

한국인에서의 편두통과 도파민 D4수용체 유전자 다형태의 연관성

연세대학교 의과대학 신경과학교실

송태진 · 홍지만 · 김현숙 · 이경열 · 김원주 · 최영철

Dopamine D4 Receptor Gene Polymorphism in Korean Patients with Migraine

Tae Jin Song, M.D., Ji Man Hong, M.D., Hyun-Suk Kim, M.D., Kyung-Yul Lee, M.D.,
Won-Joo Kim, M.D., and Young-Chul Choi, M.D.

Department of Neurology, Yongdong Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The dopamine metabolism is believed to play an important part in the pathophysiology of migraines. It was reported that the distribution of alleles for the dopamine D4 receptor gene (DRD4) in migraine without aura patients is significantly different from those in control group. A polymorphism of the DRD4 might be related to genetic susceptibility of migraine. The aim of this study was to investigate the association of DRD4 exon III polymorphism between patient group with migraine and control group.

Methods: This study compared 150 patients with migraine (38 males, 112 females and mean age 42.4±10.23) 100 healthy control subjects (25 males, 75 females and mean age 42.6±10.35) in order to determine the association between a polymorphism of the DRD4 exon III and migraine. Using PCR techniques, the DRD4 polymorphism was denoted by 48-base-pair tandem repeat in exon III of the gene.

Results: There was no significant difference between the healthy controls, migraine without aura patients and migraine with aura patients in age and sex distribution. Significant differences were noted in the genotype between migraine without aura group and migraine with aura group. Also significant differences were observed in allele frequencies compared migraine without patients with control group and migraine with aura patients.

Conclusions: The DRD4 polymorphism appears to be involved in the genetic predisposition to migraine without aura. Migraine without aura may have different pathophysiology from migraine with aura in genetic field.

Korean Journal of Headache 7(1):41-45, 2006

Key Words: Migraine, Dopamine D4 Receptor Gene Polymorphism, Allele

서 론

편두통은 우리나라에서 대략 20%의 유병률을 보이는 비교적 흔한 신경과적 질환으로 사회적으로 가장 활동적인 연령인 10대에서 30대 사이에 호발하며, 증상이 심할 경우 때

때로 일상생활에 까지 영향을 주어 삶의 질에 막대한 지장을 초래할 수 있다.¹⁻³ 따라서 편두통 환자가 일상생활을 정상적으로 수행할 수 있도록하기 위해서 적절한 치료 및 예방이 반드시 필요하다고 생각된다. 적절한 치료와 예방을 위해, 편두통의 병태생리학적 기전을 아는 것이 중요하지만, 편두통의 병태생리학적 기전에 대해서는 아직 정확하게 알려져 있지 않다. 대표적으로 삼차신경 자극에 의해 뇌의 경막에 분포하는 혈관에 신경성 염증이 유발되어 편두통이 발생한다는 이론과 뇌혈관의 혈관이 확장되어 편두통을 일으킬 것이라는 혈관성 이론 등이 알려져 있다.⁴⁻⁶ 한편 편두통은 연

Corresponding Author: Young-Chul Choi, M.D.
Department of Neurology, Yongdong Severance Hospital, Yonsei University
College of Medicine, 146-92 Gangnam-gu, Seoul 135-720, Korea
Tel: 82-2-2019-3323 Fax: 82-2-3462-5904
E-mail: mail:ycchoi@yumc.yonsei.ac.kr

구에 따라 35%에서 80%의 가족력을 동반하며, 최근의 유전자 연구인 가족성편마비편두통(familial hemiplegic migraine; FHM) 연구에서는 원인 유전자로 19번 염색체에 위치하는 칼슘 통로의 유전자인 CACNA1A를 밝혀내었다.^{1,7,8} 이러한 연구 결과들은 편두통이 유전적 요인을 가지고 있음을 시사하고 있다. 이런 편두통의 유전적 특성을 바탕으로 도파민 수용체 유전자에 대한 연구가 진행되어 왔다.⁹ 그 중 D2, D3 도파민 수용체(DRD2, DRD3) 유전자와 전형적인 편두통에서 도파민 베타 수산화효소 유전자의 다형태는 편두통과 연관이 있다고 보고된 바 있다.^{10,11}

도파민 D4 수용체(DRD4)의 유전자 다형태와 편두통과의 관련성을 조사한 최근 연구는 무전조편두통 환자의 경우 DRD4 유전자의 다형태와 무전조편두통이 서로 관련이 있다고 하였다.¹² 그러나 아직 국내에서는 편두통 환자에서 DRD4 유전자의 다형태(exon III polymorphis)와 대립유전자에 대한 보고는 없었다. 이에 저자들은 한국인 편두통 환자에서 DRD4 유전자 다형태 및 대립유전자와 편두통과의 상관관계 대해 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

2001년 1월부터 2004년 12월까지 영동세브란스병원 신경과에 두통으로 내원한 환자들 중에서 편두통으로 진단된 환자를 대상으로 하였다. 전체 두통 환자에서 뇌출혈, 뇌경색, 뇌종양 및 뇌혈관성 질환과 심장혈관, 말초혈관성 질환을 가진 환자들은 제외하였고, 국제 두통학회(International Headache Society)에서 1988년에 제안한 진단 기준¹³에 따라 편두통에 해당하는 환자만을 대상으로 하였다. 전체 편두통 환자는 모두 150명, 남자 38명 여자 112명이었고, 연령은 평균 42.4±10.23세였다. 전체 편두통 환자들은 전조(aura)의 존재 유무에 따라 무전조편두통(migraine without aura; MOA)과 전조편두통으로(migraine with aura; MWA) 나누었는데, 각각 79명과 71명이었다. 정상 대조군은 동일기간에 본원 건강검진센터에 내원하였던 사람들로써, 역시 뇌출혈, 뇌경색, 뇌종양 및 뇌혈관성 질환과 심장혈관성 및 말초혈관성을 가지지 않았을 뿐만 아니라, 편두통의 과거력이 없고 가족력도 없으며, 평소에도 두통이 없는 환자를 대상으로 하였으며, 모두 100명, 남자 25명 여자 75명이었고, 나이는 평균 42.6±10.35세였다. 두 군 모두에게 이 연구의 목적과 방법에 대해 설명

하였으며, 채혈 및 유전자 검사에 대해 모두 동의를 얻었다.

2. 혈액의 채취 및 DNA 분리

편두통 환자와 정상 대조군의 말초 정맥에서 혈액을 채취하여 이디티에이(EDTA) 처리된 튜브에 넣은 뒤, 실험할 때까지 영하 70℃에 냉동 보관하였다. 냉동 보관된 혈액을 상온에서 녹인 뒤, 혈액 3 mL와 세포 용해용액 9 mL를 15 mL 튜브에 넣고 잘 섞어 10분동안 실온에서 반응시킨 다음 3,500 rpm에서 10분간 원심 분리시켜 상층액을 버리고 남은 펠릿에 핵용해용액 3 mL를 추가하고, 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 단백질 침전용액 1 mL를 첨가하고, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리 하였고, 펠릿에 70% 알코올을 섞어 세척한 뒤 펠릿을 공기 중에 말렸다. 여기에 250 µl DNA rehydration solution을 첨가하여 4℃에서 24시간 동안 녹인 후 얻어진 DNA를 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction: PCR)까지 영하 70℃에 보관하였다.

3. 유전자형별(Genotyping)

추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 중합효소 연쇄반응을 시행하였다 DRD4 유전자 exon III에 나타나는 48개의 염기가 반복으로 나타나는 다형성을 조사하기 위해서 좌, 우 각각 5'-AGG TGG CAG GTC GCG CCA AGC TGA A-3'과 5'-TCT GCT GTG GAG TCT GGG GTG GGA G-3'을 사용하였다. 반응 용액의 조성은 DNA 100 ng, 시발체 10 pmol, 1X pfu PCR buffer, 400 µM dATP, dTTP and dCTP, 200 µM dGTP (솔젠트, 한국), 200 µM 7-Deaz-adGTP (Boehringer Mannheim, Germany), 5% DMSO 그리고 2U의 솔젠트 pfu Tq를 섞어 20 µl 양으로 PTC-100 thermal cycler (MJ research, MN, U.S.A.)에서 98℃에서 5분간 변성 시킨 후 98℃ 45초, 55℃ 45초, 72℃ 1분의 주기를 35회 반복하고 72℃에서 5분 유지하였다. 증폭된 DNA 20 µl 중 10 µl를 2% agarose gel에서 100 volt로 1시간 동안 전기영동 하에서 ethidium bromide용액에 20분간 담근 후 자외선 투광기로 띠를 확인하였다. 유전자형은 DNA molecular 100 bp marker와 비교하여 DRD4-exon III내에 존재하는 2~10개의 다양한 반복서열단위(1단위-48bp)를 확인하였다.

4. 통계 분석

편두통 환자와 정상 대조군의 인구학적 차이 여부와 DRD4 유전자 다형태 및 대립유전자와 편두통과의 상관관계를 알

아보기 위하여 t-test와 chi-square를 사용하였고, 유의수준 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의미있는 것으로 판정하였으며, 통계처리는 SPSS-Windows용11.0 version을 사용하였다.

결 과

1. 편두통 환자와 정상 대조군의 나이 및 성별 비교

150명의 편두통 환자 중 남자는 38명 여자는 112명이었으며, 정상대조군 100명 중 남자가 25명 여자가 75명으로 두 군간에 성별의 차이는 없었다($p>0.05$). 편두통 환자군의 평균 나이는 42.4 ± 10.23 세, 정상 대조군에서의 평균나이는 42.6 ± 10.35 세로 두 군간에 차이를 보이지 않았다. 무전조편두통 환자군과 전조편두통 환자군 그리고 정상 대조군을 각각 비교하였을 때도 성별과 연령의 차이가 없게 나타났다(p value >0.05).

2. 편두통 환자와 정상 대조군의 DRD4 유전자형과 대립유전자의 빈도 비교

정상 대조군과 전조편두통 환자군 사이에서는 DRD4 대립유전자형의 빈도가 차이가 없었다($p=0.38$). 그러나 전조편두통 환자군과 무전조편두통 환자군 사이에서는 통계적으로 유의한 차이가 있었으며($p=0.05$ 미만, $p<0.001$), 무전조편두통 환자군과 정상 대조군을 비교하였을 때도 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p=0.05$ 미만, $p<0.001$). 대립유전자 4번은 무전조편두통 환자군에서 정상 대조군과 전조편두통 환자군보다 상대적으로 높게 관찰되었다. 대립유전자^{2,3,5} 그리고 7번 대립유전자는 무전조편두통 환자군에서 빈도가 낮게 나타났다(Table 1). 대립유전자 6번과 8번은 관찰되지 않았다. DRD4의 유전자형의 분포는 정상 대조군과 전조편두통에서 보다

넓고 다양하였다. 2|7, 3|7, 2|2번 유전자형은 무전조편두통에서는 나타나지 않았고, 정상 대조군과 전조편두통에서만 관찰되었다. 또한 유전형의 분포는 무전조편두통 환자군과 전조편두통 환자군 사이에서는 통계적으로 유의한 차이가 있었으나($p<0.05$, $p=0.0018$), 정상 대조군과 무전조편두통 환자군 사이에서는 차이가 없게 나타났으며($p=0.051$), 정상 대조군과 전조편두통 환자군을 비교하였을 때도 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p=0.34$) (Table 2).

고 찰

본 연구에서는 DRD4 대립유전자의 빈도가 전조편두통 환자군(MWA)과 무전조편두통 환자군(MOA), 그리고 정상 대조군과 무전조편두통 환자군(MOA)이 통계적으로 의미있게 차이가 있었다. 또한 정상 대조군과 전조편두통 환자군(MWA)과 무전조편두통 환자군(MOA) 모두에서 4번 대립유전자의 빈도가 증가되어 있었으며, 무전조편두통 환자군(MOA) 전조편두통 환자군과 정상 대조군에 비해 2번과 7번의 대립유전자의 빈도가 현저하게 감소되어 있었다. 한편, 무전조편두통 환자군에서 4번 대립유전자의 빈도의 증가는 유럽에서의 연구(84.7%)와 비교할 때 거의 차이가 없었으며, 2번과 7번 대립유전자의 빈도의 감소 역시 크게 차이가 없었다.¹² 이러한 결과들은 무전조편두통이 DRD4 유전자와 관련이 있음을 시사한다. 비록 유럽 연구와 비교하여 정상 대조군에서 6번 대립유전자가 관찰되지 않은 것과 2번 대립유전자가 7번 대립유전자보다 더 흔하게 나타난 점, 무전조편두통에서 2번 대립유전자보다 7번 대립유전자가 더 흔하게 나타난 점은 이전의 연구와 달랐지만,¹² 정상 대조군과 전조편두통 환자

Table 1. Allelic frequencies of the polymorphism at the D4 dopamine receptor gene (DRD4) in normal controls and migraine patients.

Values are number(percentage) of chromosomes tested

Allele number	Controls (n=200)	MWA (n=142)	MOA (n=158)
2	32(16.0%)	20(14.1%)	8(5.0%)
3	9(4.5%)	7(4.9%)	5(3.2%)
4	133(66.5%)	94(66.1%)	133(84.2%)
5	5(2.5%)	2(1.5%)	0(0.0%)
7	21(10.5%)	19(12.4%)	12(7.6%)

MWA: migraine with aura, MOA: migraine without aura

Table 2. Genotype frequencies of the DRD4 polymorphism in healthy controls and migraine patients.

Values are number(percentage) of subjects tested

Genotype	Controls(n=100)	MWA(n=71)	MOA(n=79)
44	48(48.0%)	33(46.4%)	56(70.8%)
45	5(5.0%)	2(2.8%)	0(0.0%)
47	11(11.0%)	9(12.6%)	8(10.1%)
34	7(7.0%)	6(8.4%)	5(6.4%)
24	14(14.0%)	11(15.4%)	8(10.1%)
77	3(3.0%)	4(5.7%)	2(2.6%)
27	2(2.0%)	1(1.5%)	0(0.0%)
22	8(8.0%)	4(5.7%)	0(0.0%)
37	2(2.0%)	1(1.5%)	0(0.0%)

MWA: migraine with aura, MOA: migraine without aura

군 그리고 무전조편두통 환자군에서 4번 대립유전자의 빈도가 매우 높으며, 무전조편두통군과 나머지 군들의 4번 대립유전자의 차이가 크기 때문에 다른 대립유전자가 전체 결과에 미치는 정도는 미약 할 것으로 생각된다. 그러나 클로자핀(clozapine)과 같은 항정신성 약물의 경우 DRD4의 대립유전자의 길이가 길수록, 수용체의 친화도가 증가되어 약물의 효과가 더 크게 나타났다는 보고가 있으며, 이는 수용체의 종류나 상태에 따라 임상 증상이 달라질 수 있고, 나아가 병태생리도 차이가 날 수 있음을 의미한다.^{14,15} 따라서 비록 2번과 7번 대립유전자의 빈도의 자체가 작고, 유럽 연구와 큰 차이는 없었지만, 한국인 편두통 환자의 병태 생리가 서양환자들과 다를 가능성이 있으므로 추후 대립유전자의 길이와 편두통의 임상 증상과의 관련성에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 대립유전자의 표본수가 유럽의 연구보다 적기 때문에¹² 다른 결과가 나왔을 가능성도 완전히 배제할 수 없다.

유전자형의 빈도의 차이는 대립유전자의 빈도와는 달리 MOA와 MWA 사이에서만 유의한 차이를 보였으며, 유럽의 연구와 차이가 없었다.¹² 그러나 정상 대조군과 MOA를 비교한 p 값이 0.051로 비록 통계적으로는 의미가 없었으나, 4/4유전자형의 빈도가 MOA에서 훨씬 높은 것으로 미루어 4번 대립유전자가 MOA와 연관이 있을 가능성은 충분히 있어 보인다.

지금까지 연구자들은 전조편두통과 무전조편두통이 서로 다른 기전을 가질 가능성이 있음을 제시했다.¹⁶⁻¹⁸ Seo 등은¹⁶ 편두통 환자군과 정상 대조군에서 MTHFR C677T 유전자 다형성 및 혈중 호모시스테인 농도의 상관관계를 연구하여 전조편두통 환자와 무전조 편두통이 서로 다른 병인을 가질 것이라고 주장하였고, 가족 연구를 통한 또 다른 조사에서는 전조편두통과 무전조편두통이 서로 다른 원인에 의해 발생할 수 있는 가능성을 제시하였는데,¹⁹ 본 연구에서도 DRD4 유전자의 다형태와 유전자형의 분명한 빈도의 차이가 MOA와 MWA 환자군 사이에 관찰되었으며, 이러한 결과는 전조편두통과 무전조편두통이 서로 다른 유전적인 병태 생리를 가질 가능성을 시사한다.

저자들은 편두통 환자에서 DRD4 유전자의 다형성에 대하여 알아보았으며, 유럽의 연구 결과와 큰 차이가 없음을 확인하였다. 또한 DRD4 유전자 중 4번 대립유전자가 무전조편두통과 연관이 있을 가능성과 전조편두통과 무전조편두통이 서로 다른 유전적인 병인을 가지는 질환일 가능성을 제시하였다. 한편 본 연구는 정상 대조군 및 편두통 환자군의 설정에 있어 지역과 상황에 제약이 있는 병원기반 환자대조군

연구였으며, 연구에 포함시킨 표본수가 유럽의 연구보다 적었기 때문에 비록 결과가 크게 다르지 않았으나, 오차가 발생했을 가능성이 충분히 있다고 생각된다. 따라서 추후 전향적 연구 등을 통해 보다 다수의 환자와 광범위한 지역을 대상으로 한 조사가 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. JK Roh, JS Kim, YO Ahn. Epidemiological and clinical characteristics of migraine in Korea. *J Korean Neurol Assoc* 1997;15:1-18.
2. Lipton RB, Hamelsky SW, Kolodner KB, Steiner TJ, Stewart WF. Migraine, quality of life, and depression: A population-based case-control study. *Neurology* 2000;55:629-35.
3. Terwindt GN, Ferrari MD, Tijhuis M, Groenen SM, Picaudet HS, Launer LJ. The impact of migraine in quality of life in the general population: the GEM study. *Neurology* 2000;55:624-9.
4. Graham JR. Migraine headache: Diagnosis and management. *Headache* 1979;19:133-41.
5. Camp WA, Wolff HG. Studies on headache. Electroencephalograph abnormalities in patients with vascular headache of the migraine type. *Arch Neurol* 1961;4:475-85.
6. Moskowitz MA, Macfarlane R. Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1993;5:159-77.
7. Ophoff RA, van Eijk R, Sandkuijl LA, Terwindt GM, Grubben CP, Haan J, et al. Genetic heterogeneity of familial hemiplegic migraine. *Genomics* 1994;22:21-6.
8. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefmer PJ, Hoffman SM, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996;87:543-52.
9. Peroutka SJ. Dopamine and migraine. *Neurology* 1997;49:1-6.
10. Peroutka SJ, Wilhoit T, Jones K. Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Neurology* 1997;49:201-6.
11. Lea RA, Dohy A, Jordan K, Quinlan S, Brimage PJ, Griffiths LR. Evidence for allelic association of the dopamine beta-hydroxylase gene (DBH) with susceptibility to typical migraine. *Neurogenetics* 2000;3:35-40.
12. Mochi M, Cevoli S, Cortelli P, Pierangeli G, Soriani S, Scapoli C, et al. A genetic association study of migraine with dopamine receptor 4, dopamine transporter and dopamine-

- beta-hydroxylase genes. *Neurol Sci* 2003;23:301-5.
13. Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgia, and facial pain. *Cephalalgia* 1988; 7:1-96.
 14. Van Tol HHM, Wu CM, Guan HC, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, et al. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 1992;358:149-52.
 15. Shaikh S, Collier D, Kerwin RW, Pilowsky LS, Gill M, Xu WM, et al. Dopamine D4 receptor subtypes and response to clozapine. *Lancet* 1993;341:116-9.
 16. Del Zompo M, Cherchi A, Palmas MA, Ponti M, Bocchetta A, Gessa GL, et al. Association between dopamine receptor genes and migraine without aura in a Sardinian sample. *Neurology* 1998;51:781-6.
 17. Peroutka SJ, Wilhoit T, Jones K. Clinical susceptibility to migraine with aura is modified by dopamine D2 receptor (DRD2) NcoI alleles. *Neurology* 1997;49:201-6.
 18. Seo JH, Kim HJ, Lee IH, Kim OJ, Choi BO. Association between migraine with aura and both homocysteine and MTHFR C677T Polymorphism. *J Korean Neurol Assoc* 2004; 22:200-5.
 19. Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine. *BMJ* 1995;311:541-4.