

세로토닌 노르에피네프린 재흡수
억제제의 치료반응과 세로토닌
수송체 유전자 다형성과의 연관성

연세대학교 대학원

의 학 과

이 상 혁

세로토닌 노르에피네프린 재흡수
억제제의 치료반응과 세로토닌
수송체 유전자 다형성과의 연관성

지도 이 홍 식 교수

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2007 년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

이 상 혁

이상혁의 박사학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2007 년 6 월 일

감사의 글

논문을 마치기까지 끊임없이 격려해 주시고 이끌어 주신 이홍식 교수님께 진심으로 감사드립니다. 모든 과정마다 많은 도움을 주신 김찬형 교수님, 김동구 교수님, 이진성 교수님, 신의진 교수님께도 특별한 감사를 드립니다.

같이 연구하느라 고생한 세주형, 정호, 태규, 은이에게도 고맙다는 말 전하고 싶습니다. 그리고 분당차병원 정신과 서신영, 육기환 선생님께도 감사를 드리고, 김용우, 김보라, 송수경 등 연구를 직접적으로 도와준 차병원 식구들께도 감사를 전합니다. 우리 어머니, 장인 장모님, 마지막으로 두 쌍둥이 키우느라 고생한 집사람, 지은씨에게도 감사를 포함합니다.

저자 씀

차 례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	8
1. 연구대상	8
2. 연구방법	9
가. 임상양상의 평가	9
나. 유전자 분석	11
(1) 혈액의 채취 및 DNA 분리	11
(2) 유전자형별	11
다. 통계분석	13
III. 결과	14
1. 주요 우울 장애 환자와 정상 대조군 간에 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도 비교	14
2. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계 ..	14
3. 주요 우울 장애 환자에서 관해 상태와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계	18
4. 주요 우울 장애 환자에서 CGI, GAF 점수와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계 ..	19
5. 로지스틱 회귀분석을 이용한 치료 반응 예측인자 분석	19
6. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계	20
7. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 부작용과 5-HTTLPR, 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계	21
IV. 고찰	22

V. 결론	28
참고문헌	29
영문요약	36

그림 차례

그림 1. PCR amplification products generated with primers flanking the 5-HTTLPR from genomic DNA of major depressive disorder and control subjects	12
--	----

표 차례

표 1. Genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR, 5-HTTVNTR polymorphism between patients with major depressive disorder and normal controls.....	14
표 2. Venlafaxine treatment response on depressive symptom and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder	15
표 3. Venlafaxine treatment response on anxiety symptom and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder	16
표 4. Venlafaxine treatment response on depressive symptom and non-s/s(l/l or l/s) and s/s genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive Disorder.....	17

卣5.	Venlafaxine treatment response on anxiety symptom and non s/s(l/l or l/s) and s/s genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive Disorder	17
卣6.	Remission state and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder	18
卣7	Prediction of venlafaxine treatment response using logistic regression analysis.....	19
卣8	Venlafaxine treatment response and genotype, allele frequencies of the 5-HTTVNTR polymorphism in patients with major depressive Disorder.....	20

국문 요약

세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제의 치료반응과 세로토닌 수송체 유전자 다형성과의 연관성

최근 항우울제의 치료반응을 예측할 수 있는 여러 인자들이 연구 중에 있다. 본 연구의 목적은 세로토닌 수송체 유전자 다형성과 세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제의 치료반응과의 연관성을 검증하는 데 있다. 117명의 한국 주요 우울 장애 환자와 207명의 정상 대조군을 대상으로 하였다. 정신과 전문의 2명이 DSM-IV를 위한 구조화 임상 면담(Structured Clinical Interview for DSM-IV)로 주요 우울 장애로 진단한 환자만 참여시켰다. 우울 장애 환자에게 venlafaxine XR(extended release)을 연구 개시 첫 1주일간은 1일 오전 1회 75mg, 이후에는 1일 오전 1회 150mg을 4주 이상 경구 투여하였다. 연구 도중 심각한 부작용이 발생된 경우를 제외하고는 모든 환자에게 동일한 용량을 적용하였다. 임상 양상의 평가는 0,1,4주 해밀턴 우울 척도(Hamilton depression rating scale, HAM-D), 몽고메리 아스버그 우울 척도(Mongomery Åsberg depression rating scale, MADRS), 해밀턴 불안 척도(Hamilton anxiety rating scale, HAM-A), 벡 우울 척도(Beck depression inventory, BDI), 벡 불안 척도(Beck anxiety inventory, BAI) 등을 이용하고 부작용은 같은 주에 터론토 부작용 척도를 이용하였다. 중합 효소 연쇄 반응을 이용하여 대립형질을 결정하였다. 86명의 환자에서 치료 반응을 측정할 수 있었다. 주요 우울 장애 환자와 정상 대조군 간에 세로토닌 수송체 유전자 유전자형 및 대립유전자 빈도의 유의한 차이는 없었다. 주요 우울 장애 환자에서, 우울 증상을 나타내는 BDI, HAM-D, MADRS의 venlafaxine 치료반응과 세로토닌 수송체 유전자 연관 다형성 부위(serotonin transporter gene-linked polymorphic region, 5-HTTLPR) 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의하게 연관이 있었다. 특히 1-대립형질의 유전자형

분포가 많을수록, 유전자 빈도가 높을수록 치료 반응을 보인 환자가 더 많았다. HAM-A의 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도는 유의하게 연관이 있었으나, BAI의 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의한 연관이 없었다. 로지스틱 회귀분석상, venlafaxine 우울 증상의 치료 반응을 5-HTTLPR 유전자형과 1-대립형질이 유의하게 설명할 수 있었다. 2nd intron에 위치한 세로토닌 수송체 VNTR(Variable Number of Tandem Repeat, 5-HTTVNTR)의 유전자형 및 대립유전자 빈도는 venlafaxine의 치료 반응과 유의한 연관이 없었다. Venlafaxine의 부작용과 5-HTTLPR, 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도는 유의한 연관이 없었다. 상기 결과는 주요 우울 장애 환자에서 5-HTTLPR 1-대립형질이 세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제 venlafaxine의 치료 반응을 높일 수 있는 예측인자가 될 수 있음을 시사한다. 그러나, 상기 결과가 임상적으로 적용되기 위해서는 광범위한 연구에서 상기 결과가 뒷받침되어야 한다.

핵심 되는 말 : 세로토닌 수송체, 유전자 다형성, venlafaxine, 치료 반응

세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제의 치료반응과 세로토닌 수송체 유전자 다형성과의 연관성

<지도교수 이 홍 식>

연세대학교 대학원 의학과

이 상 혁

I. 서론

정신과 약물 중 가장 광범위하게 쓰이고 있는 대표적인 약물인 항우울제 중 세로토닌 재흡수 억제제(Serotonin Reuptake Inhibitors, SRIs)가 대표적이다. 이 중 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)가 미국에서 처음으로 소개된 이후 현재까지 항우울제의 최초 선택제로 인정받고 있다. 약력학적으로 fluoxetine 은 2-3 일의 긴 반감기를 가지고 있고 다른 SSRI 는 하루 정도의 반감기를 가지고 있다. 모든 SSRI 는 간으로 대사되는데 paroxetine 과 fluoxetine 은 간의 cytochrome P450 2D6 로 대사되고 sertraline 은 P450 3A3/4 로 대사되는 것으로 알려져 있다. 약물역동학적으로 SSRI 는 세로토닌 수송체(serotonin transporter, 5-HTT)에 일차적으로 작용하여 치료 효과를 내는 것으로 생각되고 있다.¹

SRIs 가 모든 우울장애 환자에게 효과적인 것은 아니기 때문에 약물 투여 전에 이를 예측하는 것이 중요하다. SSRI 의 치료 반응을 예측하는데 있어 여러 중요한 인자들이 있다고 보고되고 있지만, 특히 cytochrome P450 2D6 의 유전자(CYP2D6)를 통해 치료 반응을 예측하는 연구들이 유전학 분야에서 초기에 주목 받았다. 이 유전자는 debrisoquine hydroxylase 를 부호화(encode)하는데, 매우 다형적이어서 70 개 이상의 알려진 변이가 존재하고 있는 것으로 알려져 있다. 이 들 중 null 대립형질의 동질 접합체(homozygote)를

가진 사람의 경우는 효소의 활성도가 거의 없어 저 대사자(poor metabolizer)인 경우가 많았고, null 대립형질의 이형접합체(heterozygote)나 동형접합체를 가진 사람의 경우는 효소의 활성도가 떨어져 중간 정도의 debrisoquine hydroxylase 대사 능력을 보이게 되어 이러한 유전형의 차이가 약물의 반응을 달리할 수 있다는 가능성이 제기되었다.^{2,3}

Syndrup 등은 실제 정상인을 대상으로 CYP2D6 유전자형과 혈장내 SSRI 의 농도와의 관계를 실험하였다. 이 연구에서는 CYP2D6 유전자형으로 혈장 내 SSRI 의 농도를 예측할 수 있다고 보고하였다.⁴ 또한 일부 보고에서 paroxetine 과 다른 약물의 유의미한 상호작용이 발견되는데, 이를 추정한 보고에서는 저 대사자에서 다른 약물의 대사가 잘 되지 않는 데다, paroxetine 이 debrisoquine hydroxylase 을 억제하여 다른 약물 농도를 더 높일 수 있어 일부 환자에서는 paroxetine 의 CYP2D6 유전자형을 분석하는 것이 좋을 수도 있다고 권고하기도 하였다.⁵

그러나 233 명의 노인 우울 장애 환자를 대상으로 연구한 보고에서는 CYP2D6 유전자형이 약과 관련된 부작용, 부작용과 관련된 약물 중단, 치료 효과에 연관이 없는 것으로 보고되었다.⁶ 다른 연구에서도 CYP2D6 유전자형이 약물 복용 중에 paroxetine 에 의해 유발된 부작용이 유전자형과는 연관이 없다고 보고하였다. 이는 SSRI 의 안전 한계(safety margin)이 충분하여 중간 혹은 저 debrisoquine hydroxylase 활성도를 가진 환자가 보다 더 많은 부작용을 내지 않은 것으로 추정하였다.^{4,5} 따라서 SSRI 의 치료 반응을 예측하는데 있어 CYP2D6 유전형을 알아보는 것은 현재까지는 크게 유용하지는 않은 것으로 보인다.

한편, SSRIs 가 세로토닌 수송체에 작용하여 치료 효과를 나타내기 때문에 CYP2D6 보다는 세로토닌 수송체 유전자(SLC6A4)의 다형성(polymorphism)이 SSRI 의 치료 효과와 연관이 있을 것이라는 추측들이 지속되어 왔다.

세로토닌 수송체 유전자는 17 번 염색체에 위치하고 있으며 다형성 부위는 현재까지 여러 종류가 밝혀지고 있다. 그 중 관심을 받고 있는 부위는 promotor 부위에 존재하는 serotonin transporter

gene linked polymorphic region(5-HTTLPR)과 2 번째 intron 에 있는 세로토닌 수송체 variable number of tandem repeat(5-HTTVNTR)이다. 5-HTTLPR 은 44 개의 염기쌍의 insertion/deletion 으로 되어 있으며 long variant 인 l-대립형질(l)는 short variant(s)인 s-대립형질보다 유전자 발현(gene expression)을 2 배 정도 더 하는 것으로 보고되고 있다.^{7,8} 5-HTTVNTR 유전자의 다형성은 3 개의 대립유전자(STin2*9, STin2*10, STin2*12)로 구성되어 있으며 이들의 다형성이 기능의 차이가 있을 것이라는 가정하에 연구되고 있다.⁹

임상에서 우울 장애 환자를 대상으로 5-HTTLPR 유전자 다형성이 SSRI 의 작용에 미치는 영향을 알아본 결과는 현재까지 일치되고 있지 않다. Smeraldi 등은 53 명의 이탈리아인 주요 우울 장애 환자를 대상으로 5-HTTLPR 의 l-대립형질이 SSRI 의 한 종류인 fluvoxamine 에 대한 치료 반응과 연관이 있는 것으로 보고했다.¹⁰ Pollack 등이 실시한 약물유전체 연구에서는 51 명의 노인 우울 장애를 대상으로 한 연구에서는 l/l 유전자형이 l/s 이나 s/s 유전자형보다 유의하게 paroxetine 에 대한 약물 반응이 더 좋았다고 보고하였다.¹¹ Zanardi 등이 60 명의 주요 우울 환자를 대상으로 실시한 연구에서도 비슷한 연구 결과가 나왔다.¹²

이와는 대조적으로 동양권에서는 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 혹은 대립형질의 빈도와 연관이 일치되지 않게 나타났다. 초기 국내에서 Kim 등이 보고한 자료에 의하면 다른 대립형질보다도 s/s 유전자형이 l/s 유전자형 l/l 유전자형보다 fluoxetine 이나 paroxetine 에 대한 치료 효과가 더 좋은 것으로 보고하였고,¹³ 일본에서도 Yoshida 등은 66 명의 환자를 대상으로 fluvoxamine 에 반응한 환자들에게서 s-대립형질이 더 유의하게 많았음을 보고 하였다.¹⁴ 그러나, Yu 등은 2002 년에 121 명의 대만 사람들을 대상으로 하여 SRIs 의 한 종류인 fluoxetine 에 대한 치료 반응을 관찰한 결과 l-대립형질이 유의하게 더 흔했으며¹⁵, 일본의 Kato 등 도 비슷한 결과를 얻었다.¹⁶ 국내의 Lee 등은 128 명을 대상으로 다양한 항우울제의 장기 치료 결과를 관찰한 결과, 치료 반응이 l-대립형질과 유의하게 연관이 있었다.¹⁷

위 연구들은 세로토닌 수송체의 유전자 다형성이 세로토닌 관련 약물들의 치료 효과에 영향을 미칠 가능성을 시사하여 초기에 임상적으로 주목은 받았으나, 여전히 일치되지 않는 결과가 나타났다. 초기 Kim 등의 연구 결과는 미국 유럽인 들과 동양인들의 유전자형이 치료효과와 다른 결과가 나타났기 때문에 인종의 차이도 주요하게 약물 반응을 달리 할 수 있음을 시사하였으나, 후속 연구에서는 다른 결과가 나와, SRIs 에 대한 5-HTTLPR 과의 연관성은 더 연구가 되어야 하는 실정이다.

Mundo 등은 5-HTTLPR 의 유전자 다형성과 부작용과 연관관계를 연구하였는데, 특히 s-대립형질이 SRIs 이 유발한 조증(SRIs induced mania)과 연관이 있다고 보고하였다. 양극성 장애 200 여명을 대상으로 한 연구에서 SRIs 에 의해 조증이 생긴 그룹과 SRIs 를 사용했음에도 조증이 생기지 않은 그룹의 5-HTTLPR 의 유전자형을 분석하여 비교한 결과 s-대립형질이 l-대립형질에 비해 조증이 유발된 환자가 유의하게 많았다고 보고하였다.¹⁸ 하지만 이 연구 외에 약물에 의한 부작용과 세로토닌 유전자 다형성을 체계적으로 조사한 연구는 거의 없다.

SSRI 이후에 소개된 항우울제의 경우 세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제(serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI)의 경우도 SSRI 와 비슷하게 세로토닌 재흡수 억제제이므로 상기와 비슷한 결과를 나타낼 것으로 기대되었다. 그러나 Yoshida 등이 SNRI 의 한 종류인 milnacipran 을 이용하여 치료 반응을 조사한 연구에서 세로토닌 수송체 유전자 중 5-HTTLPR 과 5-HTTVNTR 와 milnacipran 의 치료반응에 대한 연관이 유의하지 않았다고 보고하였다.¹⁹

Venlafaxine 은 milnacipran 과 마찬가지로 세로토닌 노르에피네프린 재흡수 억제제(serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI)의 일종으로 SSRI 와 비교하여 세로토닌 재흡수 억제제는 덜 한 편이며, TCA 와 비교하여서는 노르에피네프린 재흡수 억제가 덜 한 편으로 알려져 있다.²⁰ Venlafaxine 은 세로토닌과 노르에피네프린에 작용하는 이중 작용 기전으로 심한 우울증에도 효

과적이며 빠른 효과를 보인다는 주장이 있으며, 이는 alpha-adrenergic 수용체를 조기에 하향 조절하여 생긴다는 가설도 존재한다.²¹ 하지만 venlafaxine 의 약물유전체적 연구는 아직 문헌상에서 보고된 바가 없는 실정이다.

앞에서 기술한 문헌들을 정리해 보면, SSRI 의 치료 반응 및 부작용은 5-HTTLPR 의 유전자 다형성과 연관이 있는 것으로 보이지만, 각각의 연구에 따라 그 결과는 여전히 일치되지 않고 있고 연구가 지속적으로 필요한 상황이다. 또한 SNRI 의 경우는 세로토닌 수송체 유전자 다형성과의 관계에 대한 연구는 milnacipran 외에는 이루어지지 않고 있어 이에 대한 연구도 절실하다.

그러므로 SNRI 의 한 종류인 venlafaxine 에 대한 치료 효과 및 부작용과 세로토닌 수송체 유전자 다형성과의 연관 관계를 연구해 보는 것이 필요하다.

따라서, 전술한 바를 근거로 세워본 가설은 다음과 같다.

첫째, 세로토닌 수송체 유전자 다형성(5-HTTLPR, 5-HTTVNTR)과 venlafaxine 의 치료 반응은 유의한 연관관계가 있을 것이다. 특히 아시아권에서 5-HTTLPR 과 SSRI 의 치료 반응 연구에서 s-대립형질은 좋은 치료 반응과 유의한 연관을 보인다는 보고가 있으므로 SNRI 인 venlafaxine 도 s-대립형질이 좋은 치료 반응과 유의한 연관을 보일 것이다.

둘째, 세로토닌 수송체 유전자 다형성 특히 HTTLPR 과 venlafaxine 의 주요한 부작용(오심, 구토) 등의 증상과는 유의한 연관 관계가 있을 것이다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상 및 연구 절차

가. 연구대상

주요 우울 장애로 모 병원에 내원한 환자 117 명과 서울 경기도 거주하는 정상 대조군 207 명을 대상으로 하였다. 주요 우울 장애 연구 대상은 2006 년 7 월부터 2007 년 2 월까지 서울, 경기도 거주하고, 20 세 이상 60 세 이하로, 연구의 취지를 충분히 설명을 듣고 venlafaxine 단일치료에 동의한 사람이며, 환자들은 모두 drug free 2 주 이상, 혹은 drug naive 였다. 연구는 임상연구윤리심의위원회(Institutional Review Board)의 승인을 받았으며 임상연구윤리심의위원회에서 지정한 유전자 연구 동의서에 서명한 사람들을 대상으로 하였다. 훈련된 정신과 전문의 2 명이 DSM-IV 를 위한 구조화 임상 면담(Structured Clinical Interview for DSM-IV, SCID)로 주요 우울 장애에 해당하는 환자를 참여시켰으며 다른 공존 정신과 질환이 존재하므로 이 질환에 대한 진단도 SCID 로 진단하도록 하였다. 우울 장애는 DSM-IV 에 의거 하여 1) 우울한 기분, 흥미 감퇴가 2 주 이상 지속되고, 2) 에너지의 감소, 수면장애, 식욕저하 혹은 체중저하, 집중력 등의 인지기능저하, 자살사고, 부적절한 죄책감 등이 5 개 이상 존재하며, 3) 사회적·직업적 기능저하가 두드러질 때 우울 장애로 진단한다. 또한 주요 우울 장애 환자가 정상인과 비교하여 유전적 성향이 다른지를 알아보기 위해 연구에 동의한 정상인 207 명을 대상으로 혈액 채취를 하여 유전적 분석을 시행하였다. 제외 기준은 1) 알코올이나 약물 의존 병력이 있는 사람들 2) 경련, 두부 외상, 심혈관계 질병이 있는 사람 3) 유의한 신체, 신경 질환이 있는 사람들로 하였다.

나. 연구절차

연구 대상 환자에게 항우울제의 한 종류로서 serotonin norepinephrine reuptake inhibitor(SNRI)인 venlafaxine XR(extended release)을 연구 개시 첫 1 주일간은 1 일 오전 1 회 75 mg, 이후에는 1 일 오전 1 회 150 mg 을 4 주 이상 경구

투여하였다. 연구 도중 심각한 부작용이 발생된 경우를 제외하고는 모든 환자에게 동일한 용량을 적용하였다. 4 주간의 약물 투여 기간 다른 약제의 병용은 원칙적으로 피하였고 다만, 약물 투여 기간 중 심각한 신체 질환을 치료하기 위한 약제와 수면 장애와 불안 증상이 심할 경우에 한해 lorazepam 의 간헐적 복용을 일시적으로 허용하였다. 약물 투여 기간 중 환자에게 정신치료를 시행하지 않는 것을 원칙으로 하였으며, 질환의 이해를 도와주는 설명, 약물치료 반응에 대한 논의 등 새로운 치료를 시작할 때 수용될 수 있는 범위 내에서 지지 정신치료(supportive psychotherapy)에 한하여 시행하였다.

2. 연구 방법

가. 임상양상의 평가

(1) Beck 우울척도(Beck depression inventory, BDI)^{22,23}

Beck 등이 고안한 BDI 는 우울증의 심도를 측정하기 위하여 개발된 자기보고식 척도이다. 총 21 개의 문항에 대해 각각 0-3 점으로 평가되어 각 개별 문항의 점수를 합산함으로써 전체 점수를 산출하도록 하는 이 척도는 한홍무 등의 연구를 통해 한국형으로 타당도와 신뢰도가 검증되었다.

(2) Beck 불안 척도(Beck anxiety inventory, BAI)^{24,25}

불안 증상의 수준을 평가하기 위하여 Beck 등이 개발하고 국내에서 육성필과 김중술이 번안한 BAI 를 사용한다. 총 21 문항으로 구성되어 있는 이 척도는 한 주 동안 개인이 경험한 불안 증상의 정도를 4 점 척도(0 점-전혀 느끼지 않았다 3 점-심하게 느꼈다)상에서 평정하도록 한다.

(3) Hamilton Depression Rating Scale(HAM-D)²⁶ 와 Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale(MADRS)²⁷

우울증상의 심각도를 평가하기 위해 실시하였다. HAM-D 는 24 개의 항목으로 구성되어있으며 각 항목은 증상의 심각도에 따라 0 점에서 4 점까지 평정한다. MADRS 는 10 문항으로 되어 있으며

증상의 심각도에 따라 0 점에서 6 점으로 평가한다. 숙련된 평가자는 죄책감, 자살사고, 수면습관, 그 외의 우울증의 여러 증상들에 대한 질문을 하고 이에 대한 환자의 대답을 평가한다.

(4) Hamilton 불안 척도(Hamilton anxiety scale, HAM-A)²⁸

HAM-A 는 불안 증상의 심각도를 측정하기 위해 14 개 문항으로 이루어진 반구조화된 면담형식의 도구로 Hamilton 에 의해 개발되었다. 이 척도는 일반적인 정신적 불안 증상 요인과 인지적이고 신체적인 증상 요인의 2 가지 요인으로 구분되어, 각 항목에 대한 심각도를 5 점 척도로 평가하여 점수가 높을수록 심한 불안증상이 있음을 의미한다

(5) Clinical Global Impression(CGI)²⁹

정신장애의 전반적인 질병의 심각도를 그 정도에 따라 7 점 척도로 평정하게 되어 있으며, 본 연구에서는 우울증상을 각각 평가하였다.

(6) Global Assessment of Functioning(GAF)³⁰

환자의 정신 건강을 측정하는 것으로 환자의 심리적, 사회적, 직업적인 측면을 고려하여 전체적인 기능을 1~90 사이의 점수로 평정하며 높을수록 기능이 좋음을 의미한다.

(7) 치료 반응 측정과 부작용 평가

임상 치료 반응에 대한 측정은 기준점과 시험 시작 후 1,4 주 시점에서 시행하며, 약물 임상 효과를 평가하기 위하여 각 단계마다 숙련된 정신과 전문의가 HAM-D, MADRS, HAM-A, GAF, Clinical Global Impression(CGI)을 시행하며 환자에게는 BDI 와 BAI 를 시행하도록 하였다.

치료 반응 평가 각 단계마다 치료 반응군의 기준을 HAM-D 전체 점수가 기준보다 최소한 50% 이상 감소된 경우로 하여 반응군과 비반응군으로 구분하였다. 부작용의 분석은 약물을 적어도 한 번

이상 복용한 모든 환자를 대상으로 하여 Toronto side effect scale³¹을 이용하여 외래 방문 시 측정하였다.

나. 유전자 분석

(1) 혈액의 채취 및 DNA 분리

우울장애 환자와 정상 대조군의 말초 정맥에서 혈액을 채취하여 EDTA 처리된 튜브에 넣은 뒤, 실험할 때까지 -70°C 에 냉동 보관하였다. 냉동 보관된 혈액을 상온에서 녹인 뒤, 혈액 3ml와 세포 용해 용액(cell lysis solution) 9ml를 15ml 튜브에 넣고 잘 섞어 10분 동안 실온에서 반응시킨 다음 3,500rpm에서 10분간 원심분리시켜 상층액을 버리고 남은 펠릿에 핵 용해 용액(nuclei lysis solution)을 3ml 첨가하고 37°C 에서 1시간 동안 반응시켰다. 단백질을 침전 용액(protein precipitation solution) 1ml를 첨가하고 3,500rpm에서 10분간 원심분리하여 genomic DNA가 포함된 상층액을 깨끗한 15ml 튜브에 옮기고 이소프로판올(isopropanol)을 3ml 첨가한 후 부드럽게 섞었다. 다시 3,500rpm에서 5분간 원심분리 하였고 펠릿에 70% 알코올을 섞어 세척한 뒤 펠릿을 공기 중에 말렸다. 여기에 $250\mu\text{l}$ DNA rehydration solution을 첨가하여 4°C 에서 24시간 녹인 후 얻어진 DNA를 중합효소연쇄반응까지 -70°C 에 보관하였다.

(2) 유전자형별(Genotyping)

(가) 중합효소연쇄반응(PCR)

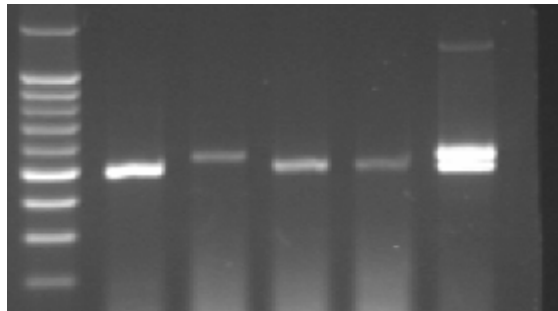
추출한 genomic DNA를 주형으로 하여 PCR 증폭을 시행한다. PCR 증폭을 위해 사용한 시발체(primer)의 염기 서열은 다음과 같다.

5-HTTLPR 유전자다형성 srtp5 : 5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC-3', srtp3 : 5'-GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC-3'¹⁶ 중합효소연쇄반응은 총 $20\mu\text{l}$ 로 반응시켰으며, genomic DNA 100 ng과 시발체 각각 10 pmol, dNTP 200 uM, PCR buffer 1×, Taq polymerase 1U/ $20\mu\text{l}$ (GENENMED, U.S.A), DMSO 5%(DUCHEFA, U.S.A)를 0.2ml 튜브에 넣고 잘 섞은 후 반응시켰다. PCR 조건은 최초 94°C 에서 5분간 열변성(denaturation)시킨 후, 열

변성 94°C 30초, 결합반응(annealing) 58°C 30초, 연장반응(elongation) 72°C 30초의 주기를 35회 반복한 다음, 마지막으로 72°C 에서 10분간 연장반응을 시행하였다. 5-HTTVNTR 유전자 다형성은 5'-GTCAGTATCACAGGCTGCGAGTAG-3' 과 5'-TGTTCCCTAGTCTTACGCC AGTGAA-3' 로 증폭하였다. 증합효소 연쇄반응은 DNA 100ng, primer는 각각 10pmol, 1X PCR buffer (Takara, Japan), 200μM dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Takara, Japan), 그리고 1U *rTaq* polymerase (TAKARA, Japan)을 섞어 20ul 양으로 PTC-100 thermal cycler(MJ research, MN, U.S.A.)에서 95°C에서 3분간 변성 시킨 후 94°C 30초, 65°C 1분, 72°C 1분의 주기를 3회 반복하고, 94°C 30초, 63°C 1분, 72°C 1분의 주기를 34회 반복하고 72°C에서 10분간 유지하였다.

(나) 전기영동 및 증폭산물 확인

증폭된 DNA 를 2.5% 아가로스 젤(agarose gel)에서 전기영동한 뒤 ethidium bromide(1g/ml, Sigma)로 염색하여 자외선 투광기로 띠를 확인하고 DNA 분자표식자(molecular marker)와 비교하여 유전자형을 판별하였다. 5-HTTLPR 의 유전자형은 528bp 위치에 한 개의 띠가 나타나면 l/l 유전자형으로, 484bp 위치에 한 개의 띠가 나타나면 s/s 유전자형으로, 528bp 와 484bp 위치에 각각의 띠가 나타나면 l/s 유전자형으로 판독하였다(그림 1). 5-HTTVNTR 유전자형은 DNA molecular 100bp marker 와 비교하여 STin2.12(17bp X 12 copy), STin2.10(17bp X 10 copy)의 VNTR allele 을 확인하였다.



M 1 2 3 4 5
M : 100 bp size marker
1 : 484 Homozygote(s/s)
2 : 528 Homozygote(l/l)
3 : 484 Homozygote(s/s)
4 : 484 Homozygote(s/s)
5 : 484/528 Heterozygote(l/s)

Figure 1. PCR amplification products generated with primers flanking the 5-HTTLPR from genomic DNA of major depressive disorder and control subjects. Amplified products were separated on 2.5% agarose gel and visualized by staining with ethidium bromide.

다. 통계분석

5-HTT 유전자의 유전자형(5-HTTLPR s/s, l/s, l/l; 5-HTTVNTR 10/10, 10/12, 12/12) 및 대립형질(5-HTTLPR s, l; 5-HTTVNTR 10, 12)의 환자군과 대조군과의 빈도 비교는 χ^2 검증을 통해 분석하였다. 이후 약물반응군과 비반응군으로 나누어 두 군사이의 5-HTTLPR 유전자형과 대립형질 빈도를 χ^2 검증으로 하고, 빈도수가 5 미만인 경우는 fisher's exact test 을 통해 비교하였다. 대립형질 빈도분석은 χ^2 검증외에 로지스틱 회귀분석을 이용하여 유전자형 혹은 대립형질이 치료반응을 예측할 수 있는 지 여부를 관찰하고, Odd Ratio(OR) 및 신뢰구간(Confidence Interval, CI)를 얻었다. 치료 반응 예측 인자 분석은 치료 반응을 종속변수로, 영향을 미칠 수 있는 인자를 독립변수로 하여 로지스틱 회귀분석을 이용하였다. 모든 통계 처리는 SPSS 13.0(window version, Chicago, U.S.A.)을 사용하였다.

III. 결과

1. 주요 우울장애 환자와 정상대조군 간에 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도 비교

주요 우울 장애 환자와 정상 대조군 간에 5-HTTLPR 유전자형과 대립유전자 빈도의 유의한 차이는 없었다(Table 1). 주요 우울 장애 환자에서는 남자 44 명 여자 73 명, 정상 대조군은 남자 89 명 여자 116 명으로 주요 우울 장애 환자와 정상 대조군 간에 성별은 유의한 차이가 없었다($\chi^2=1.0$, $df=1$, $p=0.30$). 두 군에서 5-HTTLPR 유전자형 각각의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium(MDD group, $p=0.87$; Control group, $p=0.75$)에 있었다. 주요 우울 장애 환자는 기분부전증(dysthymia) 23 명(19.7%), 멜랑콜리아형(melancholic type) 29 명(24%), 비전형적형(atypical type) 5 명(6.7%)이었다. 단기 치료 4 주 후 탈락 한 환자가 33 명이 있었고, 탈락한 사유로는 환자가 내원하지 않은 경우 22 명, 부작용이 8 명, 효과 불충분이 3 명이었다. 탈락한 환자들과 4 주 추적 연구에 참여한 사람과의 성별, 나이, 교육수준, 내원 초기 HAM-D 점수의 유의한 차이는 없었다.

Table 1. Genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism between patients with major depressive disorder(MDD) and normal controls

5-HTTLPR	Genotype			Allele		p
	l/l	l/s	s/s	l	S	
MDD(n=117)	5(4)	36(30)	71(60)	38(22)	134(77)	NS
Controls(n=207)	9(4)	71(34)	123(59)	82(18)	398(82)	

p: p-value, NS: not significant (Figures in parentheses indicate percentage)

2. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계

주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도의 연관성은 다음과 같다. 우울 증상을 나타내는 BDI, HAM-D, MADRS 의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의하게 연관이 있었다(Table 2). 불안 증상을 나타내는 HAM-A 의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의하게 연관이 있었으나 주관적인 불안을 나타내는 BAI 의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의한 연관이 없었다(Table 3).

Table 2. Venlafaxine treatment response on depressive symptom and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype			Allele	
	l/l	l/s	s/s	L	s
BDI					
Responder(n=42)	4(9)	18(43)	20(47)	26(31)	58(69)
Nonresponder(n=42)	1(2)	10(24)	31(74)	11(26)	69(74)
	$\chi^2=6.5$, df=2, p=0.04			$\chi^2=6.9$, df=1, p=0.01 OR=1.4, 95% CI=0.49-4.0	
HAM-D					
Responder(n=54)	4(7)	23(43)	27(50)	30(28)	74(72)
Nonresponder(n=27)	0(0)	5(19)	22(81)	5(9)	49(91)
	$\chi^2=7.9$, df=2, p=0.02			$\chi^2=7.9$, df=1, p=0.01 OR=1.8, 95% CI=0.47-7.1	
MADRS					
Responder(n=47)	2(4)	24(51)	21(45)	27(30)	63(70)
Nonresponder(n=34)	2(6)	4(12)	28(82)	8(12)	60(88)

	$\chi^2=14, df=2, p=0.01$	$\chi^2=7.4, df=1, p=0.01$ OR=1.2, 95% CI=0.38-4.0
--	---------------------------	--

OR: odd ratio; CI: confidence interval. (Figures in parentheses indicate percentage)

Table 3. Venlafaxine treatment response on anxiety symptom and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype			Allele	
	l/l	l/s	s/s	L	s
BAI					
Responder(n=47)	3(6)	19(40)	25(53)	26(55)	58(69)
Nonresponder(n=36)	2(5)	8(22)	26(72)	11(13)	69(86)
	$\chi^2=3.3, df=2, p=0.19$			$\chi^2=2.3, df=1, p=0.13$	
HAM-A					
Responder(n=52)	4(7)	23(43)	27(50)	24(28)	66(72)
Nonresponder(n=27)	0(0)	5(19)	22(81)	3(6)	51(94)
	$\chi^2=13.8, df=2, p=0.01$			$\chi^2=13, df=1, p=0.00$ OR=6.1, 95% CI=1.3-28	

OR: odd ratio; CI: confidence interval. (Figures in parentheses indicate percentage)

5-HTTLPR 유전자형을 non-s/s(l/l 혹은 l/s), s/s 유전자형으로 나누어 분석한 결과도 유사한 결과였다. 즉 우울 증상을 나타내는 BDI, HAM-D, MADRS 의 치료 반응을 non-s/s(l/l 혹은 l/s), s/s 유전자형으로 나누어 비교하여도 유의하게 연관이 있었다(Table

4). 불안 증상을 나타내는 HAM-A 의 치료 반응을 non-s/s(l/l 혹은 l/s), s/s 유전자형으로 나누어 비교한 결과 유의한 연관이 있었으나 주관적인 불안을 나타내는 BAI 의 치료 반응은 non-s/s(l/l 혹은 l/s), s/s 유전자형으로 나누어 비교한 결과 유의한 연관이 없었다(Table 5).

Table 4. Venlafaxine treatment response on depressive symptom and non-s/s(l/l or l/s) and s/s genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype	
	non-s/s(l/l or l/s)	s/s
BDI		
Responder(n=42)	22(52)	20(47)
Nonresponder(n=42)	11(26)	31(73)
$\chi^2=6.0$, df=1, p=0.01		
HAM-D		
Responder(n=54)	27(50)	27(50)
Nonresponder(n=27)	5(18)	22(81)
$\chi^2=7.4$, df=1, p=0.01		
MADRS		
Responder(n=47)	26(55)	21(44)
Nonresponder(n=34)	6(17)	28(82)
$\chi^2=11$, df=2, p=0.00		

(Figures in parentheses indicate percentage)

Table 5. Venlafaxine treatment response on anxiety symptom and non s/s(l/l or l/s) and s/s genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype	
	non-s/s(l/l or l/s)	s/s

BAI		
Responder(n=47)	22(47)	25(53)
Nonresponder(n=36)	10(28)	26(72)
$\chi^2=3.1, df=1, p=0.08$		
HAM-A		
Responder(n=54)	28(56)	24(44)
Nonresponder(n=27)	3(12)	24(88)
$\chi^2=13.6, df=1, p=0.00$		

(Figures in parentheses indicate percentage)

3. 주요 우울 장애 환자에서 관해 상태와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계

주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 으로 인한 관해 상태(HAM-D total score ≤ 7)와 5-HTTLPR 유전자형 분포 및 대립유전자의 관계는 Table 6 와 같다. 즉 5-HTTLPR 유전자형과 관해 상태는 유의한 연관이 없었으나, 5-HTTLPR 대립유전자 빈도 와 관해 상태는 유의한 연관이 있었다.

Table 6. Remission state and genotype, allele frequencies of the 5-HTTLPR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype			Allele	
	l/l	l/s	s/s	l	s
HAM-D					
Remitter(n=26) (total score ≤ 7)	2(6)	12(40)	22(53)	16(55)	34(69)
Nonremitter(n=58)	2(5)	16(22)	40(72)	19(13)	95(86)
	$\chi^2=4.0, df=2, p=0.13$			$\chi^2=4.8, df=1, p=0.02$ OR=2.3, 95% CI=1.0-5.0	

OR: odd ratio; CI: confidence interval. (Figures in parentheses indicate percentage)

4. 주요 우울 장애에서 CGI 와 GAF 점수와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와와의 관계

CGI-심각도 점수, GAF 점수와 5-HTTLPR 유전자형 분포 및 대립유전자 빈도의 유의한 연관성은 관찰되지 않았다. 하지만 CGI-변화 점수와 5-HTTLPR 유전자형 분포($\chi^2=5.9$ df=2, p=0.49), 대립유전자 빈도($\chi^2=4.0$ df=1, p=0.46, OR=3.97, 95% CI=1.1-13.8)와는 유의한 연관이 있었다.

5. 로지스틱 회귀분석을 이용한 치료 반응 예측인자 분석

로지스틱 회귀 분석을 이용하여 치료 반응 예측인자를 분석한 결과는 Table 7 과 같다. BDI의 치료 반응을 종속변수로 유전자형과 0 주 BDI, 성별, 연령을 독립 변수로 하여 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 두 변수 모두 유의한 결과를 보였다. HAM-D의 치료 반응을 종속변수로 유전자형과 0 주 HAM-D, 성별, 연령을 독립 변수로 하여 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 유전자형이 유의한 결과를 보였다. MADRS의 치료 반응을 종속변수로 유전자형과 성별, 연령, 0 주 MADRS를 독립 변수로 하여 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 유전자형과 성별이 유의한 결과를 보였다. HAM-A의 치료 반응을 종속변수로 유전자형, 성별, 연령, 0 주 HAM-A를 독립 변수로 하여 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 유전자형이 유의한 결과를 보였다.

Table 7. Prediction of venlafaxine treatment response using logistic regression analysis

Variables	R ²	Beta	df	P-value	OR
BDI					
Genotype	0.17	1.0	1	0.02	0.3
BDI-0w		0.04	1	0.03	1.0

Sex, age		0.1,0.0	1	NS	0.8,0.9
HAM-D					
Genotype		1.7	1	0.00	0.17
Sex, Age, HAM-D-0w	0.23	0.5,0.1,0.1	1	NS	1.7,0.9,1.0
MADRS					
Genotype		1.1	1	0.02	0.3
Sex, Age, MADRS-0w	0.29	1.3 0.02,0.01	1 1	0.02 NS	0.27 0.9,0.9
HAM-A					
Genotype		2.1	1	0.00	0.01
Sex, Age, HAM-A-0w	0.28	0.5,0.0,0.0	1	NS	1

OR: odd ratio, NS: not significant

6. 주요 우울 장애 환자에서 치료 반응과 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도와 의 관계

주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 치료 반응과 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도의 연관성은 다음과 같다. 우울 증상을 나타내는 BDI, HAM-D, MADRS 의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도는 유의하게 연관이 없었다. 불안증상을 나타내는 HAM-A 와 BAI 의 치료 반응도 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립 유전자 빈도와 유의하게 연관이 없었다(Table 8).

Table 8. Venlafaxine treatment response and genotype, allele frequencies of the 5-HTTVNTR polymorphism in patients with major depressive disorder

Scale	Genotype			Allele	
	10/10	10/12	12/12	10	12

BDI					
Responder(n=42)	0(0)	6(15)	36(75)	6(8)	78(92)
Nonresponder(n=39)	1(2)	6(15)	32(83)	19(22)	67(78)
	NS			NS	
HAM-D					
Responder(n=54)	0(0)	8(15)	46(85)	8(7)	100(93)
Nonresponder(n=27)	1(4)	2(7)	24(88)	4(7)	50(93)
	NS			NS	
MADRS					
Responder(n=47)	0(0)	8(17)	39(83)	8(9)	84(91)
Nonresponder(n=34)	1(3)	2(6)	31(91)	4(24)	64(76)
	NS			NS	
BAI					
Responder(n=46)	1(2)	8(17)	37(79)	10(28)	82(72)
Nonresponder(n=34)	0(0)	4(12)	30(88)	4(6)	64(94)
	NS			NS	
HAM-A					
Responder(n=52)	1(2)	6(12)	45(86)	8(15)	96(92)
Nonresponder(n=27)	0(0)	4(15)	23(85)	4(7)	50(93)
	NS			NS	

7. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 부작용과 5-HTTLPR, 5-HTTVNTR 유전자형 및 대립유전자 빈도와의 관계

신경계, 심혈관계, 눈/귀, 피부계, 비뇨생식계, 수면, 성기능, 기타 부작용과 5-HTTLPR, 5-HTTVNTR 유전자형 분포 및 대립유전자 빈도와의 연관성은 유의하지 않았다.

IV. 고찰

본 연구는 세로토닌 수송체 유전자 다형성과 이전에 연구되지 않은 SNRI 계통 약물인 venlafaxine 의 치료 반응과의 연관성을 알아보기 위해 시행되었다. 세로토닌 수송체 유전자 다형성은 SNRI 보다 앞선 항우울제인 SSRI 의 치료 반응과 연관성이 시사되었고, 다른 약물 반응을 예측할 수 있는 후보 유전자로 기대를 받아 왔다. SSRI 와 같은 약물의 기전은 아니지만 SNRI 도 세로토닌 수송체에서 재흡수를 억제하는 기전이 있기 때문에 치료 반응이 세로토닌 수송체 유전자 다형성과 연관이 있을 수 있을 것이라는 가능성이 제시되었고, 이를 검증하기 위하여 본 연구가 시도되었다.

주요 우울 장애와 정상 대조군 간의 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도를 비교 한 결과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 국내에서는 이 연관이 보고된 적도 없고, 국외에서 5-HTTLPR 유전자형 및 대립 유전자 빈도가 유의한 차이가 없다는 이전 보고한 연구들과 일치하는 소견이다.³² 이는 주요 우울 장애도 정상인과 마찬가지로의 5-HTTLPR 유전자형 분포 및 대립유전자의 빈도를 가진다는 것을 시사하는 것이며, 우울 장애 환자에서 유전자 다형성에 따른 약물의 치료 반응의 차이가 있다면, 유전자 다형성과 약물의 치료 반응 간에 연관이 있을 수 있다는 가능성을 시사하는 조건이 될 수 있다.

5-HTTLPR 유전자형 분포와 대립형질의 빈도가 venlafaxine 의 치료 반응과 유의한 연관성을 보이는 것으로 나타났다. 그러나 예측과는 달리, 대립유전자 빈도 분석에서 좋은 치료 반응을 보인 우울 장애 환자에서 나쁜 치료 반응을 보인 환자 보다 1-대립형질이 유의하게 더 흔한 것으로 나타났다. 특히 BDI, HAM-D, MADRS 등 우울 장애의 우울 증상을 나타내는 척도들을 이용하여 치료 반응을 측정했을 때 1-대립형질이 더 흔한 것으로 나타났다. 그리고 l/l 유전자형과 l/s 유전자형을 한 그룹으로, 그리고 s/s 유전자형을 한 그룹으로 나누어 치료 반응의 빈도를 비교해 보아도 1-대립형질이 포함되어 있는 l/l, l/s 유전자형 그룹이 s/s 유전자형 그룹보다 치료 반응이 유의하게 더 좋았다.

이는 이전에 서구와 동양에서 SSRI 의 치료 반응이 1-대립형질과 연관이 있음을 시사한 여러 보고들^{10,11,12,15,16,17} 과 일치하는 소견이다.

이 기전은 다음과 같이 추정되고 있다.

세로토닌 수송체의 효율성(efficiency), kinase 유전자 발현, 사이토카인의 상호작용으로 인해 1-대립형질이 SRIs 에 반응이 좋을 것으로 추정된다.³³ 근거는 다음과 같다. 대립유전자의 차이는 림프아세포(lymphoblast)를 대상으로 한 실험에서 세로토닌의 수송 능력이 1-대립형질 세포에서 s-대립형질 세포보다 2 배 증가시킨다고 하며,⁸ 세로토닌 수송체 유전자를 부호화하는 혈장 혈소판 에서도 비슷한 소견이 관찰된다.³⁴ 또한 1-대립형질이 s-대립형질보다 유전자 발현이 많을 뿐 아니라 protein kinase C(PKC)와 protein kinase A(PKA)를 통한 인산화 자극에 보다 더 반응하여 유전자 발현을 보다 더 증가시킨다는 것⁸ 이 보고 되었다. 또한 s-대립형질에서는 세로토닌 수송능력의 최대치를 나타내는 Vmax 가 낮게 보고되었다.^{35,36} 따라서 5-HTTLPR 의 1-대립형질이 s-대립형질보다 유전적인 발현을 더 증가시켜 세로토닌 수송체를 더 활성화시키는 것으로 추정할 수 있다.

세로토닌 수송체 유전자 다형성은 유전자 발현뿐 아니라 세로토닌 수송체의 효율성에도 영향을 미친다. 세로토닌 수송체의 효율성은 Vmax/Km 으로 수송체와 기질(substrate) 복합체의 형성 기능을 나타낸다. Rausch 는 51 명의 환자들에게 18 주 동안 fluoxetine 을 투여하여 5-HTTLPR 의 유전자 다형성이 세로토닌 수송체의 효율에 영향을 미친다는 보고를 하였는데, 회귀 분석을 시행한 결과 나이, 인종, 성별과 우울증의 심각성은 세로토닌 효율성에 영향을 미치지 않았으나 s-대립형질 대상자들은 치료 동안 낮은 세로토닌 수송체 효율을 보였다.³³

세로토닌 수송체를 PKC 나 PKA 등에 의해 인산화시키게 되면 세로토닌 수송 속도가 떨어진다.³⁷ 이는 빠르게 이차 전령(secondary messenger)에 반응하여, 기질에는 작용하지 않고 수송체에만 작용하여 세로토닌 수송을 막는 작용을 한다. 세로토닌은 PKC 에 의한 세로토닌 인산화를 방지하는데, SSRI 는 이 작용을

방지하여 세로토닌 수송속도를 감소시키는 작용을 하게 된다.³⁴ 5-HTTLPR 의 s-대립형질은 PKA 나 PKA 에 덜 반응하는 편으로 항우울제의 반응이나 부작용의 변화를 일으킬 것⁷으로 추정된다.

전염증 사이토카인(Proinflammatory cytokine)은 세로토닌 수송체 발현을 촉진시키고 반염증 사이토카인(antiinflammatory cytokine)은 세로토닌 수송체 발현을 억제하는 경향이 있는데,³⁸ 5-HTTLPR 의 l-대립형질의 존재하에서 사이토카인이 이를 조절할 수 있다고 알려지고 있다. SRIs 는 전염증 사이토카인을 억제하는 역할을 하여 세로토닌 수송체의 변화를 일으키는 것으로 보고되고 있다.³⁹

이렇게 세로토닌 수송체 유전자 다형성이 유전자 발현뿐 아니라 수송체의 효율성, kinase 의 활성화, 사이토카인에 복합적으로 작용하여 세로토닌 수송체에 약물이 작용하는데 기여하는 것으로 알려지고 있다.

그러나 국내의 일부 보고⁴⁰ 와 인종적으로 비슷한 일본에서의 보고⁴¹ 는 s-대립형질이 많을 수록 좋은 치료 반응을 보이고 높은 Vmax 와 연관되어 있다고 주장한다. 그러나 상기 아시아권 보고들은 상대적으로 적은 대상자 수를 가지고 있기 때문에(N=120, N=80), 많은 환자들을 대상으로 하는 검증력(power)을 가진 연구가 있어야 이 불일치를 검증할 수 있다. 따라서 본 연구의 결과도 상대적으로 적은 대상자 수를 가지고 있지만 이 결과 또한 편향되었다고 할 증거도 없는 것이 사실이다. 따라서 국내에서 광범위한 환자를 대상으로 하는 후속 연구가 필요하다고 하겠다.

그밖에, 이전 연구와 결과가 일치하지 않는 것에 대해서는 다음과 같이 생각할 수 있을 것이다. 첫째, SNRI 가 노르에피네프린 작용이 부가되어 있는 등 다른 SRIs 약물과 기전이 다르기 때문에, 치료 반응도 다르게 나타날 수 있다. 둘째는 5-HTTLPR 유전자와 상대적으로 가까운 곳에 있는 유전자가 실제 치료 반응을 달리 할 가능성이 있는데, 5-HTTLPR 이 이 반응을 유도한 것처럼 보일 수 있는, 이른 바 연관 불균형(linkage disequilibrium)으로 불일치가 있을 수 있다. 셋째, 이전 연구에 포함되었던 주요 우울 장애의 아형(subtype), 심각도(severity)가 본 연구와 다르기 때문에 다른 결과를 낳았을 가능성이 있다. 넷째, 이전 연구의 치료 기간, 치료

반응에 대한 측정 시기 등이 다르기 때문에 다른 결과를 낳았을 가능성이 있다.

불안 증상을 측정한 HAM-A 와 BAI 의 치료 반응과 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도의 비교에서는 일치되지 않는 결과를 보였다. 즉 치료자가 객관적으로 측정하는 HAM-A 는 5-HTTLPR 유전자형과 대립유전자 빈도에서 1-대립형질이 혼할수록 HAM-A 의 치료 반응이 좋았으나, 환자 본인이 주관적인 불안도를 보고하는 BAI 의 경우는 유전자형과 대립 유전자 빈도의 차이에 따른 효과 크지 않을 수 있다는 결과를 보였다. 1-대립형질이 환자의 주관적 불안 증상은 연관이 없으나 치료자가 평가하는 불안 증상 평가는 긍정적으로 보는 현상과 연관이 있을 가능성을 시사한다. 이는 이후 장기적으로 추적 관찰하는 연구가 지속되어 추후에 검증되어야 할 점이기도 하다.

관해 상태도 대립유전자 빈도 분석에서 관해 상태에서 1-대립형질이 더 흔한 것으로 보고되었다. 즉 1-대립형질을 가진 사람이 venlafaxine 4 주 치료 후에 관해 상태에 이르게 할 가능성이 더 높을 것을 시사하는 점이기도 하다. 이 결과 또한 상기 기전과 연관이 있을 것으로 추정된다.

GAF 와 CGI-심각도 점수와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와 유의한 연관이 관찰되지 않았지만 CGI-변화 점수와 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와 유의한 연관이 관찰되었다. 이는 첫째로 GAF 와 CGI 점수 측정이 임상가의 인상에 좌우 되는 경향이 있어 정확도가 떨어지기 때문에 일어났을 가능성이 있으며, 둘째는 GAF 와 CGI-심각도 점수가 절대적인 점수로 기준시점(Baseline) 점수로부터 변화를 반영하지 않기 때문에 유의한 연관이 관찰되지 않았을 가능성이 존재한다. 이에 반해 CGI-변화 점수가 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와 유의한 연관을 나타낸 것은 기준시점 점수로부터의 상태 변화를 반영하기 때문으로 추정된다.

치료 반응에 유전자형이 유의한 예측인자가 될 수 있을지를 고려해 보기 위해 로지스틱 회귀 분석을 시행한 결과, 4 가지 우울 불안 척도(HAM-D, HAM-A, BDI, MADRS)의 치료 반응 위험인자로

유전자형이 유의한 결과를 보였다. 이는 연구에 참여한 환자의 수가 적기는 하나, 유전자형이 치료 반응을 예측하는 데 역할을 할 수 있음을 시사하는 결과이기도 하다. 하지만 유전자형 분석이 임상적으로 시행되기 위해서는 대규모 연구가 선행되어야 하며, 이를 경제적 혹은 사회적으로 뒷받침할 수 있는 제도적 장치도 필요하다.

Venlafaxine 부작용은 5-HTTLPR 유전자형 및 대립유전자 빈도와 유의한 연관이 관찰되지 않았다. 이는 이전에 다른 연구들에서 5-HTTLPR 과 SRIs 의 부작용이 유의한 연관성이 없다고 보고한 이전 연구⁴² 와 일치하는 소견이다. 따라서 이 결과는 venlafaxine 의 부작용이 5-HTTLPR 유전자 수준 혹은 5-HTTLPR 의 약물역동하에서 일어나는 것이 아닐 수 있음을 시사한다.

5-HTTVNTR 은 venlafaxine 치료 반응과 유의한 연관이 없었다. 이는 이전 Ito 등⁴⁴ 의 연구와 일치하는 소견이다. 5-HTTVNTR 은 전사강화자(transcriptional enhancer)로 작용할 가능성이 제기되어 왔는데, 본 연구의 결과는 이 기능적인 차이가 약물의 치료 반응을 일으킬 만큼 큰 영향을 가지지 못할 가능성을 시사한다.

본 연구의 한계점은 다음과 같다.

첫째, 치료 반응을 4 주에 국한되어 측정했기 때문에 단기 치료 반응은 측정할 수 있었으나 장기 치료 반응은 측정하지 못한 단점이 있다. 8 주에도 치료 반응을 측정하였으나 탈락율이 높아 대상자가 적어(N=33)이를 분석에 포함시키지 못하였다. 장기 치료 반응을 측정할 후속 연구가 필요하다고 하겠다. 그러나 최근의 SRIs 에 대한 체계적인 분석⁴⁵ 에 따르면 조기에 나타나는 치료 반응이 있으면 그 반응이 6 주 이상의 효과로 이어진다는 가설이 있어 4 주의 치료 반응도 의미 있는 면이 있을 것으로 사료된다.

둘째, 세로토닌 수송체 유전자 다형성 중 대표적인 5-HTTLPR 과 5-HTTVNTR 만 분석하였다는 점이다. Nakamura 등⁴³ 의 각 allele 의 variant 에 대한 분석이나, haplotype 으로 분석을 시행하면 연구의 신뢰성 및 수준을 높일 수 있을 것으로 추정된다.

셋째, 4 주를 모두 마친 환자 숫자(N=86)가 상대적으로 적다. 적은 대상자는 신뢰 구간을 넓게 만들고 유전자형과 표현형사이의 연관을

알아낼 검증력(power)이 떨어진다. 더 많은 대상자를 대상으로 한 연구가 필요하다.

V. 결론

본 연구의 결과는 주요 우울 장애 환자에서 5-HTTLPR 유전자형 분포와 대립형질의 빈도가 venlafaxine 의 치료 반응과 유의한 연관성을 나타냈다. 즉 non-s/s 유전자형이 s/s 유전자형에 비해 venlafaxine 의 치료 반응이 더 좋았으며, 1-대립형질의 빈도가 높을수록 venlafaxine 의 치료 반응이 더 좋았다. 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 에 의한 관해 상태도 대립형질의 빈도 분석에서 1-대립형질의 빈도가 높았다.

상기 결과는 주요 우울 장애 환자에서 venlafaxine 을 사용할 경우 1-대립형질이 치료 반응을 높일 수 있는 예측인자가 될 수 있음을 시사한다. 그러나, 상기 결과가 임상적으로 적용되기 위해서는 광범위한 연구에서 임상 결과가 뒷받침되어야 한다.

참고문헌

1. Kelsey, JE, Nemeroff CB. Selective Serotonin Reuptake Inhibitor. In Comprehensive Textbook of Psychiatry. Philadelphia, PA Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p2432-54.
2. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. Am J Hum Genet 1997;60:284-95.
3. Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, et al. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. Pharmacogenetics 1997;7:193-202.
4. Sindrup SH, Brosen K, Gram LF. Pharmacokinetics of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine: nonlinearity and relation to the sparteine oxidation polymorphism. Clin Pharmacol Ther 1992;51:288-95.
5. DeVane CL, Markowitz JS, Liston HL, Risch SC. Charleston Antidepressant Drug Interactions Surveillance Program (CADISP). Psychopharmacol Bull 2001;35:50-61.
6. Murphy GM Jr, Kremer C, Rodrigues HE, Schatzberg AF. Pharmacogenetics of antidepressant medication intolerance. Am J Psychiatry 2003;160:1830-5.
7. Heils A, Mossner R, Lesch KP. The human serotonin transporter gene polymorphism—basic research and clinical implications. J Neural Transm 1997;104:1005-14.

8. Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg B, Petri S, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996;274:1527-31.
9. Ogilvie AD, Battersby S, Bubb VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM, et al. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* 1995;347:731-3.
10. Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M. Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 1998;3:508-11.
11. Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, Mazumdar S, Miller M, Sweet RA, et al. Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 2000;23:587-90.
12. Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E. Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 2000;20:105-7.
13. Kim DK, Lim SW, Lee S, Sohn SE, Kim S, Hahn CG, et al. Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *Neuroreport* 2000;11:215-9.

14. Yoshida K, Ito K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, et al. Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002;26:383-6.
15. Kato M, Ikenaga Y, Wakeno M, Okugawa G, Nobuhara K, Fukuda T, et al. Controlled clinical comparison of paroxetine and fluvoxamine considering the serotonin transporter promoter polymorphism. *Int Clin Psychopharmacol* 2005;20:151-6.
16. Yu YW, Tsai SJ, Chen TJ, Lin CH, Hong CJ. Association study of the serotonin transporter promoter polymorphism and symptomatology and antidepressant response in major depressive disorders. *Mol Psychiatry* 2002;7:1115-9.
17. Lee MS, Lee HY, Lee HJ, Ryu SH. Serotonin transporter promoter gene polymorphism and long-term outcome of antidepressant treatment. *Psychiatr Genet* 2004;14:111-5
18. Mundo E, Walker M, Cate T, Macciardi F, Kennedy JL. The role of serotonin transporter protein gene in antidepressant-induced mania in bipolar disorder: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry* 2001;58:539-44.
19. Yoshida K, Takahashi H, Higuchi H, Kamata M, Ito K, Sato K, et al. Prediction of antidepressant response to milnacipran by norepinephrine transporter gene polymorphisms. *Am J Psychiatry* 2004;161:1575-80.

20. Bolden-Watson C, Richelson E. Blockade by newly-developed antidepressants of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes. *Life Sci* 1993;52:1023-9.
21. Muth EA, Haskins JT, Moyer JA, Husbands GEM, Nielson St, Sigg EB. Antidepressant Biochemical profile of the novel bicyclic compound Wy45,030, an ethyl cyclohexanol derivative. *Biochem Pharmacol* 35:4493-7.
22. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 1960;4:561-91.
23. 한홍무, 염태호, 신영우, 김교현, 윤도준, 정근재. Beck Depression Inventory 의 한국판 표준화 연구. *신경정신의학* 1986;25:487-502.
24. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA. An inventory of measuring clinical anxiety: Psychometric properties. *J Consult Clin Psychol* 1998;56:893-7.
25. 이영호, 송종용. BDI, SDS, MMPI-D 척도의 신뢰도 및 타당도에 대한 연구. *한국심리학회지:임상* 1991;10:98-113.
26. Hamilton M. Rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;23:56-62.
27. Montgomery A, Asberg M. A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry* 1979;134: 382-9.
28. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol* 32:50-5.

29. Guy W. ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, revised. US Department of Health, Education, and Welfare ADM. Washington DC: Superintendent of Documents, US Government Printing Office; 1976. p.76-338.
30. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV(TM), 4th ed. Washington DC, USA: American Psychiatric Association; 1999.
31. Bertilsson L, Dahl ML, Dalen P, Al-Shurbaji A. Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* 2002;53:111-22.
31. Vanderkooy JD, Kennedy SH, Bagby RM. Antidepressant Side Effects in Depression Patients Treated in A Naturalistic Setting: A Study of Bupropion, Moclobemide, Paroxetine, Sertraline, and Venlafaxine. *Can J Psychiatry* 2002;47:174-80.
32. Levinson DF. The genetics of depression: a review. *Biol Psychiatry* 2006;60:84-92.
33. Rausch JL, Johnson ME, Fei Y, Li J, Shendarkar N, Hobby HM, et al. Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. *Biol Psychiatry* 2002;51:723-32.
34. Ramamoorthy S, Blakely RD. Phosphorylation and sequestration of serotonin transporters differentially modulated by psychostimulants. *Science* 1999;285:763-6.

35. 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;88:83-7.
36. Nobile M, Begni B, Giorda R, Frigerio A, Marino C, Molteni M, et al. Effects of serotonin transporter promoter genotype on platelet serotonin transporter functionality in depressed children and adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1999;38:1396-402.
37. Myers CL, Lazo JS Pitt BR. Translocation of protein kinase C is associated with inhibition of 5-HT uptake by cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1989;257 Suppl;253-8.
38. Mossner R, Daniel S, Schmitt A, Albert D, Lesch KP. Modulation of serotonin transporter function by interleukin-4. *Life Sci* 2001;12:873-80.
39. Kubera M, Lin AH, Kenis G, Bosmans E, Van Bockstaele D, Maes M. Anti-Inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon-gamma/interleukin-10 production ratio. *J Clin Psychopharmacol* 2001;21:199-206.
40. Kim DK, Seo MY, Lim S, Kim H, Kim S. Serotonin transporter gene polymorphisms and its phenotypic characteristics expressed in platelet [3H]-serotonin uptake study in Korean depressed patients. *J Korean Neuropsychiatr Assoc* 2003;42:54-60.
41. Yoshida K, Ito K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, et al. Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to

fluvoxamine in Japanese depressed patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002;26:383-6.

42. Takahashi H, Yoshida K, Ito K, Sato K, Kamata M, Higuchi H, et al. No association between the serotonergic polymorphisms and incidence of nausea induced by fluvoxamine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 2002;12:477-81.
43. Nakamura M, Ueno S, Sano A, Tanabe H. The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Mol Psychiatry* 2000;5:32-8.
44. Ito K, Yoshida K, Sato K, Takahashi H, Kamata M, Higuchi H, et al. A variable number of tandem repeats in the serotonin transporter gene does not affect the antidepressant response to fluvoxamine. *Psychiatry Res* 2002;111:235-9.
45. Taylor MJ, Freemantle N, Geddes JR, Bhagwagar Z. Early onset of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant action: systematic review and meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63(11):1217-23.

Abstract

Serotonin transporter gene polymorphisms associated with the treatment response of serotonin norepinephrine reuptake inhibitor

Lee, Sang Hyuk

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hong Shick Lee)

Serotonin transporter gene polymorphism has been expected to be one of the predictive factors of treatment response to serotonin reuptake inhibitors(SRIs). Especially serotonin transporter gene-linked polymorphic region(5-HTTLPR) polymorphism seems to be associated with treatment response to selective serotonin reuptake inhibitor in western countries. But, These findings are shown inconsistently in Asia. Furthermore, There is no report of this association with serotonin norepinephrine reuptake inhibitor, venlafaxine. Therefore, Objective of this study was to examine whether serotonin transporter gene polymorphisms were associated with venlafaxine treatment response.

117 Korean patients with major depressive disorder and 207 controls were included in this study. Psychiatric diagnoses were confirmed by two psychiatrists on the basis of the Structured Clinical Interview for DSM-IV. The patient had taken 75mg of venlafaxine XR(extended release) for a week and 150 mg of venlafaxine for next 3 weeks. All patients were evaluated at baseline and 1, 4 week with Hamilton depression rating

scale(HAM-D), Montgomery Åsberg depression rating scale(MADRS), Hamilton anxiety rating scale(HAM-A), Beck depression inventory(BDI), Beck anxiety inventory(BAI).

We found that there were no significant difference in 5-HTTLPR genotype, allele frequency between patient with depressive disorder and normal controls. In patients with major depressive disorder, 1) Treatment response on depressive symptom(BDI, HAM-D, MADRS) to venlafaxine at 4 week was associated with 5-HTTLPR l-allele, non-s/s(l/l or l/s) genotype 2) Treatment response on anxiety symptom(HAM-A) to venlafaxine at 4 week was associated with 5-HTTLPR l-allele. 3) Remission state after venlafaxine treatment at 4 week was associated with 5-HTTLPR l allele. 4) Side effect to venlafaxine was not associated with 5-HTTLPR genotype, allele frequency. 5) Multiple regression analysis showed that genotype and l-allele could be predictive factor of venlafaxine treatment response on depressive symptom. There was no association between 2 intron 5-HTTVNTR(variable number of tandem repeat) polymorphism and venlafaxine treatment response.

In conclusion, 5-HTTLPR l-allele can be associated with venlafaxine treatment response. but Further studies are required to examine this association.

Key words: serotonin transporter, polymorphism, major depressive disorder, venlafaxine, treatment response