

건강한 성인 및 과민성 장 증후군 환자에서 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성

연세대학교 의과대학 내과학교실, 신경과학교실*

이덕용 · 박효진 · 김원호 · 이상인 · 서윤주 · 최영철*

Serotonin Transporter Gene Polymorphism in Healthy Adults and Patients with Irritable Bowel Syndrome

Dok Yong Lee, M.D., Hyojin Park, M.D., Won Ho Kim, M.D., Sang In Lee, M.D., Youn Ju Seo, and Young Chul Choi, M.D.*

Departments of Internal Medicine and Neurology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background/Aims: Serotonin is thought to be an important neurotransmitter in the pathogenesis of irritable bowel syndrome (IBS). It is reported that functional polymorphism in the promotor region of the serotonin transporter gene is related with the subtypes of IBS and shows racial difference. However, a functional relation between polymorphism and IBS is not clear. The aim of this study was to investigate 5-hydroxytryptamine transporter (5-HTT) gene polymorphism in patients with IBS. **Methods:** For fifty-six healthy controls and 33 patients with IBS fulfilling Rome II criteria, 5'-flank promotor region of 5-HTT gene was analyzed by polymerase chain reaction. **Results:** The genotypes of healthy controls were S/S (57.1%), S/L (37.5%), and L/L (5.4%). Those of IBS patients were S/S (54.5%), S/L (36.4%), and L/L (9.1%). IBS patients were divided into three groups: diarrhea predominant (n=15; S/S, 40%; S/L, 53.3%; L/L, 6.7%), constipation predominant (n=12; S/S, 75.0%; S/L, 8.3%; L/L, 16.7%), diarrhea-constipation alternating type (n=6; S/S, 50%; S/L, 50%). There was no statistical difference in the 5-HTT gene polymorphism between patients and controls, and according to the subtypes of IBS patients ($p=0.135$). **Conclusions:** There was no relationship between serotonin transporter gene polymorphism and IBS. However, allele S/S genotype was most prominent genotype in both controls and patients.

(Korean J Gastroenterol 2004;43:18-22)

Key Words: Serotonin; Serotonin transporter; Irritable bowel syndrome

서 론

과민성 장 증후군은 복부 통증 및 불편감 그리고 배변 습관의 변화가 있으나 구조적 또는 생화학적 이상이 없는

것이 특징이며 기능성 소화불량과 함께 가장 흔한 기능성 위장관 질환으로 성인의 약 15%에서 발생한다.¹

과민성 장 증후군의 발병의 원인으로 장 운동성의 변화, 내장의 과민성, 정신 사회적 요인, 신경전달물질의 불균형,

접수: 2003년 8월 22일, 승인: 2003년 12월 24일

연락처: 박효진, 135-270, 서울 강남구 도곡동 146-92
연세대학교 의과대학 내과학교실, 영동세브란스병원
Tel: (02) 3497-3318, Fax: (02) 3463-3882
E-mail: HJPARK21@yumc.yonsei.ac.kr

Correspondence to: Hyojin Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Yongdong Severance Hospital
146-92 Dogok-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-270, Korea
Tel: +82-2-3497-3318, Fax: +82-2-3463-3882
E-mail: HJPARK21@yumc.yonsei.ac.kr

감염 또는 염증 등이 관여할 것으로 생각되고 있으나 어느 한 가지의 원인으로 설명되지 않으며 정확한 기전은 알려져 있지 않다. 최근에는 신경전달물질 중 세로토닌이 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다.^{1,2}

세로토닌은 뇌, 비만세포, 혈소판, 소화기계 등에 광범위하게 분포하고 있으나 이 중 95%가 소화기계에 존재하며 장크롬친화성 세포에서 분비되어서 구심성 미주신경 섬유와 내인성 구심성 장신경 섬유를 자극하고 장관 분비와 연동 반사를 일으켜서 오심, 구토, 상복부 통증, 복부 팽만감 등의 증세를 일으킨다.³

과민성 장 증후군 환자와 세로토닌 농도와의 관계에 대한 연구에서 혈중의 세로토닌 농도는 주로 장관 내에 있는 세로토닌의 농도에 영향을 받으며 설사 우세형의 과민성 장 증후군 환자에 있어서 정상인에 비해서 식후에 혈중 세로토닌 농도가 상승한다.⁴

세로토닌은 신경절에서 세로토닌 수송 단백질(5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT, serotonin transporter, SERT)에 의해서 제거된다.² 세로토닌 수송 단백질 유전자에는 2개의 다형성 부위가 있으며 하나는 두 번째 intron에 위치하고 17 염기쌍이 반복으로 이루어진 variable number tandem repeats (VNTRs)이며 다른 하나는 5'-flanking 조절 부위에서 일정한 반복적인 염기서열의 삽입과 삭제에 의해 short (S)과 long (L)의 유전자를 형성하는 SERT gene-linked polymorphic region (5-HTTLPR)이다.⁵ 이 세로토닌 수송 단백질과 관련된 연구는 주로 중추신경계 분야에서 이루어져 왔는데 강박 장애 환자의 경우에 혈중 세로토닌 농도가 5-HTTLPR의 L/L 유전자형과 L/S 유전자형이 S/S 유전자형인 환자에 비해 유의하게 높으며⁶ 두통과 우울증, 강박 장애, 양극성 정서 장애가 세로토닌 수송 단백질의 유전자형과 연관되어 있다.^{7,9}

세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성과 과민성 장 증후군의 연관에 대한 연구에서 VNTRs와 5-HTTLPR은 정상 대조군과 과민성 장 증후군 간에는 유의한 차이가 없었으나 과민성 장 증후군 내에서는 5-HTTLPR의 경우 S/S 유전자형은 변비 우세형과, S/L 유전자형은 설사 우세형과 관련이 있다.¹⁰

5-HTTLPR의 경우에 인종에 따른 차이가 있으나^{11,12} 국내 보고는 드문 실정이다. 이에 한국인에 있어서 5-HTTLPR의 다형성과 과민성 장 증후군과의 연관성에 대해서 중합효소연쇄반응을 통하여 5-HTTLPR 유전자의 다형성을 조사하여 연관성의 유무에 대해서 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1) 건강 대조군

건강검진센터를 내원한 수진자를 대상으로 하였다. 문진과 기본검사를 통하여 기질적인 질환을 가지고 있거나 과민성 장 증후군의 기왕력을 가지고 약물을 복용한 과거력이 있는 사람들은 제외하였다. 건강 대조군은 56명(남자 37명, 여자 19명)이었으며 나이는 47.6±11.0세였다.

2) 과민성 장 증후군 환자군

영동세브란스병원 소화기내과 외래에 내원한 기능성 장 질환 환자들에서 병력과 기본검사를 시행하였다. 환자들이 이전에 장염을 앓았거나 간질 등의 신경학 질환이나 내분비 질환 등이 없는지 확인하였다. 또한, 하제나 지사제 등을 남용한 경우와 종양 등의 기질적인 질환이 있는 경우는 제외하였다. 설문지를 통하여 로마기준 II에¹³ 합당한지의 여부와 과민성 장 증후군의 아형을 결정하였다. 과민성 장 증후군 환자는 모두 33명(남자 19명, 여자 14명)이었으며 나이는 44.8±15.1세였다.

2. 방법

1) 유전자형 분석

정맥혈을 3 mL 채혈한 후 유전자 DNA를 분리하였다. 유전자 DNA 분리에는 genomic DNA purification kit인 QIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen, Valencia, CA, U.S.A.)을 사용하였다. 분리된 후에 유전자형 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다.¹⁴ 분리된 genomic DNA 3 µg, 34.6 nM 시발체 (forward 19.7 nM, backward 14.9 nM)를 0.1 mM dNTP, 10 mM tris · HCl (pH 9.0), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂가 미리 포함된 PCR Premix (BIONEER, Taegeon, Korea)를 이용하여 중합효소연쇄반응 반응물을 만들었다. 중합효소연쇄반응은 predenature 94°C 5분 1회, 94°C 30초, 61°C 30초, 72°C 60초에서 30회, 72°C에서 7분 간 post-elongation을 한 후에 4°C를 유지하였다. 증폭된 중합효소연쇄반응 생성물은 100 base pair (bp) ladder를 표지자로 사용하여 2.5% agarose gel에서 14, 16 repeat가 들어 있는 band들을 비교하여 확인하였다. 사용된 시발체는 stpr5; 5'-GGCGTTGCCGCTCT-GAATGC와 stpr3; 5'-GAG GGACTGAGCTGGACAACCAC였다.¹⁵

2) 자료 분석

Fisher's exact test를 사용하여 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성이 과민성 장 증후군과 건강 대조군에서 차이가 있는지와 과민성 장 증후군의 각 아형에서 차이가 있는지에 대해서 분석을 하였다. p값이 0.05 미만일 경우 통

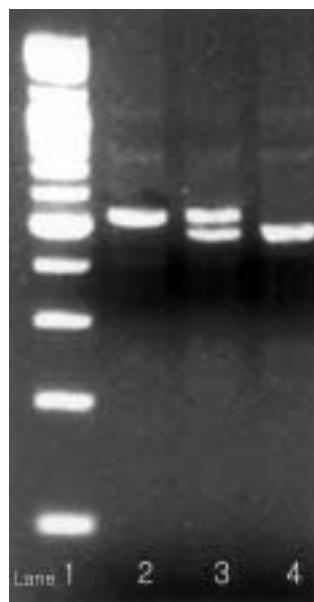


Fig. 1. Genotyping of 5-hydroxytryptamine transporter gene-linked polymorphic region polymorphism by gel electrophoresis. Lane 1, 100 bp sizing ladder; 2, L/L homozygote (528 bp, 16 repeat); 3, S/L heterozygote (484 bp, 14 repeat; 528 bp, 16 repeat); 4, S/S homozygote (484 bp, 14 repeat).

Table 1. Polymorphism of the 5-hydroxytryptamine Transporter Gene-linked Polymorphic Region in the Serotonin Transporter Gene

Genotype	Control (n=56)	IBS (n=33)
S/S	32 (57.1%)	18 (54.5%)
S/L	21 (37.5%)	12 (36.4%)
L/L	3 (5.4%)	3 (9.1%)

IBS, Irritable Bowel Syndrome.

Table 2. Polymorphism of the 5-hydroxytryptamine Transporter Gene-linked Polymorphic Region in the Serotonin Transporter Gene in IBS Patients According to Their Subtypes

Genotype	Diarrhea predominant (n=15)	Constipation predominant (n=12)	Diarrhea-constipation alternating type (n=6)
S/S	6 (40.0%)	9 (75.0%)	3 (50%)
S/L	8 (53.3%)	1 (8.3%)	3 (50%)
L/L	1 (6.7%)	2 (16.7%)	-

계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

종합효소연쇄반응에 의한 유전자형 분석에 의한 S/S형, S/L형, L/L형의 결과는 Fig. 1과 같다.

1. 건강 대조군 및 과민성 장 증후군 환자의 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성

건강 대조군에서 세로토닌 수송 단백질 유전자의 조절 부위에 위치한 5-HTTLPR 유전자형의 빈도는 S/S, S/L, L/L의 경우 각각 32명(57.1%), 21명(37.5%), 3명(5.4%)이었으며 과민성 장 증후군 환자에서는 S/S, S/L, L/L의 경우 각각 18명(54.5%), 12명(36.4%), 3명(9.1%)으로 양군 모두 S/S가 가장 많았다. 그러나 양군 간에 유전자형의 빈도의 차이는 없었다($p=0.794$)(Table 1).

2. 과민성 장 증후군 환자의 아형에 따른 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성

과민성 장 증후군 환자에서 각 아형에 따른 빈도는 설사 우세형 15명(45.5%), 변비 우세형 12명(36.4%), 설사와 변비 교대형 6명(18.1%)이었다. 아형에 따른 유전자형 빈도는 설사 우세형의 경우에 S/S, S/L, L/L은 6명(40.0%), 8명(53.3%), 1명(6.7%)이었으며 변비 우세형의 경우 S/S, S/L, L/L은 9명(75.0%), 1명(8.3%), 2명(16.7%)이었으며 설사와 변비 교대형의 경우 S/S, S/L의 경우 3명(50.0%), 3명(50.0%)이었다. 과민성 장 증후군의 아형에 따른 빈도의 차이는 없었다($p=0.135$)(Table 2).

고 찰

세로토닌은 세로토닌 수송 단백질에 의해서 전신경절 신경세포로 흡수됨으로써 신경절에서의 농도가 조절된다. 세로토닌 수송 단백질 유전자 중 다형성 부위인 VNTRs의 기능은 자세히 알려져 있지 않으나 5-HTTLPR은 세로토닌 수송 단백질 유전자의 발현에 관여하는 것으로 알려져 있다.^{5,16} 5-HTTLPR 중 S형은 세로토닌 수송 단백질 유전자의 전사 능력이 감소되어 있고 신경절에서 세로토닌을 재흡수하는 능력이 저하되어 있어 L형보다 세로토닌의 작용 시간이 증가된다.⁵ 혈소판에서 세로토닌의 흡수 능력이 5-HTTLPR의 L형이 S형보다 증가되어, 5-HTTLPR 다형성이 기능적인 측면과 연관되어 있다는 사실을 알 수 있다.¹⁶

인종에 따른 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성의 차이를 조사한 연구에서, 일본인은 S형이 80%로, 유럽계 미국인의 경우인 40%보다 S형이 L형보다 높은 빈도로 분포하며, 비록 적은 빈도이긴 하나 14, 16 repeat보다 삽입 부위가 늘어난 18, 20, 22 repeat가 3%에서 관찰된다.¹¹ 중국인과 다른 인종을 비교하였을 때 S형이 70%로 중국인에서 높은 빈도로 나타났다.¹⁷ 본 연구에서는 S형이나 L형 이외의 유전자형은 관찰되지 않았으며 S형이 건강 대조군에서 68%, 과민성 장 증후군 환자에서 73%의 높은 빈도로

관찰되었다. 앞으로 이러한 인종에 따른 차이와 기능적 차이에 대한 연구가 필요할 것이다.

본 연구에서는 과민성 장 증후군과 건강 대조군에서 세로토닌 수송 단백질 유전자 다형성은 통계적으로 차이가 없었다. 과민성 장 증후군 환자 54명과 정상 대조군 91명을 대상으로 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성을 조사한 터키의 연구에서 대조군에서는 5-HTTLPR의 S/S형이 가장 많이 분포하였고 과민성 장 증후군 환자에서는 S/L형이 가장 많이 분포하였다.¹⁰ 이 연구에서는 두 군 간의 분포의 차이의 통계적 의의는 없었다. 과민성 장 증후군 환자의 경우를 설사 우세형, 변비 우세형, 설사와 변비의 교대형으로 나누었을 때 변비 우세형의 경우에 S/S형이 설사 우세형이나 설사와 변비의 교대형보다 많은 빈도로 분포하였다. 설사 우세형에서는 S/L형이 변비 우세형이나 정상 대조군보다 더 많은 분포를 보여 S/S형은 설사에 대한 방어 인자로 작용한다고 추정하였다. 이와 유사하게 세로토닌 수송 단백질이 발현되는 정상적인 배변 형태의 백서에 비하여 발현되지 않는 백서의 경우에 배변 형태가 처음에는 설사가 나타나고 나중에는 변비의 양상으로 변한다.¹⁸ 이것은 신경 절에서 지속적인 세로토닌 노출이 세로토닌 수용체를 하향 조절하고 세로토닌의 작용을 감소시키기 때문일 것으로 생각된다. 본 연구에서는 과민성 장 증후군의 환자의 아형에 따른 유전자형의 분포는 통계적으로 차이가 없었다. 하지만 각 아형의 분포는 이전의 연구 결과와 같이 변비 우세형에서는 S/S형이 가장 많았으며 설사 우세형에서는 S/L형이 분포가 높았다. 앞으로 보다 많은 증례를 통한 검증이 필요하다고 생각된다.

건강 대조군과 과민성 장 증후군 환자의 차이에 대해서 5-HTTLPR와 연관이 없다면 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다른 조절 부위가 실제적인 차이를 있게 하는 것으로 생각해 볼 수도 있다. 다형성 부위와 전사가 시작되는 부위 사이에 381염기의 삽입 부위가 새로운 유전적 다양성을 보이는 부위로 보고되며 이곳은 전사에 관계되는 인자가 부착되는 곳으로 세로토닌 수송 단백질 유전자에 대한 반응을 조절하는 곳으로 생각되고 있다.¹⁹ 앞으로 이러한 새로운 부위와 실제적인 임상 양상과의 연관성에 대한 분석도 필요할 것이다.

과민성 장 증후군에서 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성에 따른 약제치료 반응의 연구에서²⁰ 23명의 설사 우세형 과민성 장 증후군 환자에서 5-HT₃ 수용체 길항제인 alosetron이 대장통과시간에 미치는 영향을 관찰한 결과 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성은 대장통과시간과 연관이 있었으며 L/L형의 경우에 S/L형과 비교하여 통과를 지연시킨다. 이것은 세로토닌 수송 단백질 유전자 L형의 경우에 세로토닌 신경절 농도가 낮고 길항제에 의해서 경

쟁적으로 억제되고 있기 때문이라고 생각된다.

우울증 치료에 사용되는 선택적 세로토닌 재흡수 차단제는 세로토닌의 재흡수를 차단하여 소장의 운동성을 증가시킨다.²¹ 과민성 장 증후군을 포함한 기능적 장 질환에서 항우울제는 효과가 있으며²² 앞으로의 연구들은 이러한 약제들에 대한 치료 반응과 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성과의 연관성에 대해서 이루어져야 할 것이다.

요 약

목적: 과민성 장 증후군의 발병 원인으로 최근에는 신경 전달물질 중 세로토닌이 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 세로토닌이 과민성 장 증후군의 병태생리에 관여하며 세로토닌 수송 단백질 유전자형이 과민성 장 증후군의 아형과 관련이 있고 인종에 따른 차이가 보고되고 있으나 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서는 한국인에서 세로토닌 수송 단백질의 유전자형과 과민성 장 증후군과의 연관 관계를 규명하고자 하였다. **대상 및 방법:** 건강한 성인 56명과 외래에 내원한 로마기준 II에 합당한 과민성 장 증후군 환자 33명을 대상으로 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성을 중합효소연쇄반응을 이용하여 측정하였다. **결과:** 건강한 성인에서의 S/S, S/L, L/L 유전자형은 각각 32명(57.1%), 21명(37.5%), 3명(5.4%)이었으며, 과민성 장 증후군 환자에서는 각각 18명(54.5%), 12명(36.4%), 3명(9.1%)이었다. 과민성 장 증후군 환자에서 설사 우세형, 변비 우세형, 그리고 설사와 변비의 교대형은 각각 15명, 12명, 6명이었으며, 아형에 따른 유전자형은 설사 우세형의 경우 S/S, S/L, L/L 유전자형은 각각 6명(40%), 8명(53.3%), 1명(6.7%)이었고, 변비 우세형의 경우 S/S, S/L, L/L 유전자형은 각각 9명(75.0%), 1명(8.3%), 2명(16.7%)이었으며, 설사와 변비의 교대형의 경우 S/S, S/L 유전자형은 각각 3명(50%), 3명(50%)이었다. 건강한 성인과 과민성 장 증후군 환자에 있어서 세로토닌 수송 단백질의 유전자형의 차이는 없었으며($p=0.794$) 과민성 장 증후군의 아형에 따른 세로토닌 수송 단백질의 유전자형의 차이도 없었다($p=0.135$). **결론:** 세로토닌 수송 단백질 유전자의 다형성과 과민성 장 증후군과의 연관성은 없었다. 그러나, 건강한 성인 및 과민성 장 증후군 환자에서 세로토닌 수송 단백질 유전자 조절 부위의 유전자형 분포는 S/S 유전자형이 다른 아형보다 많았다.

색인단어: 세로토닌, 세로토닌 수송 단백질, 과민성 장 증후군

참 고 문 헌

1. Horwitz BJ, Fisher RS. The irritable bowel syndrome. N Engl

- J Med 2001;344:1846-1850.
2. Kim DY, Camilleri M. Serotonin: a mediator of the brain-gut connection. Am J Gastroenterol 2000;95:2698-2709.
 3. Gershon MD. Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel. Aliment Pharmacol Ther 1999;13(suppl 2):S15-S30.
 4. Beacroft CP, Perrett D, Farthing MJ. Postprandial plasma 5-hydroxy- tryptamine in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: a pilot study. Gut 1998;42:42-46.
 5. Lesch KP, Bengel D, Heils A, et al. Association of anxiety related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. Science 1996;274:1527-1531.
 6. Hanna GL, Himle JA, Curtis GC, et al. Serotonin transporter and seasonal variation in blood serotonin in families with obsessive-compulsive disorder. Neuropsychopharmacology 1998;18:102-111.
 7. Ogilvie AD, Russell MB, Dhall P, et al. Altered allelic distribution of the serotonin transporter gene in migraine without aura and migraine with aura. Cephalgia 1998;18: 23-26.
 8. Lim SW, Sohn SE, Kim DK, Kim EY. Serotonin transporter gene polymorphism and major depression. J Korean Neuropsychiatr Assoc 2000;39:199-207.
 9. Mellerup E, Bennike B, Bolwing T, et al. Platelet serotonin transporters and the transporter gene in control subjects, unipolar patients and bipolar patients. Acta Psychiatr Scand 2001;103:229-233.
 10. Pata C, Erdal ME, Derici E, Yazar A, Kanik A, Ulu O. Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol 2002;97:1780-1784.
 11. Gelernter J, Kranzler H, Cubells JF. Serotonin transporter protein (SLC6A4) allele and haplotype frequencies and linkage disequilibria in African and European American and Japanese population and in alcohol dependent subjects. Hum Genet 1997;101:243-246.
 12. Murakami F, Shimomura T, Kotani K, Ikawa S, Nanba E, Adachi K. Anxiety traits associated with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region in the Japanese. J Hum Genet 1999;44:15-17.
 13. Thompson WG, Longstreth GF, Grossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Muller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. Gut 1999;45(suppl 2):II43-II47.
 14. Smith CA, Gough AC, Leigh PN, et al. Debrisoquine hydroxylase gene polymorphism and susceptibility to Parkinson's disease. Lancet 1992;339:1375-1377.
 15. Heils A, Teufel A, Petri S, et al. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. J Neurochem 1996;66: 2621-2624.
 16. Greenberg BD, Tolliver TJ, Huang SJ, Li Q, Bengel D, Murphy DL. Genetic variation in the serotonin transporter promoter region affects serotonin uptake in human blood platelets. Am J Med Genet 1999;88:83-87.
 17. Gelernter J, Cubells JF, Kidd JR, Pakstis AJ, Kidd KK. Population studies of polymorphisms of the serotonin transporter protein gene. Am J Med Genet 1999;88:61-66.
 18. Chen JJ, Li Z, Pan H, et al. Maintenance of serotonin in the intestinal mucosa and ganglia of mice that lack the high-affinity serotonin transporter: Abnormal intestinal motility and the expression of cation transporters. J Neurosci 2001;21: 6348-6361.
 19. Flattem NL, Blakely RD. Modified structure of the human serotonin transporter promoter. Mol Psychiatry 2000;5:110-115.
 20. Camilleri M, Atanasova E, Carlson PJ, et al. Serotonin-transporter polymorphism pharmacogenetics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Gastroenterology 2002; 123:425-432.
 21. Gorard DA, Libby GW, Farthing MJ. 5-Hydroxytryptamine and human small intestinal motility: effect of inhibiting 5-hydroxytryptamine reuptake. Gut 1994;35:496-500.
 22. Jackson JL, O'Malley PG, Tomkins G, Balden E, Santoro J, Kroenke K. Treatment of functional gastrointestinal disorders with antidepressant medications: a meta-analysis. Am J Med 2000;108:65-72.