한국인의 주의력결핍과잉행동장애와 SNAP-25 유전자 다형성의 연관성

연세대학교 대학원
의 학 과
최 태 규

한국인의 주의력결핍과잉행동장애와 SNAP-25 유전자 다형성의 연관성

지도교수 이 홍 식

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2005년 12월 일

연세대학교 대학원
의 학 과
최 태 규

최태규의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2005 년 12월 일

감사의 글

이 논문이 완성되기까지 많은 가르침을 주신 이홍식 교수님께 먼저 진심으로 감사를 올립니다.

그리고 이 논문이 완성되기까지 지도하여 주신 약리학교실의 김동구 교수님, 정신과학교실의 김찬형 교수님, 생리학교실의 김정훈 교수님, 정신과학교실의 신의진 교수님께도 깊은 감사를 올립니다.

연구과정에서 많은 도움을 주신 정신과학교실의 송동호 교수님, 전북의대의 박태원 교수님, 포천중문의대의 서신영 교수님, 육기환 교수님, 이상혁 교수님께도 깊은 감사를 올립니다.

끝으로 오늘날까지 끊임없이 사랑과 격려를 주신 부모님, 아내 주희, 딸 서영이와 함께 논문완성의 기쁨을 나누고 싶습니다.

저 자 씀

<차례>

그림 및 표 차례
국문요약 ····· 1
Ⅰ. 서론 ····· 3
II. 재료 및 방법 ····· 7
1. 연구대상 ····· 7
가. 환자군 선정 ····· 7
(1) 검사도구 ····· 7
(가) K-SADS-PL-K ····· 7
(나) 코너스 부모용 단축 평정척도 ····· 7
(다) 한국판 웩슬러 아동지능검사 ····· 7
(라) 주의력장애 진단시스템 ····· 8
(2) 환자군 선정과정 ····· 8
(3) 제외기준 ····· 8
나. 대조군 선정 ····· 8
(1) 부모설문조사 ····· 9
(2) 제외기준 ····· 9
다. 최종 환자-대조군 선정 ····· 9
2. 연구방법 ····· 9
가. 유전자 분석 ····· 9
(1) 혈액 채취 및 유전자 분리 ····· 9
(2) SNAP-25 유전자 분석 ····· 10
(가) Genotyping ····· 10
(나) PCR ····· 10
(다) Homogeneous MassEXTEND ····· 10
나. 자료 분석 ····· 11

III. 결과 ····· 12
1. 연구대상의 특징 ····· 12
2. 환자군과 대조군의 SNAP-25 유전자형 및 대립형질의 빈도 비교 ····· 12
IV. 고찰 ····· 14
V. 결론 ····· 18
참고문헌 ····· 19
영문요약 ····· 26

표 차례

표 1. Demographic data in patients and controls·····12

표 2. Genotype and allele frequency of SNAP-25 gene polymorphism(1065T/G, *Mn*Ⅱ) in attention deficit hyperactivity disorder patients and controls·····13

국문요약

한국인의 주의력결핍과잉행동장애와
SNAP-25 유전자 다형성의 연관성

연구목적: 주의력결핍과잉행동장애는 가장 흔한 소아정신질환의 하나로 학동기 아동의 5-10%에서 발생한다. 비록 이 장애의 생물학적 원인이 정확하게 밝혀지지는 않았으나 쌍둥이연구와 가족연구의 결과에서 볼 때 주의력결핍과잉행동장애가 여러 유전자와 관련된 유전적 요인을 가지고 있음을 알 수 있다.

그 중 시냅스에서 세포막과 신경전달물질을 가지고 있는 소낭과의 융합을 매개하는 단백질인 SNAP-25(synaptosomal-associated protein of 25 kDa)의 유전자가 주의력결핍과잉행동장애의 원인 유전자 중 하나로 연구되고 있다. 이는 방사선으로 이 유전자를 파괴한 실험용 쥐인 coloboma에서 자발적 과잉행동이 유발되었으며 이것이 주의력결핍과잉행동장애 치료제인 덱스트로암페타민에 의하여 좋아진 사실에 근거한다. SNAP-25유전자 내부나 근처의 유전자 변이가 시냅스에서 세포막과 소낭의 융합을 매개하는 단백질의 기능에 영향을 미쳐 신경전달물질의 분비에 영향을 줄 수 있다.

본 연구는 한국인에서 SNAP-25 유전자내에 이미 알려진 두개의 단일유전자다형성(*Mnl*Ⅰ, *Dde*I)과 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 알아보기 위하여 수행되었다.

연구방법: 본 연구에는 95명의 주의력결핍과잉행동장애 환자군과 102명의 정상 대조군이 참여하였다. 환자군과 대조군간의 SNAP-25유전자내의 두개의 단일유전자다형성(*Mnl*Ⅰ, *Dde*I)의 유전자형과 대립인자의 빈도를 비교하였다.

결과: 환자군과 대조군간에 SNAP-25유전자내의 *Mn*Ⅱ 단일유전자다형성의 유전자형(t/t, t/g, g/g)에서 유의미한 차이를 보였으며(p=0.008) t/t 유전자형과 주의력결핍과잉행동장애간의 유의한 연관성을 보였다(p=0.049). 그러나 또 하나의 단일유전자다형성인 *Dde*I 은 한국인에서 관찰되지 않았다.

결론: 본 연구의 결과는 한국인에서 주의력결핍과잉행동장애에 SNAP-25유전자의 연관성을 보여주었다. 본 연구의 제한점은 대상군의 수가 적다는 것이며 향후에 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다.

핵심되는 말 : 주의력결핍과잉행동장애, SNAP-25, 유전자다형성, 연합연구

한국인의 주의력결핍과잉행동장애와 SNAP-25 유전자 다형성의 연관성

<지도교수 **이 홍 식**>

연세대학교 대학원 의학과

최 태 규

Ⅰ. 서 론

주의력결핍과잉행동장애(ADHD)는 학동기 아동들의 5-10%에서 나타나는 가장 흔한 소아기 발병 정신장애로 남아에서 여아보다 3배가 많으며[1] 주증상은 과잉행동(hyperactivity), 부주의(inattention) 그리고 충동성(impulsivity)이다. 주의력결핍과잉행동장애는 품행장애(conduct disorder), 적대적반항장애(oppositional defiant disorder), 기분장애(mood disorder), 불안장애(anxiety disorder), 학습장애(learning disorder)등과 잘 동반되며[2-4] 중추신경자극제(stimulant)와 행동치료 등으로 적절하게 치료받지 않으면 성인기까지 지속되면서 사회적, 행동적 문제를 일으킬 수 있다.[2-4]

주의력결핍과잉행동장애의 정확한 원인은 밝혀지지 않았지만 유전적 요인이 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. 주의력결핍과잉행동장애는 쌍둥이 연구에서 유전율(heritability)이 60-90%로 보고 되어 소아정신질환 중 유전성향이 가장 높은 질환 중의 하나이며[5] 일차가족의 상대적 위험도(relative risk ratio)가 5-8, 이차가족의 상대적 위험도가 2-3이라는 보고와[6] 다른 가족연구나 양자연구에서도 유전적 성향을 강하게 시사한다.[7]

여러 가지 증상과 그 동반장애를 고려할 때 주의력결핍과잉행동장애의 발병에는 여러 가지 유전자가 관여하는 것으로 생각되며 이전의 쌍둥이 연구와 가족연구에서 이 장애의 유전적 다양성을 보고한 바 있다.[3,8]

주의력결핍과잉행동장애와 관련이 있을 것으로 생각되는 여러 가지 후보유전자가 있으며 주로 도파민계, 세로토닌계, 아드레날린계 조절 유전자에 대한 연구가 집중적으로 이루어졌다. 그중에서도 가장 활발하게 진행되고 있는 분야는 도파민계 조절 유전자에 대한 연구로 이는 주의력결핍과잉행동장애의 70% 이상에서 도파민의 분비를 증가시키는 중추신경자극제가 효과가 있다는 결과와 관련이 있다.[1] 또한 주의력결핍과잉행동장애 환자의 뇌영상 연구에서도 도파민계 신경망인 전전두엽-기저핵의 구조적, 기능적 이상이 비교적 일관되게 보고 되고 있다.[9] 현재까지 도파민계와 관련하여 연구가 진행되고 있는 후보유전자로는 도파민 생성효소인 tyrosine hydroxylase(TH)와 dopa decarboxylase(DD), 5가지 유형의 도파민 수용체(dopamine receptor: D1-D5), 도파민 분해요소인 monoamine oxidase(MAO)와 catechol-O-methyltransferase(COMT), 시냅스 내 도파민 재흡수 운반을 담당하는 도파민 수송체(dopamine transporter: DAT), 시냅스 내 도파민 분비에 작용하는 synaptosomal associated protein of 25kDa(SNAP-25), 도파민에서 노르아드레날린으로 전환되는 과정을 담당하는 효소인 dopamine-β-hydroxylase 이며 그중 최근 가장 많이 연구되고 있는 유전자는 dopamine transporter gene(DAT1),[10] dopamine receptor D2(DRD2),[11] dopamine receptor D4(DRD4),[12,13] catechol-O-methyltransferase(COMT)[14]이다. 그러나 DRD4[15-17]와 DAT1[18] COMT[19]와 주의력결핍과잉행동장애의 연관성을 찾지 못한 연구들도 있다.

SNAP-25(Synaptosomal-associated protein-25kDa)는 시냅스와 관련된 단백질로 그 분자량이 25킬로달톤(kDa)으로 이와 같이 명명되고 있으며 방사선으로 SNAP-25에 변형을 준 실험용 쥐인 coloboma에서 과잉행동이 나타나고 이것이 중추신경자극제인 덱스트로암페타민(dextroamphetamine)에 의해 조절되면서 SNAP-25와 주의력결핍과잉행동장애의 관련성이 부각되었다.[20,21] coloboma는 SNAP-25의 유전자 위치에 2센티몰간 (cM)의 결함(deletion)을 일으킨 돌연변이로 실제로

SNAP-25의 mRNA와 단백질형성에 어려움이 생겼고 이 colomoba에 SNAP-25 유전자를 삽입(insertion)해 주었더니 과잉행동이 감소함이 관찰되었다.[22] 이후 인간에서 SNAP-25 유전자가 위치하는 20번 염색체의 여러 표식자와 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성에 관한 연구가 진행되고 있다.

2000년 Barr등은 122명의 주의력결핍과잉행동장애 자녀를 가진 97 가족을 대상으로 SNAP-25 유전자의 비전사영역(untranslated region)에서 두개의 단일유전자다형성(single nucleotide polymorphism)을 발견하였는데(1065T/G, *Mnl*Ⅰ 와 1069T/C, *Dde*I) 이들은 3개의 염기서열거리로 떨어져 있었다. Barr등은 이들 두개의 단일유전자다형성의 대립인자와 haplotype 대립인자가 부모에서 자녀로 전달되는(transmission) 정도를 transmission disequilibrium test(TDT)를 이용하여 조사한 결과 TC haplotype 대립인자의 transmission이 유의하게 나타나서(χ^2=4.7, P=0.027) SNAP-25의 변이가 주의력결핍과잉행동장애 발병에 역할을 한다는 것을 보여주었다.[23] 2002년 Brophy등은 주의력결핍과잉행동장애 자녀를 가진 93 가족을 대상으로 haplotype relative risk와 TDT를 통해 SNAP-25유전자의 1069T/C(*Dde*l) 유전자다형성이 주의력결핍과잉행동장애 아동에게 유의하게 많이 전달됨을 보고하였고(HHRR에서 P=0.01, TDT에서 P=0.02)[24] 마찬가지로 2003년에 Kustanovich등은 이전의 barr와 같은 연구방법을 통해 주의력결핍과잉행동장애 자녀를 가진 126가족을 대상으로 TC haplotype이 아버지에게서 주의력결핍과잉행동장애 아동으로 유의하게 많이 전달됨을 보고하였다.[25] 가장 최근인 2004년 Mill등은 주의력결핍과잉행동장애 자녀를 가진 188가족을 대상으로 SNAP-25의 유전자상에 알려진 6개의 단일유전자다형성의 자녀로의 전달을 연구한 결과 아버지의 염색체에서 자녀로 대립인자의 전달이 유의하였음을 보고하였다.[26]

상이한 결과를 보고한 경우도 있는데 Hess[27] 등은 일차, 이차 가족 내에 3명이상의 주의력결핍과잉행동장애 환자가 있는 다섯 가족을 대상으로 SNAP-25유전자가 위치한 것으로 알려진 20p11-p12위치의 몇몇 표식자

와 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 분리분석을 통해 본 결과 연관성을 발견하지 못하였다고 보고한 바 있다. 그러나 이 연구의 제한점은 주의력결핍과잉행동장애의 유전자의 위치적 다양성을 고려할 때 다섯 가족으로는 판별력이 떨어질 수 있다는 점과 연구에 상염색체 우성 모델만 선택되었다는 점이다.

SNAP-25와 주의력결핍과잉행동장애간의 유전적 연관성을 연구한 연구는 소수에 불과하며 한국인은 물론 동양인을 대상으로 한 연구가 아직 없는 실정이다. 본 연구에서는 환자 대조군 연구를 통해 SNAP-25 유전자의 단일 유전자 다형성인 1065T/G(*Mnl*I) 와1069T/C(*Dde*I)이 한국인 주의력결핍과잉행동장애의 발병에 어떤 영향을 미치는지 알아보고자 한다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 연구대상

가. 환자군 선정

포천중문의대 분당차병원과 영동세브란스병원의 소아정신과 외래를 방문하여 주의력결핍과잉행동장애로 진단된 7세부터 16세 소아청소년을 대상으로 하여 다음과 같은 선정과정을 거쳤다.

(1) 검사도구

(가) 한국판 Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version(K-SADS-PL-K)

6-17세 소아청소년 환자와 부모를 대상으로 하는 반구조화된 면담도구로서 Kaufman 등[28]에 의해 신뢰도와 타당도 연구가 시행되었다. 주의력결핍 과잉행동장애를 포함한 소아청소년의 32개 정신과 질환에 대해 증상의 심각도와 이환 상태를 평가할 수 있으며 주의력결핍 과잉행동장애의 진단 및 아형구분에 사용할 수 있다. 국내에서는 Kim 등[29]에 의해 K-SADS-PL-K에 대한 타당도 및 신뢰도 연구가 시행되었는데, 주의력결핍 과잉행동장애, 틱장애, 적대적 반항장애 등에 대해서는 높은 신뢰도와 타당도를 보였다.

(나) 코너스 부모용 단축평정척도(Corner's rating scale for parents)

이는 충동성-과잉행동 요인으로 구성된 10개 문항으로 축약한 것으로 미국의 주의력결핍과잉행동장애 연구에서는 총 점수 15점을 주의력결핍과잉행동장애의 선정기준으로 삼고 있다. 국내에서의 연구에 의하면 초등학교 연령층에서 평균에 표준편차의 두 배를 가산한 수치는 16점으로 전체 남아의 5.7%, 여아의 2.7%가 이에 해당되었다.[30]

(다) 한국판 웩슬러 아동지능검사(Korean Educational Development Institute-Wechsler Intelligence Scale for Children: KEDI-WISC)

본 연구에서는 Scattler가[31] 제안했던 평가방법을 사용하였다. 이는 KEDI-WISC 지능검사의 하위 검사 중 토막짜기와 어휘문제로 전체지능을 추정하는 방법으로 언어성 검사에서는 어휘문제가 동작성 검사에서는 또막짜기 검사가 전체지능 지수와 상관이 가장 높은 것으로 알려져 있다.

(라) 주의력장애 진단시스템(Attention-deficit Diagnostic System: ADS)

홍강의 등[32]이 개발한 한국판 연속수행검사(Continuous Performance Test; CPT)이다. 연속수행검사는 주의력의 영역 중에서 특히 주의 지속성, 경계 유지(vigilance), 주의산만성, 선택적 주의력(selective attention)을 평가하는 도구로서, 누락 오류(ommission error), 오경보 오류(commission error), 정반응시간(response time), 정반응시간 표준편차(standard deviation of response time) 등 모두 4 가지 기본 요인으로 구성되는데, ADS 4개 기본 요인 중 하나라도 표준편차의 T-점수가 70점 이상인 경우에는 주의력결핍과잉행동장애가 의심된다.[33]

(2) 환자군 선정과정

소아정신과 전문의에 의해 K-SADS-PL-K 진단에 따라 주의력결핍과잉행동장애로 진단받은 7세에서 16세 아동을 일차적인 대상으로 선정했다.

(3) 제외기준

코너스 부모용 평가척도에서 15점 이하는 제외하였고 한국판 웩슬러 아동지능검사상 지능이 70 이하도 제외하였으며 현병력 및 과거력에서 자폐증이나 주요 내과적/신경과적 질환의 병력을 보이는 경우에도 연구에서 제외하였다.

나. 대조군 선정

전주 시내 초등학교 한 곳의 학생 150명을 대상으로 다음과 같은 절차를 거쳐 133명을 일차적으로 선정했다.

(1) 부모 설문 조사 및 담임교사와의 전화 상담

주요 내과적/신경과적/정신과적 과거력을 조사하기 위하여 부모를 대상으로 자체 제작한 설문 조사를 실시했다. 담임교사와의 전화상담이 가능했던 경우에는 아동이 지속적으로 심각한 문제행동을 보였는지 조사했다.

(2) 제외기준

지능평가 상 지능이 70이하인 경우, 코너스 부모용 단축평정척도 상 총점이 16점 이상인 경우, 부모 설문 조사를 통해 주요 내과적/신경과적/정신과적 질환이 있는 경우, 담임교사에 의해 지속적이고 심각한 문제행동이 있다고 보고 된 경우는 연구대상에서 제외했다.

다. 최종 환자-대조군 선정

상기 과정을 거쳐 최종적으로 95명의 환자군이 선정되었다. 133명의 대조군 중에서 환자군과의 성별, 연령대별 선택을 통해 102명의 대조군을 최종 선정했다. 본 연구에 참여한 모든 환자군과 대조군은 환자 자신과 부모로부터 서면동의를 받았다.

2. 연구방법

가. 유전자 분석

(1) 혈액 채취 및 유전자 분리

대상 환자와 정상 대조군을 대상으로 전주 정맥에서 2-4ml의 말초 혈액을 EDTA 처리된 튜브에 채취한 후 -20℃에 냉동 보관했다. 이를 녹인 후, AccuprepTM Genomic DNA Extraction Kit(Bioneer, Korea)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 유전자를 분리하였다.

(2) SNAP-25 유전자 분석

(가) Genotyping

단일유전자다형성(SNP)은 Chip-based MALDI-TOF mass spectrometry platform(Sequenom, Inc., CA)을 사용하여 분석하였다. 일반적인 실험방법은 생산회사에서 제공된 기본 프로토콜을 따라 진행하였다.

(나) 중합효소연쇄반응(PCR)

PCR 증폭을 위해 사용한 시발체(프라이머)의 염기서열은 다음과 같다.

5′-ACGTTGGATGTAGTGGTCATTTGGTGGCTC,

5′-ACGTTGGATGATTCAGCAAATGCCACCGAG

중합효소연쇄반응은 2.5 mM MgCl2, 0.2 mM dNTP, 0.1 U HotStar Taq Polymerase(Quiagen GmbH, Germany)와 100nM의 양방향 시발체, 그리고 4.0ng의 genomic DNA가 포함된 5ul의 1X PCR buffer (TAKARA, Japan)에서 이루어졌다. PCR 조건은 최초 95℃에서 5분간의 열 변성시킨 후 95℃에서 20초, 56℃에서 30초, 72℃에서 1분간의 주기를 45회 반복한 다음 마지막으로 72℃에서 3분간 연장반응을 시행하였다.

(다) Homogeneous MassEXTEND

PCR 산물에 0.3U의 shrimp alkaline phosphotase를 처리하고 37℃에서 20분간 반응시킨 후 , 85℃에서 5분간 효소의 활성을 억제시켰다.

사용한 extension 시발체는 T1065G 검출용으로 5′-GGTGGCTCTAACT CCTTGA과 T1069C 검출용으로 5′-AGAAAATGAAAAATGAAACTCA를 사용하였다. hME enzyme (Thermosequenase; Amersham Pharmacia Biotech, UK), termination mix, 그리고 5uM의 extension 프라이머가 포함된 9ul의 반응액에서 hME 반응이 이루어졌다. Primer extension 반응은 94℃에서 2분간의 열 변성시킨 후 94℃에서 5초, 52℃에서 5초, 72℃에서 5초로 이루어진 55 사이클로 진행되었다. 반응물은 SpectroCLEAN (Sequenom, Inc., CA)을 이용하여 desalting하고, 384 well SpectroCHIP (Sequenom, Inc., CA)에 SpectroJET(Sequenom, Inc., CA)을 이용하여

spotting하였다. 이렇게 준비된 SpectroCHIP을 자동화된 MALDI-TOF MassARRAY system(Bruker-Sequenom, CA)을 사용하여 분석하였다. 자동화된 peak calling 이후, bad call sign이 난 시료 중에서 확인이 가능한 시료는 육안을 통하여 추가 분석하였다.

나. 자료 분석

환자군과 대조군의 대립 유전자 빈도 비교와 성별비교는 χ^2 test를 사용하였고 유전자형 빈도 비교는 χ^2 test에 이어 binary logistic regression을 사용하였으며 연령비교는 independent-t test를 사용하여 분석하였다. 유의수준은 0.05로 하였으며 모든 통계분석은 SPSS for Windows version 11.0 프로그램을 이용하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 연구대상의 특징

연구에 참여한 95명의 주의력결핍과잉행동장애 환자군 중 남자는 70명(73.7%), 여자는 25명(26.3%)이었으며 대조군 102명 중 남자가 65명(63.7%), 여자가 37명(36.3%)으로 두 군 간에 성별의 차이는 없었다.(p=0.13) 주의력결핍과잉행동장애 환자군의 평균나이는 9.8±2.27세, 대조군의 평균나이는 10.2±0.54세로 두 군 간에는 차이를 보이지 않았다.(p=0.1) Table 1.

Table 1. Demographic data in patients and controls

	Cases(n=95)		Controls(n=102)		p
AGE	9.8±2.27		10.2±0.54		0.1
SEX					
boys	70명	73.7%	65명	63.7%	0.13
girls	25명	26.3%	37명	36.3%	

2. 환자군과 대조군의 SNAP-25 유전자형 및 대립형질의 빈도 비교

본 연구에서는 SNAP-25의 유전자의 비전사영역에서 두개의 단일유전자다형성(1065T/G, *Mnl*Ⅰ 와1069T/C, *Dde*I)과 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 보고자 하였는데 1069T/C(*Dde*I) 단일유전자 다형성은 한국인에서 존재하지 않은 것으로 나타났다. 1065T/G(*Mnl*Ⅰ) 단일유전자 다형성의 유전자형을 보면 환자군에서 전체 95명중 t/t 유전자형이 66명(69.5%), t/g 유전자형이 20명(21.1%), g/g 유전자형이 9명(9.5%)의 빈도를 보였다. 대조군에서는 전체 102명중 t/t 유전자형이 57명(55.9%), t/g 유전자형이 41명(40.2%), g/g 유전자형이 4명(3.9%)의 빈도를 보였다. 두

군간 SNAP-25 유전자형의 빈도는 유의미한 차이를 보였다(χ^2 = 9.57, df=2, p=0.008). 또한 t/t 유전자형과 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 binary logistic regression을 통하여 본 결과 유의한 결과를 보였다. (p=0.049)

유전자형을 t/t 유전자형(T 유전자형)과 t/g 유전자형과 g/g 유전자형을 합친 t/g+g/g 유전자형(G 유전자형)으로 나누어 비교해 보았을 때 환자군에서 T 유전자형이 66명(69.5%) G 유전자형이 29명(30.5%)이었으며 대조군에서는 T 유전자형이 57명(55.9%) G 유전자형이 45명(44.1%)로 역시 두 군간에 유의미한 차이를 보였다(χ^2= 3.87, df=1, p=0.049).

SNAP-25 대립형질(allele)빈도는 환자군에서 t 대립형질이 152(80%), g 대립형질이 38(20%)였으며 대조군에서는 t 대립형질이 154(75.5%) g 대립형질이 50(24.5%)의 빈도를 보였고 두 군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다.(p=0.28) Table 2.

Table 2. Genotype and allele frequency of SNAP-25 gene polymorphism(1065T/G, *MnlI*) in attention deficit hyperactivity disorder patients and controls

	Cases(n=95)		Controls(n=102)		p†	p‡
	N	%	N	%		
Genotype						
t/t	66	69.5	57	55.9		0.049
t/g	20	21.1	41	40.2	0.008	
g/g	9	9.5	4	3.9		
T type(t/t)	66	69.5	57	55.9	0.049	
G type(t/g+g/g)	29	30.5	45	44.1		
Allele						
t	152	80	154	75.5	0.28	
g	38	20	50	24.5		

†: χ^2 test

‡: binary logistic regression

Ⅳ. 고 찰

분자 유전학 분야가 발달하면서 주의력결핍과잉행동장애의 유전적 원인에 대한 연구도 활발하게 진행되고 있으며 그중 가장 많이 연구되고 있는 분야는 도파민계 조절 유전자에 대한 연구이다. 또한 이 질환의 치료에 최근 가장 많이 사용되고 있는 약물들도 대부분 도파민계 약물들이다. SNAP-25(Synaptosomal-associated protein-25kDa)는 시냅스와 관련되어 도파민을 분비시키는 과정에 작용하는 단백질로 이 유전자가 주의력결핍과잉행동장애 발병에 관여할 것이라고 추정할 수 있다.

본 연구의 결과는 한국의 소아, 청소년에서의 주의력결핍과잉행동장애 발병에 있어 SNAP-25유전자(1065T/G *Mnl*I)가 관여할 가능성이 있음을 시사한다. 비록 환자군과 대조군에서 대립유전자의 차이는 보이지 않았지만 (p=0.28) 유전자형(t/t, t/g, g/g)에서는 유의한 차이를 보였으며 (p=0.008), t/t 유전자형과 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 binary logistic regression으로 본 결과도 유의한 결과를 보였다.(p=0.049) 또한 유전자형을 T유전자형(t/t)과 G유전자형(t/g+g/g)으로 나누어 보았을 때도 두 군간의 유의한 차이가 있었다.(p=0.049) 이는 t/t 유전자형이 주의력결핍과잉행동장애 발병에 역할을 한다는 것을 시사하며 이전의 Barr등[23]과 Kustanovich등[25]의 연구 결과와도 일치한다.

본 연구에서는 SNAP-25 유전자의 또 다른 유전자다형성인 1069T/C(*Dde*I)도 조사하였으나 본 연구에 참가한 환자군, 대조군 총 197명 모두가 1069T/T로 단 한명에서도 *Dde*I 단일유전자다형성이 관찰되지 않았다. Brophy[24]등은 93명의 주의력결핍과잉행동장애 가족을 대상으로 한 연구에서 주의력결핍과잉행동장애와 *Dde*I와의 연관성을 보고하였는데 한국인에서는 그 연관성을 볼 수 없게 되었다. 또한 본 연구에서는 Barr[23]등이 발견한 또 다른 유전자다형성인 1025G/A, 1037G/A도 찾아보았지만 본 연구에 참여한 한국인 모두에서 발견되지 않았다. 즉 한국인의 SNAP-25유전자에서는 1065T/G만 존재하고 이전에 타 민족에서 보고된

다른 단일유전자다형성은 존재하지 않음을 알 수 있다.

SNAP-25는 연접전(presynapse)의 막단백질(membrane protein)로 신경세포에 특히 많이 존재하며[34] 이 단백질은 연접전에서 신경전달물질을 포함하고 있는 소낭(vesicle)이 막에 융해되어(fusion) 신경전달물질이 분비되도록 하는 역할을 한다고 알려져 있다. SNAP-25가 주의력결핍과잉행동장애와 관련 있다고 결론내기 위해서는 본 유전자의 변이가 단백질 3차 구조에 변화를 일으키는 등 기능적인 역할을 한다는 증거나 해당 변이를 인공적으로 도입한 동물모델에서 대상 질환이 일어난다는 증거가 있어야 한다. 이전 연구에서 SNAP-25 유전자의 변이가 연접전 막단백질의 기능에 영향을 미쳐 Ca^{2+}의존적인 도파민 분비를 저해한다는 연구[20]와 SNAP-25에 변이를 인공적으로 도입한 동물모델에서 대상 질환을 일으키고 이를 보안한 후 증상이 좋아진 이전 연구들이[20-22] 본 연구의 결과를 뒷받침해준다고 생각한다.

인체에 존재하는 유전자의 개수는 칠 만에서 팔만개정도이며 현재까지 발견된 단일유전자다형성은 백오십만 개 정도로 한 유전자당 열개 내지 열다섯 개 정도의 단일유전자 다형성이 존재할 것으로 생각된다. SNAP-25를 연구한 이전의 연구에서는 네 개에서 일곱 개 정도의 단일유전자 다형성이 발견되었으며 이는 연구대상의 민족에 따라 약간의 차이를 보였다. SNAP-25의 가장 잘 알려진 두개의 단일유전자다형성(1065T/G, *Mnl*Ⅰ 와1069T/C, *Dde*I)중 한국인을 대상으로 한 본 연구에서는 *Mnl*Ⅰ이 관찰되었으며 그 빈도는 t 대립인자가 77.7%, g 대립인자가 22.3%로 Barr[23]등의 연구에서의 t 대립인자가 67%, g 대립인자가 33%의 비해 t 대립인자의 빈도가 더 높았다. 최근까지 *Mnl*Ⅰ 와 *Dde*I 의 단일유전자다형성의 존재와 이들과 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성에서 비교적 반복적인 결과가 보고 되었으며 본 연구에서도 *Mnl*Ⅰ 와 주의력결핍과잉행동장애간의 연관성을 시사하는 결과가 나온 것은 의미가 있다고 보겠다.

주의력결핍과잉행동장애는 소아정신과 임상에서 가장 많이 진단되는 질환임에도 불구하고 신뢰성 있게 진단할 수 있는 정확하고 일원화된 진

단방법이 없다. 특히 위양성 질환 환아가 연구대상에 포함되어 있는가가 연구결과에 결정적 영향을 줄 수 있기 때문에 유전자 연구에서는 정확한 진단이 무엇보다도 중요하다. 특히 주의력결핍과잉행동장애는 품행장애, 우울장애, 불안장애등을 잘 동반하기 때문에[2-4] 진단에 있어서 주의가 필요하다. 본 연구에서는 한국인을 대상으로 높은 신뢰도와 타당도를 보였던 한국판 Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version(K-SADS-PL-K)를 사용하였으며 추가로 코너스 부모용 평가 척도, 주의력결핍과잉행동장애 진단도구, 주의력장애 진단시스템을 사용하였으며 한국판 웩슬러 아동지능검사를 통하여 지능에 의한 변수를 통제하여 진단의 정확성을 높였다.

본 연구의 한계를 보면 첫 번째 지금까지의 많은 연구결과로 보건데 주의력결핍과잉행동장애가 동시에 여러 유전인자의 영향을 받는다는 것이다. 2005년 Faraone등은 지금까지 가장 많이 연구되고 있는 DRD4(Dopamine D4 Receptor), DRD5(Dopamine D5 Receptor), DAT(Dopamine Transporter), DBH(Dopamine B-hydroxylase), 5-HTT(Serotonine transporter), HTR1B, SNAP-25와 주의력결핍과잉행동장애와의 연관성에 대한 odds ratio가 1.18에서 1.46사이라고 보고 하였다.[35] 그러므로 SNAP-25유전자와 이 질환의 연관성이 유의하게 나왔다고 해서 이 유전자가 이 질환의 발병을 모두 설명한다고 볼 수 없으며 여러 유전자가 함께 작용하여 이 질환에 대한 유전적 취약성을 가지게 되는 것으로 생각할 수 있다.

두 번째, 본 연구에서 유의한 결과를 얻은 *Mnl*I이 SNAP-25 유전자의 비전사영역에 위치하고 있다는 점인데 많은 연구에서 전사 영역 외의 변이가 질병 유발에 영향을 끼칠 수 있다는 보고가 있었다.[36]

세 번째, 환자군과 대조군에서 성별, 연령이외에 다른 변인들을 통제하지 못했다는 점이다. 특히 대조군으로 지역사회 대조군을 사용하였는데 이로 인해 환자군과 대조군의 선택 비뚤림(selection vias)이 서로 다르게 작용하였을 가능성이 있다.

네 번째, 본 연구의 결과에서 환자-대조군 연구에서 있을 수 있는 인구층형성(population stratification)으로 인한 위양성의 가능성을 생각할 수 있다. 다만 본 연구의 대상인 한국인 집단은 환아군과 대조군에 걸쳐 매우 동질적이어서 인구층형성으로 인한 위양성의 가능성은 낮아 보인다. 차후 SNAP-25연구는 인구층형성의 문제점을 해결하기 위해서 가족기반 연구를 통해 Transmission Disequilibrium Test(TDT)[37]나 Haplotype Relative Risk(HRR)[38]와 같은 통계방법들을 사용하여야 할 것으로 보인다.

본 연구는 한국인 뿐 아니라 동양인을 대상으로 주의력결핍과잉행동장애와 SNAP-25유전자간의 연관성을 본 첫 연구이다. 따라서 향후 동양인 뿐 아니라 한국인을 대상으로 한 연구 결과가 더 필요할 것으로 생각된다.

Ⅴ. 결 론

본 연구는 한국인에 있어서 주의력결핍과잉행동장애와 SNAP-25 유전자의 유전적다형성과의 연관성에 대해 고찰하였다. 본 연구에서는 환자군에서 대조군에 비해 SNAP-25의 단일유전자다형성(1065T/G, *Mn*Ⅱ)의 t/t 유전자형의 빈도가 유의하게 높음을 관찰할 수 있었다. 본 연구의 결과는 한국의 소아, 청소년에서의 주의력결핍과잉행동장애 발병에 있어 SNAP-25유전자다형성(1065T/G, *Mn*Ⅱ)이 관여할 가능성이 있음을 시사한다. 다만 본 연구는 대상군수의 부족으로 인한 위양성의 가능성을 배재할 수 없으므로 향후 SNAP-25를 대상으로 한 환자-대조군 연구와 가족기반 연구가 더 진행되어야 할 것으로 보인다.

참고문헌

1. Cantwell DP. Attention deficit disorder: a review of the past 10 years. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1996;35:978-987.

2. Taylor E, Chadwick O, Heptinstall E, Danckaerts M. Hyperactivity and conduct problems as risk factors for adolescent development. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1996;35:1213-1226.

3. Faraone SV, Biederman J, Spencer T, Wilens T, Seidman LJ, Mick E et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder in adults: an overview. Biol Psychiatry 2000;48:9-20.

4. Schubiner H, Tzelepis A, Milberger S Lockhart N, Kruger M, Kelley BJ et al. Prevalence of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder among substance abusers. J Clin Psychiatry 2000;61:244-251.

5. Eaves LJ, Silberg JL, Meyer JM, Maes HH, Simonoff E, Pickles A et al. Genetics and developmental psychopathology: 2. The main effects of genes and environment on behavioral problems in the Virginia Twin Study of Adolescent Behavioral Development. J Child Psychol Psychiatry 1997;38:965-980.

6. Smalley SL. Genetic influences in childhood onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. Am J Hum Genet 1997;60:1276-1282.

7. Faraone SVB. Neurobiology of attentiion-deficit hyperactivity disorder. Biol Psychiatry 1998;44:951-958.

8. Smalley SL, McGough JJ, Del'Homme M, NewDelman J, Gordon E, Kim T et al. Familial Clustering of symptoms and disruptive behaviors in multiplex families with attention-deficit/hyperactivity disorder. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 2000;39:1135-1143.

9. Durston S. A review of biological bases of ADHD: what have we learned from imaging studies? Ment Retard Dev Disabil Res Rev 2003;9:184-195.

10. Cook Jr EH, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. Am J Hum Genet 1995;56:993-998.

11. Comings DE, Chen C, Wu S, Muhleman D. Association of the androgen receptor gene(AR) with ADHD and conduct disorder. Neuroreport 1999;10:1589-1592.

12. Swanson JM, Sunohara GA, Kennedy JL, Regino R, Fineberg E, Wigal T et al. Association of the dopamine receptor D4(DRD4) gene with a refined phenotype of attention deficit hyperactivity disorder(ADHD): a family-based approach. Mol Psychiatry 1998;3:38-41.

13. Smalley SL, Bailey JN, Palmer CG, Cantwell DP, McGough JJ, Del'Homme MA et al. Evidence that the dopamine D4 receptor is a

susceptibility gene in attention deficit hyperactivity disorder[see comments][published erratum appears in Mol Psychiatry 1999 Jan;4(1):100]. Mol Psychiatry 1998;3:427-430.

14. Eisenberg J, Mei-Tal G, Steinberg A, Tartakovsky E, Zohar A, Gritsenko I et al. Haplotype relative risk study of catechol-O-methyltransferase(COMT) and attention deficit hyperactivity disorder(ADHD): association of the high-enzyme activity Val allele with ADHD impulsive-hyperactive phenotype. Am J Med Genet 1999;88:497-502.

15. Eisenberg J, Zohar A, Mei-Tal G, Steinberg A, Tartakovsky E, Gritsenko I et al. A haplotype relative risk study of the dopamine D4 receptor(DRD4) exon III repeat polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder(ADHD). Am J Med Genet 2000;96:258-261.

16. Kotler M, Manor I, Sever Y, Eisenberg J, Cohen H, Ebstein RP et al. Failure to replicate an excess of the long dopamine D4 exon III repeat polymorphism in ADHD in a family-based study. Am J Med Genet 2000;96:278-281.

17. Hawi Z, McCarron M, Kirley A, Daly G, Fitzgerald M, Gill M. No association of the dopamine DRD4 receptor(DRD4) gene polymorphism with attention deficit hyperactivity disorder(ADHD) in the Irish population. Am J Med Genet 2000;96:268-272.

18. Palmer CG, Bailey JN, Ramsey C, Cantwell D, Sinsheimer JS, Del'Homme M et al. No evidence of linkage or linkage disequilibium

between DAT1 and attention deficit hyperactivity disorder in a large sample. Psychiatr Genet 1999;9:157-160.

19. Mannor I, Kotler M, Sever Y, Eisenberg J, Cohen H, Ebstein RP et al. Failure to replicate an association between the catechol-O-methyltransferase polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in a second, independently recruited Israeli cohort. Am J Med Genet 2000;96:858-860.

20. Hess EJ, Jinnah HA, Kozak CA, Wilson MC. Spontaneous loco-motor hyperactivity in a mouse mutant with a deletion including the Snap gene on Chromosome 2. J Neurosci 1992;12:2865-2874.

21. Wilson MC. Coloboma mouse mutant as an animal model of hyperkinesis and attention deficit hyperactivity disorder. Neurosci Biobehav Rev 2000;24:51-57.

22. Steffensen SC, Henriksen SJ, Wilson MC, Transgenic rescue of SNAP-25 restores dopamine-modulated synaptic transmission in the coloboma mutant. Brain Res 1999;847:186-195.

23. Barr CL, Feng Y, Wigg K, Bloom S, Roberts W, Malone M et al. Identification of DNA variants in the SNAP-25 gene and linkage study of these polymorphisms and attention-deficit hyperactivity disorder. Mol Psychiatry 2000;5:405-409.

24. Brophy K, Hawi Z, Kirley A, Fitzgerald M, Gill M. Synaptosomal-associated protein 25(SNAP-25) and attention deficit

hyperactivity disorder (ADHD): evidence of linkage and association in the Irish population. Mol Psychiatry 2002;76:613-917.

25. Kustanovich V, Merriman B, McGough J, McCracken JT, Smalley SL, Nelson SF. Biased patental transmission of SNAP-25 risk alleles in attention-deficit hyperactivity disorder. Mol Psychiatry 2003;8:309-315.

26. Mill J, Richard S, Knight J, Curran S, Taylor E, Asherson P. Haplotype analysis of SNAP-25 suggests a role in the aetiology of ADHD. Mol Psychiatry 2004;9(8):801-810.

27. Hess EJ, Rogan PK, Domoto M, Tinker DE, Ladda RL. Ramer JC. Absence of linkage of apparently single gene mediated ADHD with the human syntenic region of the mouse mutant coloboma. Am J Med Genet 1995;60:573-579.

28. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version(K-SADS-PL): initial reliability and validity data. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1997;36:980-988.

29. Kim YS, Cheon KA, Kim BN, Chang SA, Yoo HJ, Kim JW et al. The reliability and validity of Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version-Korean version (K-SADS-PL-K). Yonsei Med J 2004;45:81-89.

30. 오경자, 이혜련. ADHD 평가도구로서의 단축형 Conners 평가척도 연구. 대한신경정신의학회 추계 학술대회. 서울: 대한신경정신의학회; 1989.

31. Sattler JM. Assessment of children. 3rd ed. Jerome m Sattler; 1992. p.123, p.137, p.851.

32. 홍강의, 신민섭, 조성준. 주의력장애 진단시스템 사용 설명서. 서울: 한국 정보공학;1996.

33. 신민섭, 조성준, 전선영, 홍강의. 전산화된 주의력장애 진단시스템의 개발 및 표준화 연구. 소아청소년정신의학 2000;11:91-99.

34. Sollner T, Whiteheart SW, Brunner M, Erdjument-Bromage H, Geromanos S, Tempst P, Rothman JE. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion. Nature 1993;362:318-324.

35. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. Biol Psychiatry 2005;57:1313-1323.

36. Kruglyak L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. Nat Genet 1999;22(2):139-144.

37. Seielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus(IDDM). Am J Hum Genet 1993;52:506-616.

38. Falk CT, Rubinstein P. Haplotype relative risks: An easy realiable way to construct a proper control sample for risk calculation. Ann Hum Genet 1987; 51:227-233.

Abstract

Association study for synaptosomal-associated protein 25 polymorphism and Korean patients with attention deficit hyperactivity disorder

Tae Kyou Choi
Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hong Shick Lee)

Objectives : Attention-deficit hyperactivity disorder(ADHD) is the most common childhood psychiatric disorder, affecting 5-10% of school-age children. Although the biological basis of this disorder is unknown, twin and family studies provide strong evidence that ADHD has a genetic basis involving multiple genes.

The gene for the synaptic vesicle docking fusion protein, synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP-25), has been implicated in the etiology of ADHD based on the mouse mutant strain coloboma. This neuron-irradiation induced mouse strain is hemizygous for the deletion of the SNAP-25 gene and displays spontaneous hyperactivity that is responsive to dextroamphetamine. DNA variations within or closely mapped to the SNAP-25 gene may alter the level of expression and hence may have an effect on the function of synaptic vesicle fusion and neurotransmitter release.

The aim of this study was to investigate the association between

SNAP-25 gene polymorphism and ADHD using two of the identified polymorphism(*Mnl*I, *Dde*I) in Korean population.

Methods : 95 ADHD patients and 102 normal controls participated in this study. The genotypes and allele frequency of the SNAP-25 polymorphism (*Mnl*I, *Dde*I) between ADHD patients and control were compared

Results : In this study, there was statistical significant difference in genotype distribution of *Mnl*I in SNAP-25 gene between patients and controls.(p=0.008) and t/t genotype is related ADHD(p=0.049) but *Dde*I is not exist in Korean population

Conclusion : This results suggest there may be a role of this polymorphism in ADHD. But the limit of this study is that the number of cases were small, therefore it would be premature to make any conclusions from this study concerning the role of SNAP-25 in ADHD. Further work is needed to assertain the role of SNAP-25 in ADHD

Key Words: attention deficit hyperactivity disorder(ADHD), SNAP-25, polymorphism, association study.