향후 연구에서는 연관분석, 일배체형 분석(haplotype analysis) 등을 이용하여 5-HT_{2A} 수용체 유전자 및 TPH 유전자 내에 존재하는 여러 SNP 들을 동시에 조사하는 것이 필요할 것이다. 넷째, 환자군과 정상군의 연령이 유의한 차이를 보이고 있다는 점이다.

V. 결론

본 연구는 가장 많은 한국인 양극성장애 환자를 대상으로 한 연구로서 정상인에서의 유전자형 및 대립형질 분포가 이전 연구와 차이가 없음을 보여주었다. 본 연구에 참여한 정상군과 환자군 간의 비교에서는 TPH 유전자의 218A/C 유전자다형성과 5-HT_{2A} 수용체 유전자의 1438A/G 유전자다형성이 양극성장애와 연관성이 없음을 보여주었다. 또한 본 연구는 양극성장애 환자의 가족력, 자살력 등의 임상 특성과 이들 유전자와의 관련성도 없음을 보여주었다.

참고문헌

1. Craddock N, Jones I. Genetics of bipolar disorder. *British Medical Journal* 1999;36:585.
2. Gershon ES, Martinez M, Goldin LR, Gejman PV. Genetic mapping of common diseases: the challenges of manic-depressive illness and schizophrenia. *Trends Genet* 1990;6:282-7.
3. Hoyer D, Lübbert H, Bruns C. Molecular pharmacology of somatostatin receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1994;350:441-53.
4. Brunner HG, Nelen M, Breakefield XO, Ropers HH, van Oost BA. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science* 1993;262:578-80.
5. Bellivier F, Henry C, Szöke A, Sch?rhoff F, Nosten-Bertrand M, Feingold J, et al. Serotonin transporter gene polymorphisms in patients with unipolar or bipolar depression. *Neuroscience Letters* 1998;255:143-6.
6. Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biological Psychiatry* 1998;44:151-62.
7. Van Praag HM, Korf J, Puite J. 5-Hydroxyindoleacetic acid levels in the cerebrospinal fluid of depressive patients treated with probenecid. *Nature* 1970;225:1259-60.
8. Asberg M, Traskman L, Thoren P. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry* 1976;33:1193-7.
9. Tuomisto J, Tukiainen E, Ahlfors UG. Decreased uptake of 5-hydroxytryptamine in blood platelets from patients with endogenous depression. *Psychopharmacology* 1979;65:141-7.
10. Scott M, Reading HW, Loudon JB. Studies on human blood platelets in affective disorder. *Psychopharmacology* 1979;60:131-5.
11. Stahl SM, Woo DJ, Mefford IN, Berger PA, Ciaranello RD. Hyperserotonemia and platelet serotonin uptake and release in schizophrenia and affective disorders. *American Journal of Psychiatry* 1983;140:26.
12. Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, Hortnagl H, Voits M, Fink H, et al. Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. 2003. p.76-9.
13. Craig SP, Boularand S, Darmon MC, Mallet J, Craig IW. Localization of human tryptophan hydroxylase (TPH) to

- chromosome 11p15. 3p14 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1991;56:157-9.
14. Harvey M, Shink E, Tremblay M, Gagne B, Raymond C, Labbe M, et al. Support for the involvement of TPH2 gene in affective disorders. *Mol Psychiatry* 1911;2004:980-1.
 15. Van Den Bogaert A, Slegers K, De Zutter S, Heyrman L, Norrback KF, Adolfsson R, et al. Association of Brain-Specific Tryptophan Hydroxylase, TPH2, With Unipolar and Bipolar Disorder in a Northern Swedish, Isolated Population. *Archives of General Psychiatry* 2006;63:1103.
 16. Zill P, Büttner A, Eisenmenger W, Möller HJ, Bondy B, Ackenheil M. Single nucleotide polymorphism and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase Isoform (TPH2) gene in suicide victims. *Biological Psychiatry* 2004;56:581-6.
 17. Hong CJ, Tsai SJ, Wang YC. Association between tryptophan hydroxylase gene polymorphism (A218C) and schizophrenic disorders. *Schizophrenia research* 2001;49:59-63.
 18. Bellivier F, Leboyer M, Courtet P, Buresi C, Beaufiles B, Samolyk D, et al. Association Between the Tryptophan Hydroxylase Gene and Manic-depressive Illness. *Am Med Assoc*; 1998. p.33-7.
 19. McQuillin A, Lawrence J, Kalsi G, Chen A, Gurling H, Curtis D, et al. No Allelic Association Between Bipolar Affective Disorder and the Tryptophan Hydroxylase Gene. *Am Med Assoc*; 1999. p.99-101.
 20. Lai TJ, Wu CY, Tsai HW, Lin YMJ, Sun HS. Polymorphism screening and haplotype analysis of the tryptophan hydroxylase gene (TPH1) and association with bipolar affective disorder in Taiwan. *feedback* 2005.
 21. Vincent JB, Masellis M, Lawrence J, Choi V, Gurling HMD, Parikh SV, et al. Genetic association analysis of serotonin system genes in bipolar affective disorder. *Am Psychiatric Assoc*; 1999. p.136-8.
 22. Charney DS, Delgado PL. Current concept of the role of serotonin function in depression and anxiety. *Serotonin Receptor Subtypes: Pharmacological Significance and Clinical Implication* Basel, Karger 1992:89?104.
 23. Celada P, Puig MV, Amargós-Bosch M, Adell A, Artigas F. The therapeutic role of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 2004;29:252.
 24. Gray JA, Roth BL. Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT2A receptors by agonists and antagonists. *Brain Research Bulletin* 2001;56:441-51.
 25. Carpenter LL, Yasmin S, Price LH. A double-blind, placebo-controlled study of antidepressant augmentation with

- Miriazapine. *Biological Psychiatry* 2002;51:183-8.
26. Shelton RC, Tollefson GD, Tohen M, Stahl S, Gannon KS, Jacobs TG, et al. A Novel Augmentation Strategy for Treating Resistant Major Depression. *American Journal of Psychiatry* 2001;158:131.
 27. Biegon A, Weizman A, Karp L, Ram A, Tiano S, Wolff M. Serotonin 5-HT₂ receptor binding on blood platelets--a peripheral marker for depression? *Life Sci* 1987;41:2485-92.
 28. Yates M, Leake A, Candy JM, Fairbairn AF, McKeith IG, Ferrier IN. 5HT₂ receptor changes in major depression. *Biol Psychiatry* 1990;27:489-96.
 29. Arranz MJ, Munro J, Owen MJ, Spurlock G, Sham PC, Zhao J, et al. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5-HT_{2A} receptor gene and response to clozapine. *Molecular Psychiatry* 1998;3:61-6.
 30. Nakamura T, Matsushita S, Nishiguchi N, Kimura M, Yoshino A, Higuchi S. Association of a polymorphism of the 5 HT_{2A} receptor gene promoter region with alcohol dependence. *Molecular Psychiatry* 1999;4:85-8.
 31. Collier DA, Arranz MJ, Li T, Mupita D, Brown N, Treasure J. Association between 5-HT_{2A} gene promoter polymorphism and anorexia nervosa. *Lancet* 1997;350:412.
 32. Walitza S, Wewetzer C, Warnke A, Gerlach M, Geller F, Gerber G, et al. 5-HT_{2A} promoter polymorphism 1438G/A in children and adolescents with obsessive-compulsive disorders. *Molecular Psychiatry* 2002;7:1054-7.
 33. Ranade SS, Mansour H, Wood J, Chowdari KV, Brar LK, Kupfer DJ, et al. Linkage and association between serotonin 2 A receptor gene polymorphisms and bipolar I disorder. *American Journal of Medical Genetics* 2003;121:28-34.
 34. Bonnier B, Gorwood P, Hamon M, Sarfati Y, Boni C, Hardy-Bayle MC. Association of 5-HT_{2A} receptor gene polymorphism with major affective disorders: the case of a subgroup of bipolar disorder with low suicide risk. *Biological Psychiatry* 2002;51:762-5.
 35. Chee IS, Lee SW, Kim JL, Wang SK, Shin YO, Shin SC, et al. 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism-1438A/G and bipolar disorder. *Psychiatric Genetics* 2001;11:111.
 36. Swann AC, Daniel DG, Kochan LD, Wozniak PJ, Calabrese JR. Psychosis in mania: specificity of its role in severity and treatment response. *J Clin Psychiatry* 2004;65:825-9.
 37. Rosen LN, Rosenthal NE, Van Dusen PH, Dunner DL, Fieve RR. Age at onset and number of psychotic symptoms in bipolar I and schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 1983;140:1523-4.

38. Potash JB, Chiu YF, MacKinnon DF, Miller EB, Simpson SG, McMahon FJ, et al. Familial aggregation of psychotic symptoms in a replication set of 69 bipolar disorder pedigrees. *American Journal of Medical Genetics* 2003;116:90-7.
39. Rende R, Birmaher B, Axelson D, Strober M, Gill MK, Valeri S, et al. Psychotic symptoms in pediatric bipolar disorder and family history of psychiatric illness. *Journal of Affective Disorders* 2006;96:127-31.
40. Rotondo A, Schuebel KE, Bergen AW, Aragon R, Virkkunen M, Linnoila M, et al. Identification of four variants in the tryptophan hydroxylase promoter and association to behavior. *Molecular psychiatry* 1999;4:360-8.
41. Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S, Von Heijne G. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. *Protein Engineering Design and Selection* 1997;10:1-6.

Abstract

Association of tryptophan hydroxylase gene polymorphism and 5-HT_{2A}
receptor gene polymorphism with bipolar disorder

Teak Su Kim

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Se Joo Kim)

Background : Serotonin is a key neurotransmitter in the central and peripheral nervous system which is implicated in the control of mood, sleep, appetite and a variety of traits and behaviors. Neurobiological and pharmacological research has suggested that the dysregulation of the serotonin systems might be involved in the pathophysiology of bipolar disorder. Tryptophan hydroxylase (TPH), the rate-limiting enzyme in the biosynthesis of serotonin, plays a vital role in serotonin metabolism and several researchers reported that bipolar disorder might be associated with 5-hydroxytryptamine_{2A} (5-HT_{2A}) receptor gene. The aim of this study was to examine the association of the serotonin related gene (TPH gene, 5-HT_{2A} receptor gene) with bipolar disorder in Korean subjects.

Methods : In a case-control study, we assessed 184 patient with bipolar I disorder diagnosed by DSM-IV and 216 normal controls. Psychiatric diagnoses were derived through interviews with psychiatrist. The peripheral blood from all subjects were taken and the genomic DNAs were extracted. Genotyping for TPH and 5-HTR polymorphism was done with SNaPShot method. The genotypes and allele frequencies of the polymorphism between bipolar group and control group were compared using chi-square test and ANOVA test.

Results : There were no significant differences in the genotype or allele frequencies of the TPH & 5-HT_{2A} receptor polymorphism between the bipolar group and control group ($p>0.05$). There were no significant differences

between the clinical profiles of bipolar group and genotype and allele distribution.($p>0.05$)

Conclusion : These results suggest that there is no association between the 218A/C polymorphism of the TPH gene & the 1438A/G polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene and bipolar disorder in Korean subjects. This study suggests that these polymorphism is unlikely to have a major effect on the susceptibility of clinical profile in patients with bipolar disorder

Key Words: bipolar disorder, tryptophan hydroxylase gene, 5-HT_{2A} receptor gene