

한국인 정신분열병 환자의 안구추적운동 이상과 Dystrobrevin Binding Protein 1 (DTNBP1) 유전자의 SNP A와 P1763 다형성의 연합에 대한 연구

이창희¹⁾ · 박병래²⁾ · 김령효²⁾ · 김동현³⁾ · 조숙현¹⁾ · 박진수⁴⁾ · 김임렬⁴⁾ · 이인상⁵⁾
서한길⁵⁾ · 변기욱⁶⁾ · 김봉조⁷⁾ · 한규희⁷⁾ · 김기훈⁸⁾ · 신태민⁸⁾ · 신형두²⁾ · 우성일¹⁾†

Relationship between SNP A and P1763 Polymorphisms on Dystrobrevin Binding Protein 1(DTNBP1) Gene and Smooth Pursuit Eye Movement(SPEM) Abnormality in Korean Schizophrenic Patients

Chang Hee Lee, M.D.,¹⁾ Byung-Lae Park, Ph.D.,²⁾ Lyoung Hyo Kim, Ph.D.,²⁾ Dong Hyeon Kim, M.D.,³⁾
Sook Hyun Cho, M.D.,¹⁾ Jin-Soo Park, M.D.,⁴⁾ Im-Yel Kim, M.D.,⁴⁾ In-Sang Lee, M.D.,⁵⁾
Han-Gil Seo, M.D.,⁵⁾ Ki-Ook Byun, M.D.,⁶⁾ Bong-Jo Kim, M.D.,⁷⁾ Kyu-Hee Hahn, M.D.,⁷⁾
Ki-Hoon Kim, M.A.,⁸⁾ Tae-Min Shin, Ph.D.,⁸⁾ Hyung Doo Shin, Ph.D.,²⁾ Sung-Il Woo, M.D.¹⁾†

ABSTRACT

Objectives : We investigated the association of SNP A and P1763 polymorphisms on dystrobrevin binding protein 1(DTNBP1) gene with smooth pursuit eye movement(SPEM) abnormality in Korean schizophrenic patients.

Methods : We measured SPEM function in 217 Korean schizophrenics(male 116, female 101) and divided them into two groups, one is a good SPEM function group and the other is a poor SPEM function group. We then analyzed SNP A polymorphism and P1763 polymorphism on DTNBP1 gene from their DNAs extracted from their blood. We compared the differences of genotype and allele distributions of the two polymorphisms

¹⁾순천향대학교 병원 정신과

Department of Psychiatry, Soon Chun Hyang University Hospital, Seoul, Korea

²⁾(주) 에스엔피 제네틱스 SNP Genetics, Seoul, Korea

³⁾보건복지부 Division of Mental Health, Ministry of Health and Welfare, Gwacheon, Korea

⁴⁾계요 병원 Keyo Hospital, Euiwang, Korea

⁵⁾진주 정신병원 Jinju Mental Hospital, Jinju, Korea

⁶⁾하동 우리들 병원 Hadong Wooridle Hospital, Hadong, Korea

⁷⁾경상대학교병원 정신과

Department of Psychiatry, Gyeongsang National University Hospital, Jinju, Korea

⁸⁾연세대학교 의공학과

Department of Biomedical Engineering, Yonsei University, Wonju, Korea

†교신저자 : 우성일, 140-743 서울 용산구 대사관길 22(한남동 657번지)

전화) (02) 709-9230, 전송) (02) 795-9959 E-mail) garakman@naver.com

on DTNBP1 gene between the two groups.

Results : The Ln S/N ratio(mean±SD) of the good SPEM function group was 4.39 ± 0.33 and the ratio of poor SPEM function group was 3.17 ± 0.71 . There were no statistically significant differences of age and male/female ratio between the two groups. There were no significant differences of genotype or allele distributions of the SNP A polymorphism and P1763 polymorphism on DTNBP1 gene between the two schizophrenic groups divided by SPEM function.

Conclusion : The results suggest that SNP A polymorphism and P1763 polymorphism on DTNBP1 gene might not be related to SPEM function abnormality in schizophrenia.

KEY WORDS : Schizophrenia · Dystrobrevin binding protein 1(DTNBP1) · Smooth pursuit eye movement (SPEM) · Genetic polymorphism.

서론

정신분열병은 망상, 환청, 외해된 행동과 언어 등을 보이는 심각한 질환이나 뇌 조직에 병리 소견이 명백하지 않고, 도파민 가설 등의 생화학적 이상이 원인으로 제시되어 왔다.

최근의 역학적 유전연구에 따르면 정신분열병은 80%에 가까운 유전성(heritability)을 보이는 것으로 알려져 있으며,¹⁾ 유전 전달 방식이 멘델의 단순 유전법칙을 따르지 않는 복합유전 질환임이 시사되었다.²⁾ 이러한 질환의 유전적 요소를 탐구하기 위해서, 발병 기전에 관여할 가능성이 높은 기능적 후보 유전자를 대상으로 병과 관련된 유전자 변형(혹은 다형성)을 찾는 연합 연구(association study)가 적용되고 있다.

특히 정신분열병은 아직까지 발병기전에 대한 가설이 매우 광범위하고 불확실한 수준이며, 뇌에서 발견되는 단백질의 수가 수만에 이르기 때문에, 기능적 후보유전자를 선정해서 연합을 검증하는 접근법이 쉽지 않은 상태이나, 정신분열병환자들의 가족들을 상대로 가계 대상의 연관 분석을 통해 염색체상의 소인 유전자 좌를 좁힌 후 이 부위에서 기능적으로도 연관성이 있는 소재적 후보 유전자(positional candidate genes)를 선정하여 질병과의 연합 여부를 검증하는 연구가 시행되어 왔다.³⁻⁶⁾

이러한 연구를 통하여 많은 유전자들이 정신분열병과 연관성이 있음이 밝혀지고 있는데, 그중 dystrobrevin binding protein 1(이하 DTNBP1 혹은 dysbindin) 유전자에 대한 최근의 연구들에서 정신분열병의 감수성과 강한 연관성이 시사되고 있다.

DTNBP1 유전자와 정신분열병과의 연관성을 처음 언급한 아일랜드의 가계에 대한 연구에서 Straub 등(2002)⁴⁾은 DTNBP1 유전자 좌(6p22)에 존재하는 3개의 SSLPs(single stranded length polymorphisms)와 17개의 단 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)들을 연구한 결과, SNP의 하나인 P1635는 정신분열병과 유의한 연합을 보였고, 인접한 SSLP나 SNP 표지자들을 3개씩 묶어서 본 일배체형(haplotype) 분석에서 여러 개의 haplotype가 유의한 연합을 보임으로써, dysbindin 유전자를 강력한 정신분열병의 원인 유전자의 하나로 보고하였다.

후속된 독일, 이스라엘 및 헝가리 가계를 대상으로 진행된 Schwab 등⁵⁾의 연구에서는 DTNBP1 유전자 상의 몇 가지 단 염기 다형성(SNP)과 그 조합에 의한 haplotype가 정신분열병과 유의한 연합($p=0.007$, $p=0.00001$)을 보였다.

이후 폴란드, 독일 및 스웨덴 가계를 대상으로 한 Van Den Bogaert 등의 연구,⁶⁾ Bulgaria인을 대상으로 한 Kirov 등의 연구,⁷⁾ 미국내 백인, 흑인과 히스패닉을 대상으로 한 Funke 등의 연구,⁸⁾ 중국인을 대상으로 한 Tang 등의 연구⁹⁾와 일본인을 대상으로 한 Numakawa 등의 연구¹⁰⁾에서 비록 동일한 유전자 표지자를 사용하지는 않았다고 해도 DTNBP1 유전자의 표지자가 정신분열병과 연합되어 있다는 일관된 결과를 보였다.

그러나 아직까지 DTNBP1 유전자와 관련된 유전자적 차이가 어떻게 정신분열병의 소인으로 작용하는지에 대해 구체적으로 밝혀지지 않고 있는 상태이며, 이러한 문제점을 극복하기 위해서는 더 많은 정신분열병 환자를 대상으로 시행하는 연구가 필요하고, 특히 다양한 인종을

대상으로 한 연합연구가 필요한 상태라 할 수 있다.

한편으로 유전학적 연구와는 다른 차원의 정신분열병에 대한 연구 중에서 안구추적운동(smooth pursuit eye movement, SPEM)의 이상은, 정상인의 경우 8%, 정신분열병 환자의 경우에는 51~86%가량에서 보고되고 있으며,¹¹⁾¹²⁾ 정신분열병 환자의 일차가족에 대한 연구들¹³⁻¹⁵⁾과 쌍생아에 대한 연구들¹⁶⁻¹⁹⁾을 통해서 안구추적운동의 이상이 정신분열병의 생물학적 지표임이 주장되어 왔다. 또한 국내에서는 본 연구진이 꾸준히 안구운동이상과 정신분열병과의 관계를 조사하여 보고해 왔고,¹⁵⁾²⁰⁻²²⁾ 정치영 등²¹⁾은 양성 및 음성증상척도(PANSS)로 측정된 정신상태가 지속적인 치료로 4개월 후 호전이 된 후에도 눈의 추적운동의 이상이 지속됨을 보고한 바가 있으며, 유전적인 연구들²³⁾²⁴⁾에서 단일 상염색체 유전자가 안구추적운동이상에 관여한다는 제안도 있었다. 안구운동 이상은 현재까지 제기되고 있는 정신분열병의 생물학적인 지표들 중에서 매우 빈번히 재현되어 온 생물학적인 지표이지만, 항정신병약물에 의해 호전이 되지 않고 어떤 신경전달물질계가 관여하는지도 아직 명확하지 않으며, 유전자적인 변이와 연관성에 대한 연구도 매우 적은 편이므로 후보 유전자 변이와의 연합 여부를 알아볼 필요가 있다.

최근까지 국내에서는 정신분열병과 DTNBP1 유전자와의 연합연구가 드물게 이루어졌으며, 나아가 정신분열병 환자를 대상으로 DTNBP1 유전자에 존재하는 단염기 다형성이 정신분열병 환자의 안구추적 이상 현상의 유전학적 소인이 될 수 있는지를 검증하기 위한 연합 연구는 국내외적으로 보고된 바가 없는 것으로 보인다. 본 연구에서는 안구운동의 이상이 있는 정신분열병 환자 군과 안구운동의 이상이 없는 정신분열병 환자 군의 두 군으로 구분한 후, DTNBP1 유전자에 존재하는 단염기 다형성들 중에서 프로모터 부위에 위치한 SNP A(rs2619-538)와 인트론 1에 위치한 P1763(rs2619522)의 분포를 두 군 사이에 차이가 있는지를 비교하여 안구추적 이상 현상의 유전학적 소인이 될 수 있는지를 검증하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

연구 대상은 만성적으로 정신분열병을 앓고 있는 입원한 환자들로서 2004년 1월부터 2005년 12월까지 4개

의 만성 정신병원(계요 병원, 진주 병원, 순영병원, 하동 우리들 병원)에 입원한 환자들 중 정신장애 진단 및 통계편람(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV : DSM-IV, American Psychiatric Association 1994)²⁵⁾의 진단기준에 의하여 정신분열병으로 진단된 217명의 환자들이다(남자 116명, 여자 101명). 다른 정신과적 질환이나 간질, 정신지체, 치매, 기타 기질적 뇌질환이나 신경과적 질환이 있는 환자는 제외하였다. 또한 안구운동에 영향을 주는 것으로 알려진 리튬을 투여 받고 있는 환자와 항정신병 약물의 부작용들 중 특히 안구운동에 영향을 줄 수 있는 부작용(즉, 추체외로 증후군, oculogyric crisis나 지연성 운동장애 등)이 나타나는 경우 대상에서 제외하였다. 수면제가 필요한 경우에도 반감기가 짧은 약제를 투여하되 안구운동에 영향을 주지 않도록 최소한 안구운동을 검사하기 2일전부터 투여하지 않았다. 이들 정신분열병 환자 217명은 모두 연구에 대한 동의를 하였고, 연구계획은 순천향 대학 병원 임상실험 윤리 위원회의 심의를 통과하였다.

2. 연구방법

1) 안구추적운동의 측정 및 분석 방법

안구운동이상의 측정은 정신분열병 환자만을 대상으로 하며 환자 군을 안구운동이 우등한 군과 안구운동이 열등한 군으로 나누어서 두 군사이의 후보 유전자들의 다형성을 비교하고자 한다. 본 연구에서 두 군으로 나눈 근거는 안구운동 이상이 나타나는 범위가 정상인의 경우 8%이나, 정신분열병 환자의 경우에는 51~86%가량에서 보고¹¹⁾¹²⁾되므로, 약 50% 정도의 안구운동 이상이 나타나는 경우는 두 군으로 나누어 비교해 봄이 타당할 것이고 약 66% 정도의 안구운동 이상이 나타나는 경우는 세 군으로 나누어 중간 군을 빼 다른 두 군을 비교해 봄이 타당할 것이며 안구운동 값의 편차가 두 군 간에 커지므로 유전자 효과가 강하게 나타날 가능성도 있다. 본 연구에서는 두 경우를 다 가정하여 비교 시행하였으며, 두 군으로 나눈 경우를 위주로 상세히 기술하였다.

본 연구자는 안전도(EOG, electroculography)를 이용하여 안구운동을 측정하고 분석하였으며, 이 방법에 대한 자세한 기술은 이미 저자들의 선행 연구들에서 보고하였다.¹⁵⁾²⁰⁻²²⁾이 방법은 목표자극을 컴퓨터 화면에 나타나 움직이게 하고 동시에 목표 자극을 추적 응시하는 피험자의 안전도를 측정하여 디지털화된 자료를 file로 변환

하여 분석하는 것으로, 안구운동(SPEM)의 이상 유무를 전반적으로 스크리닝하기에 적합한 전기 생리학적인 방법이다. 두 개의 전극을 양쪽 눈의 외안각(lateral canthus)에 부착시키고 다른 한 전극은 귀 뒤에 부착시켜서 나오는 전기적 신호를, amplifier(Biopac system)로 증폭하고, 400Hz로 sampling하면서 아날로그-디지털 전환을 하여, 개인용 컴퓨터로 전송하여 자료를 저장한다. 추후 분석 시에는 다시 4Hz로 sampling하여 자료의 크기를 줄이고 2Hz의 low pass filter를 통과시켜서 안면 근육에서 나오는 artifact를 제거한 후 안전도 파형을 구하고, 이미 선행연구에서 사용한 대로 DADisp 프로그램을 이용하여 전력 스펙트럼(power spectrum)을 구한다.

목표자극은 환자의 눈에서 40cm 떨어진 컴퓨터 화면에 나타나는 1×0.8cm의 변을 가진 초록색의 직사각형 형태의 점이다. 표적은 화면의 중앙에 나타나 1초간 지속된 후에 좌측(혹은 우측)으로 이동하여 중심점에서 좌(혹은 우)로 18.2도 떨어진 곳까지 간 후에 되돌아가서 중심점을 지나 반대쪽 위치까지 일정한 속도로 수평의 왕복운동을 하는데 6회 반복(28.2 degree/sec)을 하였다.

각 대상자에 대하여 머리를 고정시키도록 하여 컴퓨터 화면에 나타난 목표물을 추적하도록 요구하였으며 최대한의 집중을 하도록 주의집중을 시켰고, 과도하게 눈을 깜박거리거나 목이나 턱의 움직임이 있는 경우 등에는 안전도 파형을 육안으로 관찰하면서 추적운동이 적절하지 못하다고 판단될 경우에는 재검사를 실시하였다.

분석시에는 DADisp 프로그램을 이용하여, 위의 방법으로 얻어진 안전도 자료에서 15초 동안의 자료를 추출하고, 육안으로 분석한 후에 hamming window를 취하고 fast fourier transformation을 이용한 전력 스펙트럼 밀도 곡선을 구하였다. 이후 0.27~0.67Hz 사이의 면적을 signal power로 0.68~2Hz까지의 면적을 noise의 power로 구한 후 signal/noise ratio의 자연 대수 값(Ln S/N ratio)을 산출하여 통계적 분석에 이용하였다.

2) 정신분열병 시료의 Genomic DNA 추출

환자들과 대조군의 혈액을 뽑아 EDTA로 바로 처리하여 응고를 방지한 후, 원심분리하여 buffy coat를 채취하였다. 여기에 용해 완충액(10mM Tris-HCl, 0.1M EDTA, 0.5% SDS, pH8.0)을 첨가한 후, 37°C로 1시간 동안 배양하고 proteinase K를 150 µg/ml의 농도로 첨가하여 50°C에서 4시간 동안 반응하여 genomic DNA를

추출하였다. DNA는 phenol chloroform 방법으로 정제하고 에탄올을 이용하여 침전시킨 후 TE 완충액(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0)에 용해하여 4°C에서 보관 사용하였다.

3) 정신분열병의 후보 유전자 군에 대한 단염기 다형성의 분석

DTNBP1 단 염기 변이의 유전형 확인을 위해 TaqMan assay와 single-base extension assay(Livak 1999)을 사용하였으며, PCR primer, extension primer 및 TaqMan probe를 만들기 위해 Primer express(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하였다. TaqMan probe의 경우 한쪽 allelic probe는 FAM dye로 표지되었으며, 다른 쪽 allelic probe는 VIC dye로 표지하여 사용하였다.

rs2619538(SNP A)를 분석하기 위해 사용된 primer 염기서열은 다음과 같다.

Forward primer, 5'-CCAGTGAGGTAAGTAGC-ACAAGTA-3'

Reverse primer, 5'-GTGCCATTCACTGTTTT-CATTGCT-3'

5' FAM labelled probe, 5'-CAGGCCAGATG-TAA-3'

3' VIC labelled probe, 5'-CAGGCCCTGATG-TAA-3'

rs2619522(P1763)을 분석하기 위해 사용된 primer 염기서열은 다음과 같다.

Forward primer, 5'-GGCAGAAGCAGTGAGTG-AGA-3'

Reverse primer, 5'-TGGGCTCTTATGTCTAC-CTTTCCTAAA-3'

5' FAM labelled probe, 5'-TCACCTGGATGT-CAGC-3'

3' VIC labelled probe, 5'-ACCTGGCTGTCAGC-3'

4) 통계분석

통계분석을 위해 SAS 프로그램을 이용하였으며, DTNBP1 유전자의 단염기 다형성에 있어 안구운동(SPEM) 이상에 대한 유전자형(genotype)과 대립인자(allele)의 빈도에 대한 판별력을 확인하기 위하여 로지스틱 회귀분

석(Logistic Regression Analysis)을 실시하였다. 정신분열병 환자군을 안구운동 기능에 따라 우선 두 군으로 나누었으며, 위의 방법론에서 기술한 signal/noise ratio의 자연 대수 값(Ln S/N ratio)의 3.97을 기준으로 하여, 3.97 이상이면 안구운동(SPEM)이 좋은 군, 3.97미만이면 안구운동이 나쁜군으로 구분하여 비교하였다. 또한 정신분열병 환자 군을 안구운동 기능에 따라 세 군으로 나누어 중간 군을 제외한 두 군을 동일한 방법을 적용한 비교도 실시하였다. 또한 위에서 기술한 DTNBP1 유전자상의 두 단 염기 다형성의 유전자형과 대립인자형을 기준으로 안구운동 값(Ln S/N ratio) 사이의 연관성 분석을 위해 회귀분석(Regression Analysis)을 실시하였다.

결 과

1. 인구학적 자료

안구운동의 signal/noise ratio의 자연 대수 값(Ln S/N ratio) 3.97을 기준으로 하여, 3.97 이상인 안구운동 우등 군의 Ln S/N ratio의 평균과 표준 편차는 4.39 ± 0.33 이었고, 3.97 미만인 안구운동 열등 군의 Ln S/N ratio의 평균과 표준 편차는 3.17 ± 0.71 이었다. 안구운동 우등 군의 연령의 평균과 표준 편차는 44.35 ± 8.63 세였고, 안구운동 열등 군의 연령의 평균과 표준 편차는 45.17 ± 8.99 세였으며 통계적인 차이는 없었다($p=0.49$, by student T test). 안구운동 우등 군의 성별구성은 남자 54명이고 여자 54명이었고, 안구운동 열등 군의 성별구성은 남자 62명이고 여자 47명으로 통계적인 차이는 없었다($p=0.31$, by χ^2 test). 안구운동의 정확성에 따라 세 군으로 나눈 경우에도 각 군 간의 연령, 성별의 차이는 통계적 유의성이 없었다(표 1).

2. 안구운동 우등 군과 열등 군 사이의 DTNBP1 단 염기 다형성의 유전자형과 대립인자형의 비교

1) rs2619538(SNP A)

DTNBP1 단일염기변이인 SNP A의 유전자형은 안구운동 우등 군에서는 TT형이 103명(95.37%), AT형은 5명(4.63%), AA형은 0명이었고, 안구운동 열등 군에서는 TT형이 105명(96.33%), AT형은 4명(3.67%), AA형은 0명으로 두 군사이의 유전자형의 분포의 차이는 없었다($\chi^2=0.1252$, $p=0.72$, odds ratio=1.27). SNP A의 대립인자형은 안구운동 우등 군에서는 T 대립인자가 211(97.69%), A 대립인자는 5(2.31%)였고, 안구운동 열등 군에서는 T 대립인자가 214(98.17%), A 대립인자는 4(1.83%)였으며, 두 군사이의 대립인자형의 분포의 차이는 없었다($\chi^2=0.1216$, $p=0.73$, odds ratio=1.27). 안구운동의 정확성에 따라 세 군으로 나누어 중간 군을 빼고 두 군을 비교한 경우에도 유전자형과 대립인자형의 분포의 차이는 없었고, 안구운동 값의 편차가 증가되는데 따르는 유전자 효과의 증가 경향은 나타나지 않았다(표 2).

Table 1. Demographic profile of schizophrenic groups with good SPEM function and poor SPEM function

	Good SPEM function group (N=108)	Poor SPEM function group (N=109)	p value
Ln S/N ratio of SPEM	4.39 ± 0.33	3.17 ± 0.71	
Age	44.35 ± 8.63	45.17 ± 8.99	0.49
Sex (M/F)	54/54	62/47	0.31

Analysis of age was performed by Student t-test and analysis of sex was done by χ^2 -test. Mean \pm SD of each value is shown

Table 2. Genotype and allele frequency of SNP A on promotor region between schizophrenic groups with good SPEM function and poor SPEM function

		Eye movement function		χ^2	p-value	Odds ratio (95% CI)
		High(N=108)	Low(N=109)			
Genotype	TT	103(95.37%)	105(96.33%)	0.1252	0.72	1.27(0.33-4.88)
	AT	5(4.63%)	4(3.67%)			
	AA	0(0.00%)	0(0.00%)			
Allele	T	211(97.69%)	214(98.17%)	0.1216	0.73	1.27(0.34-4.78)
	A	5(2.31%)	4(1.83%)			

Logistic regression models were used for calculating odds ratios (95% confidential interval) and corresponding p-values

2) rs2619522(P1763)

DTNBP1 단일염기변이인 P1763의 유전자형은 안구운동 우등 군에서는 AA형이 92명(86.79%), AC형은 13명(12.26%), CC형은 1명(0.94%)이었고, 안구운동 열등 군에서는 AA형이 92명(85.19%), AC형은 16명(14.81%), CC형은 0명으로 두 군사이의 유전자형의 분포의 차이는 없었다($\chi^2=0.0177$, $p=0.89$, odds ratio=0.95). P1763의 대립인자형은 안구운동 우등 군에서는 A 대립인자가 197(97.64%), C 대립인자는 15(7.07%)였고, 안구운동 열등 군에서는 A 대립인자가 200(92.60%), C 대립인자는 16(7.40%)이었으며, 두 군사이의 대립인자형의 분포의 차이는 없었다($\chi^2=0.0175$, $p=0.90$, odds ratio=0.95). 안구운동의 정확성에 따라 세 군으로 나누어 중간 군을 빼고 두 군을 비교한 경우에도 유전자형과 대립인자형의 분포의 차이는 없었고, 안구운동 값의 편차가 증가되는데 따르는 유전자 효과의 증가 경향은 나타나지 않았다(표 3).

3. 안구운동에 대한 DTNBP1 유전자의 두 단 염기 다형성의 유전자형과 대립인자형의 비교

DTNBP1 단일 염기 변이인 SNP A와 P1763의 유

전자형과 대립인자형과 안구운동 이상의 회귀 분석에서, SNP A의 경우 TT 유전자형은 3.78 ± 0.83 (mean \pm SD), AT 유전자형은 3.70 ± 0.80 의 안구운동 값을 나타냈고, T 대립인자는 3.78 ± 0.82 , A 대립인자는 3.70 ± 0.80 의 안구운동 값을 나타내었다. P1763의 경우 AA 유전자형은 3.75 ± 0.82 (mean \pm SD), AC 유전자형은 3.48 ± 0.82 의 안구운동 값을 나타냈고, A 대립인자는 3.76 ± 0.82 , C 대립인자는 3.90 ± 0.82 의 안구운동 값을 나타내었다. 두 단 염기 변이의 유전자형과 대립인자형 모두에서 안구운동 측정 수치인 신호/잡음 비의 자연 대수 값(Ln S/N ratio)에 대한 회귀분석에서 통계적으로 유의성 있는 차이는 없었다(표 4).

고 찰

정신분열병 환자는 감각자극에 대한 관문(gating)기전의 이상 때문에, 환경에서 들려오는 반복적인 소음을 여과하여 필요한 자극과 불필요한 자극을 구분하고 취사선택하는 정보처리기능이 떨어진다고 가정되어 왔다. 이런 청각자극에 대한 관문기전의 이상에 접근할 수 있는 대

Table 3. Genotype and allele frequency of P1763 on intron 1 between schizophrenic groups with good SPEM function and poor SPEM function

		Eye movement function		χ^2	p-value	Odds ratio (95% CI)
		High (N=106)	Low (N=108)			
Genotype	AA	92(86.79%)	92(85.19%)	0.0177	0.89	0.95(0.46-1.98)
	AC	13(12.26%)	16(14.81%)			
	CC	1(0.94%)	0(0.00%)			
Allele	A	197(97.64%)	200(92.60%)	0.0175	0.90	0.95(0.46-1.98)
	C	15(7.07%)	16(7.40%)			

Logistic regression models were used for calculating odds ratios (95% confidential interval) and corresponding p-values. Two DNA samples in high group and one sample in low group could not be genotyped.

Table 4. Regression analysis of genotypes and allelotypes of DTNBP1 polymorphisms with Ln S/N ratios of SPEM in Korean schizophrenic patients

		SNP A (N=217)	p-value	P1763 (N=214)	p-value
Genotype	C/C	208(3.78 \pm 0.83)	0.79	184(3.75 \pm 0.82)	0.37
	C/R	9(3.70 \pm 0.80)		29(3.48 \pm 0.82)	
	R/R	0		1(4.80)	
Allele	C Allele	425(3.78 \pm 0.82)	0.79	397(3.76 \pm 0.82)	0.37
	R Allele	9(3.70 \pm 0.80)		31(3.90 \pm 0.82)	

C/C, C/R and R/R represent homozygotes for common allele, heterozygotes for rare allele, respectively. C Allele and R Allele represent common allele and rare allele, respectively. Genotype distributions, allele distributions, mean \pm SD of each value and p-values for regression analyses are shown. Three DNA samples could not be genotyped in the P1763 locus.

표적인 검사로 P50 청각사건 관련전위가 있고, 정신분열병 환자는 두 번째 청각자극에 의한 P50의 억제에 안되는 특징을 보인다. 한편 정신분열병 환자의 시각적 증상으로 환시가 나타난다. 환시를 측정할 수는 없지만, 움직이는 시각목표자극에 대한 안구 추적운동(smooth pursuit eye movement, SPEM)의 이상은 전두엽의 안영역의 기능저하에 기인한다는 가설이 제시되어 왔고, 최근에는 안구추적운동은 광범위하게 분포된 신경망에 의하여 작동되는 매우 복잡한 행위이고, 망막의 동작 처리에 기초한 반응 및 표적 자극의 움직임에 대한 내적 표상에 근거한 예측 추적 과정이라는 두개의 과정의 종합으로 제안되고 있다.²⁶⁾ 그러나, 모든 정신분열병 환자에서 안구운동 이상이 나타나는 것은 아니므로 정신분열병에 기여할 수 있는 유전자적인 원인의 작용을 세분화해 나갈 수 있는 가능성을 내포한다고 하겠다.

안구운동의 유전자적인 원인에 대한 기존의 연구로 catechol-o-methyl transferase(COMT)의 유전자적 다형성인 Val/Met에 대한 연구²⁷⁾에서 Met-Met 유전자형을 가진 정신분열병 환자군은 Val-Val 유전자형을 가진 환자 군에 비하여 예측 안구 추적에서 열등한 반면, 정상인 대조군에서는 Met-Met 유전자형을 가진 경우 Val-Val 유전자형을 가진 경우에 비하여 예측 안구 추적의 정확성이 증가하였다. 반면 Rybakowski 등의 연구²⁸⁾에서는 COMT의 Val/Met 다형성의 Met/Met 유전자형과 Met 대립인자를 가진 정신분열병 환자에서 안구운동 이상의 정도가 낮다는 상반된 보고를 하였다. 또한 Rybakowski 등²⁹⁾은 도파민 D3 수용체 유전자의 Ser9Gly 다형성이 정신분열병의 안구운동 이상과 연관성이 있음을 보고한 바도 있다. 그러나 최근에 유력한 정신분열병의 후보 유전자로 거론되는 DTNBP1과 안구운동의 연관성에 대한 보고는 아직 없는 것으로 보인다. 저자들은 COMT의 Val/Met 다형성과 안구운동 이상에 대한 연구(미 출판된 자료)도 실시하였으나 의미 있는 결과를 얻지 못하였으므로, 다음 단계로 DTNBP1 유전자에 대한 본 연구를 시행하였다.

DTNBP1 유전자와 정신분열병과의 연관성에 대한 연구로는 아일랜드의 가계에 대한 Straub 등⁴⁾의 연구, 독일, 이스라엘 및 헝가리 가계를 대상으로 진행된 Schwab 등의 연구,⁵⁾ 폴란드, 독일 및 스웨덴 가계를 대상으로 한 Van Den Bogaert 등의 연구,⁶⁾ Bulgaria 인을 대상으로 한 Kirov 등의 연구,⁷⁾ 미국 내 백인, 흑인과 히스패닉을

대상으로 한 Funke 등의 연구,⁸⁾ 중국인을 대상으로 한 Tang 등의 연구⁹⁾와 일본인을 대상으로 한 Numakawa 등의 연구 등¹⁰⁾이 있으며 정신분열병의 유전적 연구에 중요한 돌파구를 열었다.

DTNBP1 유전자는 6번 염색체의 6p22.3에 위치하고 있으며 149kb의 길이를 보인다. 이 유전자에서 번역된 dysbindin은 40~50kDa의 단백질이며 dystrophin glycoprotein 복합체(DGC)의 구성요소인 alpha- 및 beta-dystrobrevin과 결합한다. Dysbindin의 기능은 아직 잘 알려져 있지 않으나, Talbot 등³⁰⁾의 연구에서는 dysbindin-1이 연접전 부위에서도 발견되었고, 해마의 글루타메이트(glutamatergic)성 경로 세포에서 고농도로 발견되는데, 대조군에 비해서 정신분열병 환자의 뇌에서 해마 및 CA2, CA3 부위 조직에서 dysbindin-1 발현의 저하가 나타나고, 반면에 해마에 존재하는 주된 포낭성(vesicular) 글루타메이트 수송체인 VGluT-1은 증가하여 두 단백질이 정신분열병 환자에서 변화가 나타나고 그 변화는 역 상관 관계를 보였다는 것이다. 따라서 dysbindin의 정신분열병의 발병에 기여하는 증거를 뇌 조직에서의 발현 정도를 통하여 제시하였으며, 정신분열병의 글루타메이트 가설을 지지한다고 볼 수 있다.

본 연구에서는, 안구운동이 우등한 정신분열병 환자군과 안구운동이 열등한 정신분열병 환자군의 두 군으로 구분한 후, DTNBP1 유전자에 존재하는 단염기 다형성(SNP)들 중에서 프로모터 부위에 위치한 SNP A(rs2619538)와 인트론 1에 위치한 P1763(rs2619522)의 분포를 두 군 사이에 차이가 있는지를 비교하여 안구 추적 이상 현상의 유전적 소인이 될 수 있는지를 검증하고자 하여 자세히 기술하였다. 또한 안구운동 기능에 따라 세 군으로 나누어 중간 군을 뺀 다른 두 군을 비교해 보았는데 이 경우 안구운동의 편차가 두 비교되는 군 사이에 커지므로, 유전자 분포의 차이가 있다면 두 군으로만 나눈 경우에 비하여 p 값이 상승할 가능성이 있다. 그러나 실제 본 연구에서는 그런 경향이 나타나지 않았으므로 간략히 기술하였다. 또한 DTNBP1 유전자를 포함한 유전자의 작용에서 프로모터 영역은 유전자 발현을 조절하는 중요한 부위이고, 인트론 1 영역의 단염기는 프로모터 영역에 인접한 곳이므로 함께 안구운동 이상과의 연합 여부를 살펴볼 필요가 있다.

DTNBP1 유전자 좌(6p22)의 엑손 1의 5'영역의 프로모터 부위에 존재하는 SNP인 SNP A에 대한 연구로

는, Kirov 등⁷⁾과 Numakawa 등¹⁰⁾이 시행하였으며, 양극성 정동장애 환자를 대상으로는 Raybould 등³¹⁾의 연구도 있다. Numakawa 등¹⁰⁾은 정신분열병 환자에서 A 대립인자와 T 대립인자간의 분포에서 통계적으로 유의한 차이($p=0.025$)가 있음을 밝혔으나, Kirov 등⁷⁾의 연구에서는 A 대립인자가 0.552~0.567 정도로 T 대립인자에 비해 많았고 정신분열병 환자군과 대조군 사이의 통계적인 유의한 차이가 없었($p=0.11$) 을 보고하였다. 저자들의 연구에서는 정신 분열병 환자군 중에서 안구운동을 시행한 환자들을 대상으로 두 군으로 나누어 SNP A의 분포를 조사하였으나, 안구 운동의 기능의 우수함이나 열등함에 SNP A 유전자형의 분포의 차이가 없었고($p=0.72$), 대립인자형의 분포의 차이도 없었고($P=0.73$), 안구운동 기능에 따라 세군으로 나누어 중간 군을 제외한 두 군간의 비교에서도 SNP A 유전자형이나 대립인자형의 분포의 차이가 나타나지 않았고 유전자 분포의 차이가 강해지는 경향도 없어서, SNP A 단염기 다형성이 안구운동의 원인인 유전적인 변이는 아니라는 점이 시사되었다.

DTNBP1 유전자 좌(6p22)의 SNP A에 근접한 부위인 인트론 1에 존재하는 SNP인 P1763에 대한 연구로는, Straub 등,⁴⁾ Schwab 등⁵⁾ 및 Numakawa 등¹⁰⁾이 시행하였으며 Numakawa 등¹⁰⁾은 정신분열병 환자에서 C 대립인자와 A 대립인자간의 분포에서 통계적으로 유의한 차이($p=0.022$)가 있음을 밝혔으나, Schwab 등⁵⁾의 연구에서는 A 대립인자의 빈도는 0.75~0.791 정도로, C 대립인자의 빈도인 0.209~0.25에 비해 많았고 정신분열병 환자군과 대조군 사이의 근소한 통계적인 유의한 차이가 있음(triads $p=0.0415$, combined $p=0.03$)을 보고하였다. 저자들의 연구에서는 정신 분열병 환자군 중에서 안구운동을 시행한 환자들을 대상으로 P1763의 분포를 조사하였으나, 안구 운동의 기능의 우수함이나 열등함에 P1763 유전자형의 분포의 차이가 없었고($p=0.89$), 대립인자형의 분포의 차이도 없었으며($p=0.90$), 안구운동 기능에 따라 세군으로 나누어 중간 군을 제외한 두 군간의 비교에서도 P1763 유전자 좌의 유전자형이나 대립인자형의 분포의 차이가 나타나지 않았고 유전자 분포의 차이가 강해지는 경향도 없어서, P1763 단염기 다형성이 안구운동의 원인인 유전적인 변이가 아니라는 점이 시사되었다.

본 연구의 제한점으로는 안전도를 얻고 파워 스펙트럼 곡선을 구하여 Ln S/N ratio를 구하는 본 연구에서 사용

한 방법은 전체적인 이상을 정량화 할 수는 있어 유전자와의 연합연구를 살피기엔 문제가 없으나, 향후 더 세분화된 안구추적운동의 이상을 탐지할 수 있도록 개선해 나가려고 한다. 향후 정신분열병의 글루타메이트 가설과 연관되며 후보 유전자로 유력시 되는 neuregulin 1 유전자,³²⁾ G72/G30 유전자,³³⁾ D-amino acid oxidase 유전자 등³⁴⁾의 단 염기 다형성에 대한 연합 연구로서, 그들이 안구운동이상의 원인 유전자인지 검증하려는 노력이 필요할 것이다.

요 약

목 적 :

정신분열병 환자의 안구추적운동 이상은 유력한 생물학적인 지표이나 유전자적인 원인에 대한 연구가 활발히 진행되지 못하였다. 최근 여러 연구들에서 dystrobrevin binding protein 1 (DTNBP1, dysbindin)이 정신분열병의 원인 유전자의 후보 유전자로서 시사되었으나 정신분열병 환자의 안구운동 이상의 원인으로 작용할 것인지에 대한 연구는 거의 없었다. 본 연구의 목적은 DTNBP1 유전자상에 존재한 비교적 인접한 두개의 단염기 다형성들인 SNP A와 P1763이 정신분열병 환자의 안구추적운동 이상의 유전자적인 원인으로 작용할 것인지를 알아보고자 시행되었다.

방 법 :

대상군은 217명의 입원한 만성 정신분열병 환자들이며 안구운동(SPEM)을 측정하였고, 신호/잡음의 자연대수 값(Ln S/N ratio)을 구하여 안구운동이 우수한 군과 열등한 군으로 구분하였다. 이후 대상군의 혈액에서 추출한 DNA로부터 DTNBP1 유전자상의 단 염기 다형성들인 SNP A와 P1763를 분석하여 유전자형과 대립인자형을 알아낸 후, 안구운동 이상 유무에 따른 두 군사이의 분포의 차이를 조사하였다.

결 과 :

정신분열병 환자들 중 안구운동이 우수한 군의 신호/잡음의 자연대수 값(Ln S/N ratio)의 평균과 표준편차는 4.39 ± 0.33 이었고, 안구운동이 열등한 군의 신호/잡음의 자연 대수 값(Ln S/N ratio)의 평균과 표준편차는 3.17 ± 0.71 이었다. 두 군 사이에 나이나 성별비율의 차이는 통계적으로 의미가 없었다. SNP A와 P1763의 유전자형과 대립인자형의 분포의 차이는 안구운동 이상 유무에 따라

구분한 두군 사이에 나타나지 않았다.

결론 :

DTNBP1 유전자상에 존재한 SNP A와 P1763은 정신분열병 환자의 안구추적운동 이상의 유전자적인 원인으로 작용한다는 증거를 얻지 못하였다.

중심 단어 : 정신분열병 · Dystrobrevin binding protein 1 (DTNBP1) · Smooth pursuit eye movement (SPEM) · 단엽기 다형성.

참고문헌

1. Tsuang MT, Stone WS, Faraone SV. Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry* 2001;40 Suppl:s18-24.
2. Karayiorgou M, Gogos JA. A turning point in schizophrenia genetics. *Neuron* 1997;19:967-979.
3. Straub RE, MacLean CJ, O'Neill FA, Burke J, Murphy B, Duke F, et al. A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6p24-22: evidence for genetic heterogeneity. *Nat Genet* 1995;11:287-293.
4. Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, et al. Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2002;71:337-348.
5. Schwab SG, Knapp M, Mondabon S, Hallmayer J, Bornmann-Hassenbach M, Albus M, et al. Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *Am J Hum Genet* 2003;71:185-190.
6. Van Den Bogert A, Schumacher J, Schulze TG, Otte AC, Ohlraun S, Kovalenko S, et al. The DTNBP1 (dysbindin) gene contributes to schizophrenia, depending on family history of the disease. *Am J Hum Genet* 2003;73:1438-1443.
7. Kirov G, Ivanov D, Williams NM, Preece A, Nikolov I, Milev R, et al. Strong evidence for association between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia in 488 parent-offspring trios from Bulgaria. *Biol Psychiatry* 2004;55:971-975.
8. Funke B, Finn CT, Plocik AM, Lake S, DeRosse P, Kane JM, et al. Association of the DTNBP1 locus with schizophrenia in a U.S. population. *Am J Hum Genet* 2004;75:891-898.
9. Tang JX, Zhou J, Fan JB, Li XW, Shi YY, Gu NF, et al. Family-based association study of DTNBP1 in 6p22.3 and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2003;8:717-718.
10. Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Okada T, Suzuki T, Iwata N, et al. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2004;13:2699-2708.
11. Lipton RB, Levy DL, Holzman PS, Levin S. Eye movement dysfunctions in psychiatric patients: a review. *Schizophr Bull* 1983;9:13-31.
12. Clementz BA, Sweeney JA. Is eye movement dysfunction a biological marker for schizophrenia? a methodological review. *Psychol Bull* 1990;108:77-92.
13. Holzman PS, Lolomon CM, Levin S, Waternaux CS. Pursuit eye movement dysfunctions in schizophrenia: family evidence for specificity. *Arch Gen Psychiatry* 1984;41:136-139.
14. Lipton RB, Levy DL, Holzman PS, Levin S. Eye movement dysfunctions in psychiatric patients: a review. *Schizophr Bull* 1983;9:13-31.
15. Jang JY, Kim JH, Woo SI, Jung WH, Kim SB. Eye tracking abnormality in first-degree relatives of schizophrenic patients. *J Korean Soc Biol Ther Psychiatry* 1998;4:36-44.
16. Holzman PS, Levy DL. Smooth-pursuit eye movements a functional psychoses: a review. *Schizophr Bull* 1977;3:15-27.
17. Holzman PS, Kringlen E, Levy DL, Proctor LR, Haberman S. Smooth pursuit eye movements in twins discordant for schizophrenia. *J Psychiatr Res* 1978;14:111-122.
18. Holzman PS, Kringlen E, Levy DL, Haberman S. Deviant eye tracking in twins discordant for psychosis: A replication. *Arch Gen Psychiatry* 1980;37:627-631.
19. Spohn HE, Patterson T. Recent studies of psychophysiology in schizophrenia. *Schizophr Bull* 1979;5:581-611.
20. Woo SI, Lee IS, Ha HB, Jung CY, Lee HC, Yum MK et al. Eye tracking abnormality in schizophrenic inpatients. *Seoul J Psychiatry* 1993;18:100-108.
21. Jung CY, Woo SI, Park CS. Eye tracking abnormality in schizophrenia: follow up study after 4 months. *J Kr Neuropsychiatr Assoc* 1995;34:369-377.
22. Kim JH, Lee IS, Seo HG, Jung SI, Park CS, Woo SI. Improvement of smooth pursuit eye movements after cigarette smoking in chronic schizophrenic patients. *J Korean Soc Biol Psychiatry* 1999;6:119-124.
23. Holzman PS, Kringlen E, Matthysse S, Flanagan SD, Lipton RB, Cramer G, et al. A single dominant gene can account for eye tracking dysfunctions and schizophrenia in offspring of discordant twins. *Arch Gen Psychiatry* 1988;45:641-647.
24. Grove WM, Clementz BA, Lacono WG, Katsanis J. Smooth pursuit ocular motor dysfunction in schizophrenia: evidence for a major gene. *Am J Psychiatry* 1992;149:1326-1368.
25. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed revised. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994.
26. Fukushima T, Hasegawa I, Miyashita Y. Prefrontal neu-

- ronal activity encodes spatial target representations sequentially updated after nonspatial target-shift cues. *J Neurophysiol* 2004;91:1367-1380.
27. Thaker GK, Wonodi I, Avila MT, Hong LE, Stine OC. Catechol O-methyltransferase polymorphism and eye tracking in schizophrenia: a preliminary report. *Am J Psychiatry* 2004;161:2320-2322.
 28. Rybakowski JK, Borkowska A, Czerski PM, Hauser J. Eye movement disturbances in schizophrenia and a polymorphism of catechol-O-methyltransferase gene. *Psychiatry Res* 2002;113:49-57.
 29. Rybakowski JK, Borkowska A, Czerski PM, Hauser J. Dopamine D3 receptor (DRD3) gene polymorphism is associated with the intensity of eye movement disturbances in schizophrenic patients and healthy subjects. *Mol Psychiatry* 2001;6:718-724.
 30. Talbot K, Eide WL, Tinsley C, Benson MA, Thompson EW, Smith RJ, et al. Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. *J Clin Invest* 2004;113:1353-1363.
 31. Raybould R, Green EK, McGregor S, Gordon-Smith K, Heron J, Hyde S, et al. Bipolar disorder and polymorphisms in the dysbindin gene (DTNBP1). *Biol Psychiatry* 2005;57:696-701.
 32. Stefansson H, Sarginson J, Kong A, Yates P, Steinthorsdottir V, Gudfinnsson E, et al. Association of Neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *Am J Hum Genet* 2003;72:83-87.
 33. Abou Jamra R, Schmael C, Cichon S, Rietschel M, Schumacher J, Nothen MM. Genes and schizophrenia: the G72/G30 gene locus in psychiatric disorders: a challenge to diagnostic boundaries? *Schizophr Bull* 2006;2:599-608.
 34. Liu X, He G, Wang X, Chen Q, Qian X, Lin W, et al. Association of DAAO with schizophrenia in the Chinese population. *Neurosci Lett* 2004;369:228-233.