

한국인 주의력결핍 과잉행동장애와 Dopamine Beta Hydroxylase 유전자의 관련성 : 가족기반 연구 및 환자-대조군 연구*

A FAMILY-BASED AND CASE-CONTROL ASSOCIATION STUDY OF THE DOPAMINE BETA HYDROXYLASE GENE POLYMORPHISM IN ATTENTION DEFICIT HYPERACTIVITY DISORDER

박태원^{1†} · 김봉년² · 임명호³ · 유희정⁴ · 강대희⁵ · 조수철²

Tae Won Park, M.D.,^{1†} Boong Nyun Kim, M.D.,² Myung-Ho Im, M.D.,³ Hee Jeong Yoo, M.D.,⁴ Daehee Kang, M.D.,⁵ Soo Churl Cho, M.D.²

목 적 : 이번 연구는 최근 주목을 받고 있는 dopamine beta hydroxylase 유전자의 Taq I 절단부위 다형성과 주의력결핍 과잉행동장애 발병 간에 어떤 관련성이 있는지를 알아보기 위한 연구이다.

방 법 : 주의력결핍 과잉행동장애 아동 106명을 환자군으로 선정하고, 환자군과 성별, 연령별로 빈도짝짓기된 일반 아동 212명을 대조군으로 하는 환자-대조군 연구를 실시했다. 아울러 환자군과 부모를 대상으로 가족기반 연구를 병행했다.

결 과 : 환자-대조군 연구에서는 환자군과 대조군 간의 유전자형이나 대립유전자 분포에 있어 유의한 차이를 발견하지 못했다. 그러나 가족기반 연구에서는 대립유전자 A1의 선택 전달이 관찰되었다.

결 론 : 이번 연구를 통해 주의력결핍 과잉행동장애와 dopamine beta hydroxylase 유전자의 Taq I 절단부위 다형성 간의 관련성을 부분적으로 확인했으나 이를 뒷받침하기 위해 서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

중심 단어 : 주의력결핍 과잉행동장애 · 다형성 · Dopamine beta hydroxylase.

서 론

주의력결핍 과잉행동장애(Attention Deficit Hyperactivity Disorder)는 소아청소년 정신과 내원 환자 중 가장 많은 비중을 차지하는 질환이다. DSM-IV¹⁾ 진단체계를 기준으로 7세 이전에 시작된 부주의, 충동성, 과잉 행동 등을 근거로 진단하는데, 주의력, 실행 기능, 조직적인 사고능력의 결손과 행동을 조절하는 능력의 결함 때문에 학습능력 저하와 많은 행동 문제를 동반한다. 학령기 아동의 약 3~5%에서 이

질환을 앓고 있으며, 일반적으로 여자보다 남자에서 약 3~5배 정도 많이 발병한다고 알려져 있다¹⁾. 국내 초등학생을 대상으로 시행했던 한 연구에서는 4~5%의 유병률을 보고했다²⁾.

주의력결핍 과잉행동장애의 원인에 대해 구체적으로 알려진 바는 적지만, 일반적으로 환경적 원인이나 심리적 원인보다는 기질적 원인이 크게 작용한다고 알려져 있다³⁾. 일반 인구에 비해 환자군에서는 상대적으로 높은 주의력결핍 과잉행동장애 가족력을 보이고 있다⁴⁻⁷⁾. 쌍생아 연구에서 나타난 주의력결핍 과잉행동장애의 평균 유전율(heritability)은

*이 논문은 2003년도 전북대학교 지원 연구비에 의하여 연구되었음.

¹⁾전북대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, College of Medicine, Chonbuk National University, Jeonju

²⁾서울대학교 의과대학 신경정신과학교실(소아·청소년분과) Division of Child & Adolescent Psychiatry, Department of Psychiatry, College of Medicine, Seoul National University, Seoul

³⁾단국대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, College of Medicine, Dankook University, Cheonan

⁴⁾경상대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju

⁵⁾서울대학교 의과대학 예방의학교실 Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Seoul National University, Seoul

†교신저자 : 박태원, 561-712 전북 전주시 덕진구 금암동 634-18 전북대학교 의과대학 정신과학교실

전화 : (063) 250-2028 · 전송 : (063) 275-3157 · E-mail : ptaewon@chonbuk.ac.kr

대략 0.75~0.80 정도인데, 최근에는 0.85~0.95로 이전보다 높게 보고되는 편이다⁸⁻¹⁰.

분자유전학 분야가 발달하면서 주의력결핍 과잉행동장애의 유전적 원인에 대한 연구도 활발하게 진행되고 있다. 그중 가장 활발하게 진행되고 있는 분야는 도파민계 조절 유전자에 대한 연구이다. 도파민 수송체(dopamine transporter : DAT)는 신경 시냅스 내에서 도파민 재흡수를 담당하는 단백질인데, 도파민 수송체를 코딩하는 유전자를 제거한 쥐(dopamine transporter gene knock mouse : DAT-KO mice)나 알코올로 도파민계를 파괴한 쥐 등에서는 주의력결핍 과잉행동장애와 유사한 인지 및 행동장애 소견을 보였다. 주의력결핍 과잉행동장애 환자의 뇌 영상 연구에서도 도파민계 신경망인 전전두엽-기저핵의 구조적/기능적 이상이 비교적 일관되게 보고되고 있다¹¹.

도파민계 후보유전자(candidate gene)로는 도파민 생성효소인 tyrosine hydroxylase (TH)와 dopa decarboxylase (DD), 5가지 유형의 도파민 수용체(dopamine receptor : D1-D5), 도파민 분해효소인 monoamine oxidase (MAO)와 catechol-O-methyltransferase (COMT), 시냅스 내 도파민 재흡수 운반을 담당하는 도파민 수송체(DAT), 시냅스 내 도파민 분비에 작용하는 synaptosomal associated protein of 25kDa (SNAP-25), 도파민에서 노르아드레날린으로 전환되는 과정을 담당하는 효소인 dopamine-β-hydroxylase (DBH) 등에 대한 유전자가 있으며 각각에 대해서는 다양한 형태의 유전 연구가 진행 중에 있다.

Dopamine beta hydroxylase (DBH)는 도파민을 노르에피네프린으로 대사시키는 과정에 작용하는 효소이다. 기존 연구에서는 감소된 체액의 DBH 농도가 정신분열병, 정신병적 우울증, 행실장애 등과 같은 다양한 정신과 질환의 발생과 관련된 것으로 추정하고 있다^{12,13}. DBH 유전자는 염색체 9q34에 위치하며 ABO 혈액형 유전자와 연관되어(linked) 있는 것으로 알려져 있다.

DBH 유전자의 여러 다형성 중에서, Taq I 효소에 의한 절단부위 다형성은 아직 그 구체적 기능이 알려져 있지 않다. Comings 등^{12,14}에 의해 주의력결핍 과잉행동장애와 DBH 유전자의 Taq I 효소 절단부위 다형성의 관련성이 처음 제기되었는데, Taq I 절단부위가 없는 대립유전자(대립유전자 B 1)가 주의력결핍 과잉행동장애 발병과 관련된다고 보고했다. 그러나 Comings 등^{12,14}의 연구는 그 대상자 수도 적었고, 뚜렛 장애를 동반한 주의력결핍 과잉행동장애에 대해서만 조사했기 때문에, 주의력결핍 과잉행동장애 환자만을 대상으로 했던 이후의 연구들과는 많은 차이가 있다. Comings 등의 연구 이후, 여러 연구에서 Taq I 절단부위 다형성이

주의력결핍 과잉행동장애 발병에 관여한다고 보고했다¹⁵⁻¹⁹ 이러한 연구들의 대부분은 가족기반 연구(family based study)였고 Smith 등¹⁸의 연구만이 환자-대조군 연구였다.

이번 연구는 최근 주의력결핍 과잉행동장애와 관련성이 제기되고 있는 DBH 유전자의 Taq I 절단부위 다형성이 한국인 주의력결핍 과잉행동장애의 발병에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위한 환자-대조군 연구 및 가족기반 연구이다. 본 연구의 목적은, DBH 유전자의 Taq I 절단부위 다형성이 한국인 주의력결핍 과잉행동장애 환자군과 대조군에서 어떤 분포를 보이는지를 살펴보고, 성과 연령의 영향을 보정한 환자-대조군 연구에서 DBH 유전자 다형성이 주의력결핍 과잉행동장애 발병에 관련되는지와 그 관련성 정도를 추정하고, 아울러 각각의 대립유전자가 환자의 가족 내에서 어떻게 전달되는지를 알아보기 위함이다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

1) 환자군 선정

서울과 지방 소재의 대학병원(서울대학병원, 경상대학병원, 단국대학병원, 전북대학병원) 소아 정신과 외래를 방문한 주의력결핍 과잉행동장애 소아청소년을 대상으로 하여 다음과 같은 선정과정을 시행했다.

(1) 검사도구

① 코너스 부모용 평가 척도(Conners Rating Scale for Parents)

② 한국판 아동 행동 조사표(Korean Child Behavior Checklist : 이하 K-CBCL) : 부모 평정을 통해 아동의 문제 행동과 사회적응능력을 포괄적으로 평가하는 척도로 총 113개의 문제 행동을 각각 3점 척도로 평정하도록 되어 있다. 오경자 등²⁰에 의해 표준화된 K-CBCL을 사용하였다.

③ 한국판 웨슬러 아동지능검사(Korean Educational Development Institute-Wechsler Intelligence Scale for Children : KEDI-WISC)

④ 주의력장애 진단시스템(Attention-deficit Diagnostic System : ADS) : 홍강의 등²¹이 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(omission 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(2배의 표준편차 점수)이상인 경우에는 주의력결핍 과잉행동장애가 의심되는 것으로 간주할 수 있다²²⁾. 본 연구에 참가했던 대학 병원은 모두 ADS version 1.0을 이용해 평가를 시행했다.

⑤ 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 등²³⁾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. Kim 등²⁴⁾에 의해 K-SADS-PL-K에 대한 타당도 및 신뢰도 연구가 시행되었는데, 주의력결핍 과잉행동장애, 틱장애, 적대적 반항장애 등에 대해서는 높은 신뢰도와 타당도를 보였다.

(2) 선정과정

소아정신과 전문의에 의해 DSM-IV 진단체계에 따라 주의력결핍 과잉행동장애로 진단받은 7~14세 아동을 일차적인 대상으로 선정했다. 코너스 부모용 평가척도, 한국판 아동 행동평가조사표 등의 부모용 자가보고 설문검사를 이용하여 임상 특징을 확인했으며, K-SADS-PL-K를 통해 주의력결핍 과잉행동장애를 진단했다.

(3) 제외기준

ADS 검사 상 누락 오류, 오경보 오류, 정반응시간, 정반응시간표준편차 등 4개의 범주 중 이상소견(2배의 표준편차 : T 점수 70점 이상)이 하나도 관찰되지 않는 경우, KEDI-WISC 검사 상 지능 지수 70 이하인 경우, 현병력 및 과거력에서 자폐증이나 주요 내과적/신경과적 질환의 병력을 보이는 경우, 생물학적인 부모가 없는 경우는 연구 대상에서 제외했다.

2) 부모군 선정

주의력결핍 과잉행동장애 아동의 생물학적 부모를 대상으로 선정했다.

3) 대조군 선정

대조군은 서울 시내 초등학교 한 곳과 전주 시내 초등학교 한 곳의 학생 480명을 대상으로 하여 다음과 같은 선별검사와 기준을 통해 서울 지역 300명, 전주지역 150명 등 450명을 일차적으로 선정했다.

(1) 부모 설문 조사 및 담임교사와의 전화 상담

주요 내과적/신경과적/정신과적 과거 병력을 평가하기 위해 부모를 대상으로 자체 제작한 설문 조사를 실시했다. 담임교사와의 전화 상담이 가능했던 경우에는 아동이 지속적이고 심각한 행동문제 보였는지를 조사했다.

(2) 코너스 부모용 단축평정척도

코너스 부모용 평가 척도를 선별검사 목적으로 사용하기 위해 충동성-과잉운동 요인으로 구성된 10개 문항으로 축약한 것으로 충동성-과잉운동 요인에 대해 3점 척도로 평정할 수 있도록 구성되었다. 미국의 주의력결핍 과잉행동장애 연구에서는 총 점수 15점을 주의력결핍 과잉행동장애의 선정기준으로 삼고 있다. 국내에서 수집된 자료에 의하면 초등학교 연령층에서 평균에 표준편차의 두 배를 가산한 수치는 16점으로 전체 남아의 5.7%, 여아의 2.7%에서 이에 해당되었다²⁵⁾.

(3) 아동 지능검사

Sattler²⁶⁾가 제안했던 평가방법을 사용했다. KEDI-WISC 지능평가의 하위 검사 중 토막짜기와 어휘문제로 전체 지능을 추정하는 방법으로, 언어성 검사에서는 어휘문제가, 동작성 검사에서는 토막짜기 소검사가 전체 지능 지수와 상관성이 가장 높은 것으로 알려져 있다.

(4) 제외 기준

코너스 부모용 단축평정척도 상 총점이 16점 이상인 경우, 지능평가 상 70 이하인 경우, 부모 설문 조사를 통해 주요 내과적/신경과적/정신과적 질환이 있는 경우, 담임교사에 의해 지속적이고 심각한 문제 행동이 있다고 보고되었던 경우 등은 연구 대상에서 제외했다.

4) 최종 대상군 선정

상기 과정을 거쳐 최종적으로 106명의 환자군이 선정되었다. 450명의 초등학생 중에서 환자군과 성별, 연령대별 1:2 빈도짜깁기를 통해 212명의 대조군을 선정했다. 환자군의 생물학적 부모 184명이 부모군으로 선정되었다. 본 연구의 목적과 방법에 대해 전반적인 설명을 시행했고 이에 대해 서면 동의를 했던 경우에만 연구 대상에 포함시켰다.

2. 유전자 분석

1) 혈액 채취 및 유전자 분리

대상 환자군과 부모, 정상 대조군을 대상으로 전주 정맥에서 2~4ml의 말초 혈액을 EDTA tube에 채취한 후 -20℃에 냉동 보관했다. 이를 녹인 후, Generation Capture Plate Kit(Gentra, Minneapolis, USA)를 사용하여 제조사의 프

로토콜에 따라 유전자를 분리했다.

2) DBH 유전자 분석

DBH 유전자의 TaqI 효소 절단부위 다형성 위치를 증폭시키기 위하여 사용된 시발체(primer)의 순서는 다음과 같다¹⁵⁾.

forward : 5'-CTG TAT TTG GAA CTT GGC ATC 3'

reverse : 5'-ATT CAT TTT ACT ACC CAG AGG 3'

중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction : PCR)을 이용하여 유전자 검체를 증폭했다. 유전자 검체 20~30ng, 시발체 0.25pmol, 1X PCR buffer(Takara, Otsu, Japan), dNTP 200M, rTaq 1.25U 등을 MJ research PTC-200 thermal cycler(MJ research, Waltham, USA)에 넣고 반응시켰다. 94℃에서 3분간 denaturation시킨 후, 94℃에서 1분, 62℃에서 1분, 72℃에서 1분, 72℃에서 5분간 extension 시키는 과정을 32주기 동안 반복했다.

PCR로 증폭된 생성물(464염기쌍)은 Taq I 효소를 이용해 절단했으며 2% agarose gel에서 전기영동 했으며 Ethidium bromide 용액에 염색한 후 자외선투광기(UV transilluminator)로 band를 확인했다(Fig. 1). Taq I 효소에 의해 분해되지 않는 밴드(464 염기쌍에 해당)가 나타난 경우에는 대립유전자 A1로 해석했고, 분해 된 두 개의 밴드(300 염기쌍과 164염기쌍에 해당)가 나타난 경우를 대립유전자 A2로 해석했다(Fig. 1). 대상군에 대한 정보를 전혀 알지 못하는 두 명의 판독자가 RFLP 결과 사진을 별도로 확인하여 유전자형을 판독한 다음 결과를 서로 비교했는데, 두 평가자 간 일치율은 모두 95% 이상이었다.

3. 통계분석

1) 환자-대조군 연구 분석

환자군과 대조군의 대립 유전자 빈도 비교는 Chi-square test와 unconditional logistic regression analysis를 사용

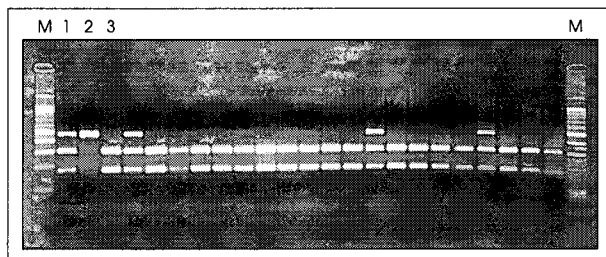


Fig. 1. Different genotypes showing polymorphisms after enzyme restriction of products after polymerase chain reaction (PCR) of the dopamine beta hydroxylase gene on electrophoresis through 2% agarose gel stained with ethidium bromide. M is 100 base pair DNA size marker, lane 1 is heterozygote of 464bp/300bp/164bp (A1/A2), lane 2 is homozygote of 464bp (A1/A1), and lane 3 is homozygote of 300bp/164bp (A2/A2).

했다. logistic regression analysis는 성별, 연령별 보정을 통해 결과를 산출했다. 모든 통계적 처리는 SPSS for Windows version 11.0 프로그램을 이용했다.

2) 가족기반 연구 분석

가족기반 연구의 유전자형 및 대립유전자 빈도분석으로는 transmission disequilibrium test (TDT)과 haplotype-based haplotype relative risk test (HHRR)를 사용했다. 가족기반 연구에서 TDT 분석법이나 HHRR 분석법은 인구계층화를 고려한 통계분석방법으로서 TDT가 특정 대립유전자가 부모로부터 환자에게 전달되는 경우의 수와 전달되지 않는 경우의 수를 산출해서 McNemar χ^2 test를 이용해 분석하는 방법인데 반해²⁷⁾, HHRR은 일종의 가족 내 환자-대조군 형태 분석방법으로 환자와 내부 대조군의 haplotype을 각각 고려하여 유전된 경우의 수를 세는 방식이다²⁸⁾. TDT와 HHRR 방법은 서로 장단점을 지니고 있는데²⁹⁻³¹⁾, TDT 분석방법은 HHRR과 달리 인구계층화를 확실하게 배제할 수 있다는 장점이 있으나, TDT로는 불가능한 비교위험도의 산출이 HHRR방법으로 가능하다는 차이점이 있다. TDT 분석에는 McNemar's test를, HHRR 분석에서는 Chi-square test를 사용했다.

연구 결과

1. 대상군 특성

환자군은 서울 소재 대학병원 51명과 지방 소재 대학병원 55명으로 구성되었다.

환자군과 대조군의 연령은 각각 9.77 ± 1.7 years, 9.82 ± 1.6 years로 유의한 차이는 없었다. 남녀 성비에서는 93 : 13으로 남자가 많았다. 환자군의 지능지수는 97.5 ± 14.2 였으며 지능평가가 가능했던 대조군의 지능지수는 100.5 ± 12.7 로서 양군 간에 유의한 차이는 관찰되지 않았다 ($P > 0.05$).

환자군의 한국판 아동 행동 조사표 총점은 64.3 ± 6.8 이었으며, 코너스 부모용 평가척도 총점은 59 ± 11.8 이었다.

환자-부모 대상군은 78trio와 28pair로 구성되었는데, pair인 경우는 세 쌍을 제외하고는 모두 환자-어머니 쌍으로 구성되었다.

2. 환자군과 대조군의 DBH 유전자 Taq I 다형성의 분석

106명의 환자군을 대상으로 유전자 분석을 실시하여 97명(91.5%)의 환자군에서 분석 결과를 얻을 수 있었다. 마찬가지로 212명의 대조군 중 211명(99.5%)에서 분석 결과를 얻을 수 있었다. 환자군 97명과 대조군 211명의 유전

자형은 A1A1형(3.1% : 4.7%), A1A2형(29.9% : 28.4%), A2A2형(67.0% : 66.8%) 등 모두 세 가지로 양군 사이에 유의한 빈도차이는 없었으며, 대립유전자의 빈도는 A1이 각각 18.0%와 19.0%, A2가 82.0%와 81.0%이었는데 마찬

Table 1. Comparison of genotype and allele frequencies of Taq I restriction polymorphism of dopamine beta hydroxylase gene between cases and controls

	Cases (n=97)		Controls (n=211)		OR (95% CI) *
	N	%	N	%	
Genotype					
A1/A1	3	3.1	10	4.7	1.0(ref.)
A1/A2	29	29.9	60	28.4	0.9(0.2-3.7)
A2/A2	65	67.0	141	66.8	0.9(0.2-3.6)
Allele					
A1	35	18.0	80	19.0	1.0(ref.)
A2	159	82.0	342	81.0	1.1(0.7-1.7)

OR means odds ratio, CI means confidence interval. * : OR and 95% CI were estimated by a unconditional logistic regression model. Adjustment for sex and age was done

Table 2. Transmission disequilibrium test of Taq I restriction polymorphism of dopamine beta hydroxylase

		Not transmitted		
		A1	A2	Total
Transmitted	A1	3	25	28
	A2	11	98	109
	Total	14	123	137

Comparisons were conducted using McNemar test ($\chi^2=5.44$, $df=1$, $P=0.02$)

Table 3. Haplotype-based haplotype relative risk test of Taq I restriction polymorphism of dopamine beta hydroxylase

	Transmitted		Not transmitted		Total (%)	RR (95% CI) *
	N	%	N	%		
A1	28	20.6	14	9.6	42(15.3)	1.4(1.1-1.8)
A2	109	79.4	123	90.4	232(84.7)	1.0(ref.)
Total	137	100	137	100	274(100)	

Comparisons were conducted using Chi square test ($\chi^2=5.51$, $df=1$, $P=0.02$). * : RR means relative risk, CI means confidence interval

Table 4. Comparison of studies on attention deficit hyperactivity disorder and Taq I restriction polymorphism of dopamine beta hydroxylase gene

Authors	Findings	Associate allele	Sample size	Age group	Diagnosis criteria	Diagnosis assessment
Wigg et al., 2002	Negative TDT	None	117	7-16years	DSM-IV	Semistructured interview scales
Kirley et al., 2002	Positive HHRR and TDT	Allele 2	118	4-14years	DSM-IV	Clinical information and rating scales
Roman et al., 2002	Positive HRR	Allele 2	88	4-17years	DSM-IV	Semistructured interview scale (K-SADS-E) and rating scales
Smith et al., 2003	Positive case-control	Allele 1	105	4-12years	DSM-IV	Clinical informations and rating scales
Our study, 2004	Positive HHRR and TDT, negative case-control	Allele 1	97	7-14years	DSM-IV	Clinical informations, ADS, semistructred interview scale (K-SADS-PL)

TDT means transmission disequilibrium test, HHRR means haplotype-based haplotype relative risk test, K-SADS-means Kiddie schedule for affective disorder and schizophrenia, K-SADS-E means epidemiologic version of K-SADS, and K-SADS-PL means present/life time version of K-SADS. ADS means attention-deficit diagnostic system

가지로 유의한 차이가 없었다(Table 1):

3. 환자군과 부모군의 DBH 유전자 Taq I 다형성의 분석

환자와 부모군이 모두 동일한 유전자형인 경우는 분석에서 제외했다. 최종적으로 분석이 가능했던 환자-부모군 68 trio와 1 pair를 대상으로 TDT 분석과 HHRR 분석을 시행했다. 그 결과 TDT 분석(Table 2)과 HHRR 분석(Table 3) 모두 대립유전자 A2에 비해 대립유전자 A1의 선택 전달이 관찰되었다(TDT : $\chi^2=5.44$, $df=1$, $P=0.02$; HHRR : $\chi^2=5.51$, $df=1$, $P=0.02$).

고찰

Dopamine beta hydroxylase(DBH)는 도파민을 노르에피네프린으로 대사시키는 과정에 작용하는 효소이다. 체액의 낮은 DBH 농도가 정신분열병, 정신병적 우울증, 행실장애와 같은 다양한 정신과 질환과 관련된다는 결과들이 보고되었는데¹²⁾¹³⁾, 주의력결핍 과잉행동장애가 도파민과 노르에피네프린 체계 모두와 관련된다는 점과 DBH가 우울증이나 행실장애 등과 같은 주의력결핍 과잉행동장애와 자주 동반되는 정신질환들과 관련된다는 이전 보고를 감안한다면, 이 효소의 유전자가 주의력결핍 과잉행동장애 발병에 관여할 것이라고 추정할 수 있을 것이다.

본 연구에서 나타난 대립유전자 A1과 A2의 분포는 기존 연구와는 많은 차이가 있다. 주로 Caucasian을 대상으로 시행되었던 이전 연구에서는 대립유전자 A2의 빈도가 대략 60% 정도로 서로 비슷하게 나타났다¹⁵⁾¹⁸⁾¹⁹⁾. 브라질 국민을 대상으로 했던 또 다른 연구에서도 이와 비슷한 분포를 보였다¹⁶⁾. 반면, 이번 연구의 대립유전자 A2 빈도는 환자군과 대조군 모두 80% 이상으로 기존 연구들보다 높게 나타났다.

이번 연구의 환자-대조군 연구에서는 유전자형이나 대립유전자 모두 DBH 유전자의 Taq I 절단부위 다형성과 주의력결핍 과잉행동장애 사이에 유의한 관련성이 보이지 않았

다. 이와 달리 가족기반 연구에서는 TDT 분석과 HHRR 분석 모두에서 대립유전자 A1의 선택 전달(preferential transmission)이 관찰되었다.

기존 연구들과 본 연구의 연구 방법 및 결과를 정리하면 Table 4와 같다. 이전의 가족기반 연구 모두가 대립유전자 A2의 선택 전달을 보였던 것에 반해¹⁵⁻¹⁷⁾¹⁹⁾, Smith 등¹⁸⁾의 환자-대조군 연구에서는 환자군의 대립유전자 A1이 상대적으로 높게 분포하고 있었다. DBH 유전자 Taq I 다형성과 주의력결핍 과잉행동장애와의 관련성에 대한 긍정적 결과는 Daly 등¹⁵⁾이 처음으로 보고했는데, 같은 연구 그룹의 Kirley 등¹⁷⁾이 동일한 대상군에 대해 TDT 분석을 재시행했을 때도 대립유전자 A2의 선택적인 전달이 관찰되었다. Wigg 등¹⁹⁾은 통계적으로 유의하지 않지만 대립유전자 A2의 선택 전달 경향성을 보고했다(P=0.07). 따라서 이번 연구를 제외하면 대립유전자 A1의 선택 전달을 보고하였던 가족기반 연구는 없는 셈이다.

이번 연구에서 특기할 만한 점은 환자-대조군 연구 결과와 가족기반 연구 결과가 서로 다르다는 것이다. 환자-대조군 연구에서는 환자군과 대조군 간에 대립유전자의 분포에 있어 유의한 차이를 보이지 않았지만 가족기반 연구에서는 특정 대립유전자의 선택 전달이 관찰되었다. 본 연구에서처럼 환자-대조군 연구와 가족기반 연구가 서로 다른 결과를 보인 경우에는 다음과 같은 가능성들을 고려해 볼 수 있을 것이다. 우선, 인구계층화(population stratification)가 환자-대조군 연구에 영향을 끼쳤을 가능성이 있다. 그러나 한국인이 비교적 동일한 인종적, 민족적 배경을 가진다고 했을 때, 그 영향은 그리 크지 않았으리라 여겨진다. 아울러 이번 연구에서 환자군과 대조군의 유전자형 분포는 Hardy-Weinberg 등식에 따른 예상과 유의한 차이를 보이지 않았다(환자군 : P=0.90 ; 대조군 : P=0.29). 두 번째 고려 사항은 대상자 수가 너무 적었다는 점이다. 대상자 수의 부족은 가족기반 연구에서 더욱 더 두드러졌는데, DBH 유전자의 Taq I 절단 부위 다형성처럼 대립유전자 종류가 2가지인 경우에는 환자군과 부모군이 유전자형이 모두 일치하게 되는 경우가 많으며 이럴 때에는 전달방식에 대한 아무런 정보를 주지 못하기 때문에 분석에서 제외할 수밖에 없고 결과적으로 대상군이 현저하게 줄어드는 결과를 낳게 되는 것이다. 세 번째, 전체 대립유전자 분포 중에서 대립유전자 A1의 빈도가 전체 대상의 20% 미만으로 이전 연구에 비해 상대적으로 적었다는 사실도 고려해야 할 것이다. 네 번째, 가족기반 연구에서 환자-부모 pair를 포함시킬지 여부에 따라 선택 비뚤림이 연구 시작부터 개입했을 가능성이 있다. 이번 연구에서는 분석에 포함된 환자-부모군 69쌍 중에서 68쌍이 trio이었으며 pair

는 한 쌍에 불과했다. 다섯 번째 고려할 사항은 대조군과 부모군이 서로 동질한 집단이 아닐 수 있다는 점인데, 대조군과 부모군 사이에 DBH 대립유전자 분포에 있어 유의한 차이는 발견할 수 없었다($\chi^2=2.4$, $df=1$, $P=0.3$). 마지막으로 유전적인 요인 외에 많은 환경적인 요인이 주의력결핍 과잉행동장애의 발병에 영향을 준다는 가정을 해 볼 수 있겠다. 주의력결핍 과잉행동장애의 발병에 미치는 유전자의 영향만을 평가하는 경우에는 일반적으로 가족기반 연구가 방법론에서 많은 장점을 지닌다고 알려져 있으나, 유전적 요인 외에 발병에 영향을 미치는 다른 환경적 요인을 평가하기 위해서 환자-대조군 연구가 필요하다³²⁾. 따라서 이번 연구에서 환자-대조군 연구와 가족기반 연구가 서로 다른 결과를 보였다는 점은 유전적 요인 이외에도 많은 요인이 발병에 관여한다는 이전의 가설을 지지하고 있는 것이다.

본 연구에서 나타난 제한점은 다음과 같다. 주의력결핍 과잉행동장애가 7세 이전에 발병하며 남자가 여자보다 3~5배 정도 높은 유병률을 보인다는 점을 감안할 때 성과 연령에 의한 빈도짜짓기를 통해 어느 정도 이를 보완할 수 있으나 짜짓기 이외의 다른 변인들(사회경제적 수준, 부모의 교육 수준 등)을 통제하지 못했다는 제한점을 안고 있다. 대조군을 어떻게 선정할 것인지가 문제인데, 이번 환자-대조군 연구에서 고려할 수 있었던 대조군 형태는 병원대조군과 지역대조군이었다. 일반적으로 병원대조군은 쉽게 충분한 대상군 선택이 가능하고 회상에 의한 비뚤림을 줄일 수 있으며 환자군과 비슷한 선택 비뚤림이 작용한다는 등의 장점이 있지만, 건강한 사람을 대상으로 하는 것이 아니고 병원 방문과 관련된 사람을 선택하므로 대조군이 유추하는 모집단과 위험 요인 노출에 차이가 있을 수 있다는 등의 단점이 있는 것으로 알려져 있다³³⁾. 본 연구에서는 환자의 건강 상태가 주의 집중력에 영향을 줄 수 있다는 점을 감안하여³⁾ 중대한 신체 질환이 있는 경우에는 미리 환자군에서 제외했으며, 동시에 지역사회 비교적 건강한 이동을 대조군으로 하여 연구를 진행했다. 지역사회의 환자군이 서울과 지방으로 크게 들러 나뉘어 분포하고 있다는 점을 감안해 대조군을 서울지역과 전주시지역의 초등학교 한 군데씩을 선택했다. 병원대조군 대신에 지역대조군 방식을 적용했을 경우에는 환자군과 대조군의 선택 비뚤림이 서로 다르게 작용한다는 단점이 있다. 부모군은 78쌍(전체 환자-부모군의 73.6%)의 trio와 28쌍(전체 환자-부모군의 26.4%)의 pair로 구성되었다. 부모 전체에서 pair가 차지하는 빈도가 높은 편이었기 때문에 상대적으로 부모군 숫자가 부족하여 가족기반 연구의 통계적 검정력(statistical power)을 떨어트리는 한 요인이 되었다. 또한, 환자군, 대조군, 부모군 모두에서 유전자 분석이

실패한 사례가 발생했는데 그 빈도는 각각 8.5%, 0.5%, 2.5%였다. 비폴림을 줄이기 위해 환자군과 부모군이 동일한 유전자형을 보이는 경우에는 분석에서 제외했기 때문에 유전자 분석이 가능했던 68 trio와 1 pair(전체 환자의 65.1%)에서만 결과 산출이 가능했고 이러한 이유가 통계적 검정력을 떨어뜨리는 원인이 되었다.

최근 주의력결핍 과잉행동장애를 아형(subtype)이나 동반질환(comorbidity)에 따라 분류하거나, 약물유전체 연구, 뇌 영상 연구 등을 도입하여 비교적 동질한 표현형을 가지는 집단으로 구분하여 비교분석하려는 연구가 활발히 시도되고 있다. 이번 연구에서처럼 환자-대조군 연구와 가족기반 연구가 서로 다를 경우에는 동질한 표현형으로 구분하여 비교하는 것이 중요하다. 그러나 이번 연구에서 환자군을 아형이나 동반이환 양상에 따라 분류하기에는 대상 수가 너무 적었고 이러한 대상자 수의 부족은 가족기반 연구에서 보다 두드러지게 나타나고 있다. 따라서 향후 보다 많은 대상 수를 확보하여 비교적 동질한 표현형에 따라 비교분석하는 연구가 필요할 것이다.

결론

이번 연구를 통해 DBH 유전자의 Taq I 절단부위 다형성이 한국인 주의력결핍 과잉행동장애의 발병에 영향을 미칠 수 있다는 일련의 증거를 찾을 수 있었다. 그러나 기존 연구들과 이번 연구가 연구 방법이나 결과 면에서 많은 차이가 있으며 이번 연구 내에서도 연구 형태에 따라 상이한 결과를 보였다는 점을 감안할 때, DBH 유전자의 Taq I 절단부위 다형성이 주의력결핍 과잉행동장애 발병에 미치는 영향이 아주 복잡하고 다양할 것이라는 점을 시사한다. 따라서 향후 추가적인 대상자 수를 대상으로 보다 정교하고 확대된 연구를 시행하여 이러한 사실을 확인해야 할 것이다.

References

- 1) American Psychiatric. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th ed, Washington: American Psychiatric Association;1994.
- 2) 조수철, 신윤오. 파탄적 행동장애의 유병률에 대한 연구. 소아청소년정신의학 1994;5:141-149.
- 3) 조수철. 소아정신질환의 개념. 1판. 서울: 서울대학교출판부;1999. p.146-150.
- 4) Biederman J, Faraone SV, Keenan K, Knee D, Tsuang MT. Family genetic and psychosocial risk factors in DSM-III attention deficit hyperactivity disorder. J Am Child Adolesc Psychiatry 1990;29:526-533.

- 5) Biederman J, Faraone SV, Mick E, Spencer T, Wilens T, Kiely K, et al. High risk for attention deficit hyperactivity disorder among children of parents with childhood onset of the disorder: a pilot study. Am J Psychiatry 1995;152:431-435.
- 6) Maher BS, Marazita ML, Moss HB, Vanyukov MM. Segregation analysis of attention deficit hyperactivity disorder. Am J Med Genet 1999;88:71-78.
- 7) Samuel VJ, George P, Thornell A, Curtis S, Taylor A, Brohme D, et al. A pilot controlled family study of DSM-III-R and DSM-IV ADHD in African-American children. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1999;38:34-39.
- 8) Gjone H, Stevenson J, Sundet JM. Genetic influence on parent reported attention related problems in a Norwegian general population twin study. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1996; 35:588-595.
- 9) Levy F, Hay DA, McStephen M, Wood C, Waldman I. Attention deficit hyperactivity disorder: A category or a continuum? Genetic analysis of a large-scale twin study. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1997;36(6):737-744.
- 10) Rhee SH, Waldman I, Hay D, Levy F. Sex differences in genetic and environmental influences on DSM-III-R attention deficit hyperactivity disorder. J Abnorm Psychol 1999;108:24-41.
- 11) 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.
- 12) Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH, Gade R, Ahn C, et al. Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct, and oppositional defiant disorder: The additive and subtractive effect of the Three dopaminergic genes, DRD2, DBH, and DAT1. Am J Med Genet 1996;67:264-288.
- 13) Cubells JF, Kranzler HR, McCance-Katz E, Anderson GM, Malison RT, Price LH, et al. A haplotype at the DBH locus, associated with low plasma dopamine beta-hydroxylase activity, also associates with cocaine-induced paranoia. Mol Psychiatry 2000;5:56-63.
- 14) Comings DE, Gonzales N, Wu S, Gade R, Muhleman D, Saucier G, et al. Studies of the 48bp repeat polymorphism of the DRD4 gene in impulsive, compulsive, addictive behaviors: Tourette syndrome, ADHD, pathological gambling, and substance abuse. Am J Med Genet 1999;88:358-368.
- 15) Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH, and DRD5 to affected children. Mol Psychiatry 1999;4:192-196.
- 16) Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence for the association between attention deficit hyperactivity disorder and dopamine beta hydroxylase gene. Am J Med Genet 2002;114:154-158.
- 17) Kirley A, Hawi Z, Daly G, McCarron M, Mullins C, Millar N et al. Dopaminergic system genes in ADHD: toward a biological hypothesis. Neuropsychopharmacology 2002;27:607-619.

- 18) Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R, et al. Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: Genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study. *Am J Med Genet* 2003;119B:77-85.
- 19) Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, et al. Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine beta-hydroxylase. *Am J Psychiatry* 2002;159:1046-1048.
- 20) 오경자, 이해련, 홍강의, 하은혜. K-CBCL 아동 청소년 행동평가척도. 서울: 중앙적성출판사;1997.
- 21) 홍강의, 신민섭, 조성준. 주의력장애 진단시스템 사용 설명서. 서울: 한국 정보공학;1996.
- 22) 신민섭, 조성준, 전선영, 홍강의. 전산화된 주의력장애 진단시스템의 개발 및 표준화 연구. *소아청소년정신의학* 2000;11:91-99.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) 오경자, 이해련. ADHD 평가도구로서의 단축형 Conners 평가척도 연구. *대한신경정신의학회 추계 학술대회*. 서울: 대한신경정신의학회;1989.
- 26) Sattler JM. Assessment of children. 3rd ed. Jerome m Sattler: 1992. p.123, 137, 851.
- 27) Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Med Genet* 1993;52:506-516.
- 28) Terwilliger JD, Ott J. A haplotype-based "haplotype-relative risk" approach to detecting allelic associations. *Hum Hered* 1992;42:337-346.
- 29) Schaid DJ, Sommer SS. Genotype relative risk: methods for design and analysis of candidate-gene association studies. *J Hum Genet* 1995;53:1114-1126.
- 30) Ewens WJ, Spielman RS. The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture. *Am J Hum Genet* 1995;57:455-464.
- 31) Spielman RS, Ewens WJ. The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet* 1996;59:983-989.
- 32) Faraone SV, Tsuang MT, Tsuang DW. Genetics of mental disorders. New York, Guilford press;1999. p.16-29.
- 33) Wacholder S, McLaughlin JK, Silverman DT, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies: 1. Principles. *Am J Epidemiol* 1992;135:1019-1028.

**A FAMILY-BASED AND CASE-CONTROL ASSOCIATION STUDY OF
THE DOPAMINE BETA HYDROXYLASE GENE POLYMORPHISM
IN ATTENTION DEFICIT HYPERACTIVITY DISORDER**

**Tae Won Park, M.D., Boong Nyun Kim, M.D., Myung-Ho Im, M.D.,
Hee Jeong Yoo, M.D., Daehee Kang, M.D., Soo Churl Cho, M.D.**
Department of Psychiatry, College of Medicine, Chonbuk National University, Jeonju

Objective : Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is the most common childhood psychiatric disorder, affecting 3–5% of school age children. Although the biological basis of ADHD is unknown, family studies provide strong evidence that ADHD has a genetic basis. Recent genetic studies have suggested associations between ADHD and Taq I polymorphism of dopamine beta hydroxylase gene (DBH). The aim of this study is to test the association between ADHD and Taq I polymorphism of DBH in Korean population.

Method : We processed DNA extraction and genotyping for 106 Korean children with ADHD and their parents. Genotyping was additionally performed for 212 age and gender matched normal controls. Case-control association study was applied. And we tested the association using the transmission disequilibrium test (TDT) and haplotype-based haplotype relative risk test (HHRR).

Results : There were no statistical differences of genotype distributions between cases and controls. However, we did observe preferential transmission of allele A1 of DBH Taq I polymorphism in ADHD.

Conclusion : On the whole, our results lend credence to the notion that the relationship between ADHD and DBH is complex. The number of cases and informative transmissions were small, therefore it would be premature to make any conclusions from our study concerning the role of DBH in ADHD. Further work is needed to support these findings.

KEY WORDS : Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) · Polymorphism · Dopamine beta hydroxylase (DBH).