

한국인 자폐 스펙트럼장애에서 Tryptophan 2,3 Dioxygenase (TDO2) 유전자 다형성-가족 기반 연구

김순애¹⁾ · 박미라²⁾ · 조인희³⁾ · 유희정⁴⁾

울지대학교 의과대학 약리학교실,¹⁾ 울지대학교 의과대학 의예과,²⁾
가천의과대학대학교 정신과학교실,³⁾ 서울대학교 의과대학 분당서울대학교병원 정신과학교실⁴⁾

Family-Based Association Study of Tryptophan-2,3 Dioxygenase (TDO2) Gene and Autism Spectrum Disorder in the Korean Population

Soon Ae Kim, M.D., Ph.D.¹⁾, Mi Ra Park, Ph.D.²⁾,
In Hee Cho, M.D., Ph.D.³⁾ and Hee Jeong Yoo, M.D., Ph.D.⁴⁾

¹⁾Department of Pharmacology, School of Medicine, Eulji University, Daejeon, Korea

²⁾Department of Premedicine, School of Medicine, Eulji University, Daejeon, Korea

³⁾Department of Psychiatry, Gachon University of Medicine and Science, Incheon, Korea

⁴⁾Department of Psychiatry, Seoul National University College of Medicine,
Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

Objectives : Autism is a complex neurodevelopmental spectrum disorder with a strong genetic component. Previous neurochemical and genetic studies have suggested the possible involvement of the serotonin system in autism. Tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO2) is the rate-limiting enzyme in the catabolism of tryptophan, which is the precursor of serotonin synthesis. The aim of this study was to investigate the association between the TDO2 gene and autism spectrum disorders (ASD) in a Korean population.

Methods : The patients were diagnosed with ASD on the basis of the DSM-IV diagnostic classification outlined in the Korean version of the Autism Diagnostic Interview-Revised and Autism Diagnostic Observation Schedule. The present study included the detection of four single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the TDO2 gene (rs2292536, rs6856558, rs6830072, rs6830800) and the family-based association analysis of the single nucleotide polymorphisms in Korean ASD trios using a transmission disequilibrium test (TDT) and haplotype analysis. The family trios of 136 probands were included in analysis. 87.5% were male and 86.0% were diagnosed with autism. The mean age of the probands was 78.5 ± 35.8 months (range : 26-264 months).

Results : Two SNPs showed no polymorphism, and there was no significant difference in transmission in the other two SNPs. We also could not find any significant transmission in the haplotype analysis ($p > .05$).

Conclusion : We could not find any significant statistical association between the transmission of SNPs in the TDO2 gene and ASD in a Korean population. This result may not support the possible involvement of the TDO2 gene in the development of ASD, and further exploration might be needed to investigate other plausible SNP sites.

KEY WORDS : Autism Spectrum Disorders · Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO2) Gene · Transmission Disequilibrium Test (TDT) · Haplotype Analysis.

접수완료 : 2007년 1월 19일 / 심사완료 : 2007년 3월 5일

Address for correspondence : Hee Jeong Yoo, M.D., Ph.D., Department of Psychiatry, Seoul National University Bundang Hospital, 300 Gumi-dong, Bundang-gu, Seongnam 463-707, Korea

Tel : +82.31-787-3647, Fax : +82.31-787-4058, E-mail : hjyoo@snu.ac.kr

본 연구는 2005년도 한국학술진흥재단 신진교수연구지원(KRF-2005-003-E00149)의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

본 연구의 요약은 2006년 10월 19일 대한신경정신의학회 추계학술대회에서 포스터로 발표되었음.

서 론

자폐 스펙트럼 장애(autism spectrum disorder, ASD) 또는 전반적 발달 장애(pervasive developmental disorder, PDD)는 언어적/비언어적 의사소통의 장애, 사회적 상호작용의 질적 장애, 그리고 관심범위의 제한과 상동적 행동을 주된 증상으로 하는 뇌신경계의 발달 장애군이다.¹⁾ 여기에는 가장 전형적인 형태인 자폐장애를 비롯하여 아스퍼거 장애, 렛트씨 병, 소아기 붕괴성 장애, 그리고 달리 분류되지 않는 전반적 발달 장애(pervasive developmental disorder, not otherwise specified, PDD NOS) 등 유사한 특징을 공유하는 임상군들이 포함된다.

그 동안 많은 쌍생아 연구와 가족 연구들의 결과를 근거로, 자폐장애와 ASD에서 유전적인 요인의 중요성이 지속적으로 제안되어 왔다. 일반 인구에서 자폐장애의 유병률은 .03~1%로 알려진 반면, 형제간 일치율은 이보다 50~100배 높은 2~6%인 점,²⁻⁵⁾ 일란성 쌍생아의 경우 자폐장애에서 40~60%, ASD에서 70~90%의 일치율을 보인 반면, 이란성 쌍생아에서는 0~25%의 일치율이 보고된 점^{6,7)}은 자폐장애 및 ASD의 병인론에 유전적 요인이 관련된다는 사실을 뒷받침하는 사실들이다. 또한 자폐장애의 5%에서 이미 알려진 염색체 이상 질환이 동반되며, 10%에서는 취약 X 염색체 증후군이나 결절성 경화증과 같이 멘델의 유전 법칙을 따르는 질환을 가지는 점 등도 자폐장애에서 유전자 및 염색체의 이상이 관여할 것이라는 강력한 증거 가운데 하나이다.⁸⁾ 하지만 자폐장애의 유전 패턴은 아직 정확히 밝혀진 바 없으며, 다수의 취약 대립유전자들의 oligogenic inheritance에 의해 비롯된, 복합적인 유전적 기전을 가진 질환이라고 생각되고 있다.^{7,8)} 따라서 현재 ASD 유전 연구의 많은 부분은 이 병의 발병과 관련될 수 있는 취약 유전자를 규명하는 데 집중되고 있다.

자폐장애를 동반하는 염색체 이상 부위들과 더불어, 몇 가지 신경전달물질 관련 유전자가 취약 유전자로 연구되어 왔다. 이 중 가장 초기부터 제안되어 온 것은 세로토닌계와 관련되는 유전자들로, 주로 자폐장애에서 세로토닌계의 병인론을 시사하는 생화학적 연구들에 근거를 두고 있다.^{9,10)} 첫째, 자폐장애를 가진 사람의 혈액에서 고세로토닌혈증이 관찰되었으며,¹¹⁻¹³⁾ 둘째, 자폐장애에서 세로토닌의 전구물질인 혈중 트립토판이 감소되었을 때 세로토닌 신경전달활동의 저하로 자폐장애 증상이 악화되는 것이 보고된 점 등이 세로토닌계의 활성이 자폐장애의 증상 발현에 관련되어 있다는 사실을 뒷받침하는 것이다.^{14,15)}

유전자 수준에서는 세로토닌 운반체(serotonin transpor-

ter, 5-HTT) 유전자를 비롯하여 5-HT2A, 5-HT2B, 5-HT7 수용체 유전자, tryptophan 2,3 dioxygenase (TDO2) 유전자 등이 최근에 관심의 대상이 되어 왔다.⁸⁾ 하지만 자폐장애에서 세로토닌계의 생화학적 이상은 비교적 일관된 결과를 보고하고 있는 반면, 유전자 연구에 있어서는 연구 방식에 따라, 인종에 따라 서로 상이하여 단일한 결론을 내리지 못하고 있다.

이처럼 세로토닌의 이상 혈중 농도가 자폐장애의 주요 요인 중 하나로 여겨지므로 그 전구물질인 트립토판의 대사나 세로토닌의 합성과 관련된 효소들의 유전자들이 주요 자폐장애의 주요 후보 유전자로 여겨지고 있다. TDO2 유전자는 4q31.3 염색체에 위치한 것으로 알려져 있으며^{15,16)} 세로토닌의 전구물질인 트립토판을 N-formyl kenurenine으로 변화시키는 트립토판의 대사에서 단계 결정 효소로 작용하는 효소를 코딩하고 있다. 세로토닌 대사과정의 이상이나 혈중 세로토닌 혹은 트립토판의 이상 농도가 다양한 정신 질환에서 보고되고 있는데, 이러한 TDO2의 활성을 변화시키는 유전적 돌연변이는 효소의 작용을 변화시켜 혈중 세로토닌이나 트립토판의 양을 증가 또는 감소시키는 요소로 설명되고 있다. 이러한 배경으로 최근 뚜렛 증후군, 주의력결핍 과잉행동장애 및 약물 의존 등 다양한 정신 질환의 후보 유전자로 거론되었다. 특히 최근 TDT를 이용한 한 연구에서 Nabi 등¹⁷⁾은 TDO2 유전자의 촉진자 부위에 있는 5개의 단일 뉴클레오티드 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)들을 연구하여 자폐장애와의 관련성을 보고하였다.

본 연구는 전달 불균형 검사(transmission disequilibrium test, TDT)를 이용한 가족 기반 연구로써, ASD를 가진 아동들과 생물학적 부모를 대상으로 ASD와 TDO2 유전자와의 관련성을 규명하고자 하였다.

방 법

1. 대상군 선정 및 진단

연구 대상군은 ASD를 가진 환자와 생물학적 부모로 하였다. 환자의 선정은 일차 선별 과정 및 진단의 확진 과정을 통해 이루어졌다. 언어 및 기타 발달의 지연을 주소로 경상대학교 병원 및 길병원 소아정신과 외래에 내원한 아동이나 해당 지역사회 내 복지관, 특수교육기관 및 부모협회 등으로부터 연구에 참여할 것을 동의하여 의뢰된 아동이 일차 선별 대상군이 되었다. 이 가운데 미국 정신의학회의 진단기준인 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, fourth edition (DSM-IV)¹⁾를 이용하여 2명의 소아정신과 의사가 자폐 스펙트럼 장애로 진단한 아동이 확진 과정을 위해 의뢰되었다. 선

별을 돕기 위해 대상군 모두에게 한국판 자폐 평정 척도(Korean version of Childhood Autism Rating Scale, K-CARS)¹⁸⁾가 사용되었다.

모든 대상군 부모들에게는 연구팀에서 제작한 발달력과 가족력에 대한 기초적인 인적 사항 설문을 완성하도록 하였으며, 대상군 아동에게는 발달 수준과 검사 적용 가능성 여부에 따라 한국판 웨슬러 지능검사(Korean Educational Developmental Institute-Wechsler Intelligence Scale for Children ; KEDI-WISC)¹⁹⁾와 한국판 사회성숙도 검사(Korean version of Vineland Social Maturity Scale ; K-VSMS)²⁰⁾를 시행하였다. 확진 과정을 돕기 위해 미국의 원저자로부터 도구 사용에 대한 훈련 과정을 통하여 신뢰도 평가 과정을 마친 검사자가 한국판 자폐증 진단 관찰 스케줄(Korean version of Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS)²¹⁾ 및 한국판 자폐증 진단 면담-개정판(Korean version of Autism Diagnostic Interview-Revised, ADI-R)²²⁾을 실시하였다.

ADOS^{21,22)}는 자폐장애 및 기타 전반적 발달 장애의 반구조화된 진단 도구로, 아동과의 상호작용을 유발할 수 있는 상황을 제공함으로써 놀이를 통해 전반적 발달장애와 관련된 사회성 및 의사소통 행동의 질을 관찰할 수 있게 고안된 도구이다. 이는 모듈 1부터 4까지 모두 4개로 구성되어 있고, 언어의 유창한 정도에 따라 하나의 모듈을 선택하도록 되어 있다. 즉 이 도구는 아동의 인지기능이나 언어의 발달 정도와 관련 없이 자폐장애와 관련된 증상을 평가할 수 있는 도구이다. 여기에는 자폐장애를 비롯하여 다른 전반적 발달 장애, 비전형 자폐증, 기타 자폐 범주 장애 등 보다 광범위한 진단에 대한 경계 점수가 설정되어 있어 정해진 알고리즘에 따라 진단을 내리도록 되어 있다.

ADI-R^{23,24)}은 1994년 Lord 등에 의해 개발된 반구조화된 면담 도구로, International classification of Diseases, 10th edition(ICD-10) 및 DSM-III-R에 근거하여 아동의 부모 혹은 일차적으로 돌보는 보호자를 면담하는 과정을 통해 유아기 자폐증을 비롯한 전반적 발달 장애를 진단하는 도구이다. 이는 위에 기술한 ADOS와 상보적으로 사용되며, 자폐장애 진단 기준에 포함된 의사소통, 사회적 상호작용, 행동과 관심의 제한 등 세 영역에 걸쳐, 영유아기부터 현재까지에 걸친 아동의 발달 과정과 행동 양상을 포괄적으로 기술하고 평가하도록 되어 있다. ADOS와 마찬가지로, 면담 내용에 근거하여 각각의 항목마다 점수를 매기고, 진단 알고리즘에 따라서 진단 범주를 구분하도록 구성되어 있다.

자폐장애의 발병에 영향을 줄 수 있는 신체 질환이나 신경학적 질환을 배제하기 위하여 과거력 조사, 이학적 신체검사

및 신경학적 검사, 뇌파 검사를 시행하였고, 임상적/신경학적으로 필요하다고 판단된 경우에는 뇌자기 공명 영상과 염색체 검사 등이 시행되었다. 이러한 과정을 통해 신경섬유종증, 결절 경화증, 원인 불명의 뇌병증 및 기타 뇌의 기질적 질환, 취약 X 염색체 증후군, 다운 증후군, 기타 염색체 이상과 같이 자폐 스펙트럼 장애의 발병에 원인을 제공할 수 있는 타 의학적 상태가 동반되었거나 갖고 있는 것으로 강하게 의심되는 환자들은 연구 대상에서 배제하기로 하였다. 형제/자매나 쌍생아가 함께 이환된 경우에는 TDT 분석에서 동시에 분석할 수 없으므로, 한 형제 또는 자매만 무작위로 분석에 포함하였다.

1, 2차 검사를 통하여 연구 대상군으로 확진된 아동의 부모에게 연구에 참여하는 소아정신과 의사가 연구 과정을 직접 설명하고, 연구 참여에 대하여 생명윤리에 관한 법률 양식에 준한 서면 동의서를 받았다. 이 연구는 연구가 수행된 모든 기관에서 Institutional Review Board의 인증을 받았다.

2. 유전자 분석(genotyping)

1) 혈액채취

연구대상 아동과 부모 모두에게서 혈액을 채취한 후 EDTA 시험관에 담아 -70℃에서 보관하였다. DNA는 G-spin Genomic DNA Extraction Kit를 사용하여 추출되었으며 추출된 DNA는 -20℃에서 보관하였다.

2) 유전자 분석과정

TDO2 유전자에서 모두 4개의 단일 염기 다형성을 분석하였다(rs2292536, rs6830072, rs6830800, rs6856558). 이를 위하여 PCR은 50mM Tris, pH 8.3, 16mM(NH₄)₂SO₄, 1.75mM MgCl₂, 2.5mM each dNTP, 2U HiPi thermostable DNA polymerase, 0.6 μg genomic DNA, 10pmole의 시발체들을 함유하는 40 μl reaction volume에서 수행되었다. 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 과정에 사용된 oligonucleotide 시발체들의 염기 서열은 다음과 같다. Forward ; 5'-ccagttcagacttttgggtggt-3', reverse ; 5'-ttcttttcaaggaccacag-3'. 또한, 중합효소 연쇄반응은 denaturation 온도 섭씨 94도 30초- annealing 온도 섭씨 50도 30초- extension 온도 섭씨 72도 30초에 걸쳐 40 cycle을 반복하였다. 모든 과정은 thermo-cycler, PCR MBS 0.2G block(Thermo Electron Corporation, USA)를 사용하여 시행하였다. 증폭된 DNA들은 0.5×TBE 전기영동 완충용액 내 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하였으며, 크기 측정을 위하여 ethidium bromide를 사용하여 염색 후, UV trans-illuminator를 사용하여 관찰하였다(518bp). 각각의 중합효소 연쇄반응 산물들은 PCRquick-

spin™ PCR purification kit (iNtRON biotechnology, Korea) 를 이용하여 정제된 증합효소 연쇄반응 산물만 얻은 뒤 증합효소 연쇄반응 시발체를 이용하여 자동염기서열 분석법을 통하여 실험한 뒤 chromas 프로그램을 통하여 염기서열을 확인하였다.

3. 통계분석

각각의 SNP에 대한 대립 유전자 연합을 평가하기 위하여 TDT 방법이 시행되었다. TDT는 가족내 연관성 검사의 한 방법으로, 자폐장애 아동이 부모로부터 후보유전자의 특정 대립 유전자들을 유의하게 더 많이 전달 받았는지의 여부를 관찰한 뒤 McNemar chi-square test(df=1)에 의거하여 분석하였다. Conventional TDT의 경우 사용되는 공식은 다음과 같다.

$$TDT = (b-c)^2 / (b+c)$$

b=고위험 대립유전자가 부모로부터 전달된 숫자

c=저위험 대립유전자가 부모로부터 전달된 숫자

SNP들의 각 대립유전자들에 대한 전달비(전달된 대립 유전자/전달되지 않은 대립 유전자)와 그에 대한 95% 신뢰구간을 구하였다. 통계 프로그램은 SAS(v. 8.01)가 사용되었다. 일배체형 분석은 TRANSMIT(v. 2.5.2)에 의하여 수행되었다. 각 SNP와 일배체형의 통계적 유의성은 p<0.05로 정의하였다.

결 과

1. 연구 대상군의 특성

모두 164명의 ASD아동들이 선별 및 진단 과정을 통해 잠재적 대상군으로 평가되었다. 이 가운데 20명은 부모 중 한 명(19명은 아버지, 1명은 어머니)이 채혈을 거부하였고, 1명은 어머니가 외국인이었으며, 1명은 부모와 아동이 이론적으로 불가능한 유전자형의 분포를 보였으므로 모두 분석에서 제외하였다. 2 쌍은 일란성 쌍생아였으며, 1 쌍은 이란성 쌍생아, 1 쌍은 친형제였는데, 이와 같이 유전적으로 서로 관계가 있는 대상자들의 경우 아동 한 쌍 중 한 명만을 무작위로 선택하여 분석 대상에 포함하였으므로 총 4명의 아동이 추가적으로 배제되었다.

이학적, 신경학적, 뇌기능 및 뇌영상학적 검사 결과 1명은 신경 섬유종증, 1명은 신경과적으로 정확한 진단을 내리기 어려운, 운동기능 장애를 동반하는 광범위한 뇌병증을 가지고 있어 분석 대상에서 제외하였다. 16명(11.8%)의 환자들

파검사 결과 부분발작 또는 광범위한 대뇌 기능부전을 시사하는 이상 소견을 보였으나 임상적으로 의미 있는 경련성 질환을 갖고 있는 환자는 없었으며, 다른 신경학적 이상 없이 뇌파이상만을 보인 아동들은 분석에 모두 포함시켰다.

그 결과, 총 136명의 자폐 스펙트럼 장애 아동과 그들의 생물학적 부모 trio(전체 대상 수=408명)가 최종 분석 대상이 되었다. 모든 대상군과 부모는 한국에 거주중인 한민족이었다. 전체 환자군 중 남자는 119명(87.5%), 여자는 17명(12.5%)으로, 남아 대 여아의 비율은 7 : 1이었다. 대상군 아동의 평균 연령은 78.5±35.8개월(range : 26~264개월)이었으며 한국판 사회 성숙도 검사로 측정된 평균 사회지수(social quotient)는 61.2±20.6(range : 23.1~126), 측정 가능한 아동들의 평균 지능은 65.0±27.7(range : 25~126)이었다. K-CARS 점수는 31.5±5.4(range 18.5~46)로 나타났다. ASD 내에서의 진단적 분포는 자폐장애 117명(86.0%), PDD NOS 17명(12.5%), 아스퍼저 장애 2명(1.5%)이었다. 대상이 된 환자들의 인구학적, 임상적 특징을 Table 1에 정리하였다.

2. 유전자 분석(genetic analysis)

연구 대상 아동과 부모에 대한 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg 균형으로부터 벗어나지 않았다. rs2292536의 경우 부모군의 카이값은 0.715, p값은 0.398이었고, 환자군의 카이값은 1.029, p값은 0.310이었다. rs6856558의 경우 부모군의 카이값은 1.241, p값은 0.265이었고, 환자군의 카이값은 0.458, p값은 0.499이었다.

Table 1. Clinical and demographic characteristics of subjects

	Mean±SD	Range
Age(months)	78.5±35.8	26-264
IQ	65.0±27.7	25-126
SQ	61.2±20.6	23.1-126
K-CARS	31.5± 5.4	18.5- 46
Sex(%)		
Male	119(87.5)	
Female	17(12.5)	
Diagnosis(%)		
Autistic disorder	117(86.0)	
Asperger's disorder	2(1.5)	
PDD NOS	17(12.5)	

IQ : intelligence quotient, SQ : social quotient, K-CARS : Korean childhood rating scales, PDD NOS : pervasive developmental disorder, not otherwise specified

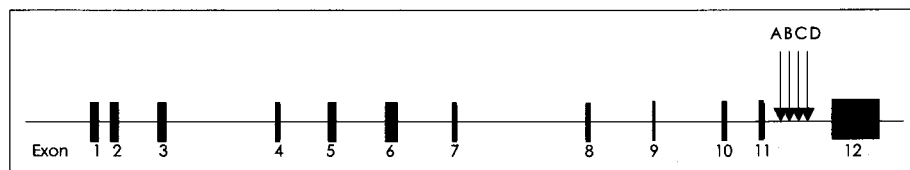


Fig. 1. Genomic organization of the TDO2 gene showing the location of the polymorphisms (arrow A : rs2292536, arrow B : rs6830072, arrow C : rs6830800, arrow D : rs6856558).

Table 2. TDO2 genotype and allele frequencies in 136 autistic probands and their biological parents

SNPs*	Genotype frequencies			Allele frequencies	
	AA	AT	TT	A	T
rs2292536					
Patients	81 (0.596)	50 (0.368)	5 (0.036)	0.779	0.221
Father	77 (0.566)	53 (0.390)	6 (0.044)	0.761	0.239
Mother	75 (0.551)	53 (0.390)	8 (0.059)	0.746	0.254
rs6856558					
Patients	89 (0.654)	43 (0.316)	4 (0.030)	0.812	0.188
Father	83 (0.610)	50 (0.368)	3 (0.022)	0.794	0.206
Mother	84 (0.618)	46 (0.338)	6 (0.044)	0.787	0.213

* : We performed genetic analysis in rs6830072 and rs6830800, but we could not find polymorphisms. SNP : single nucleotide polymorphism

Table 3. Transmission Disequilibrium Test (TDT) of the TDO2 in autism spectrum disorders

SNPs	Allele	T*	NT†	χ^2 (df=1)	p-value	Ratio (T/NT)	95% CI for ratio
rs2292536	A	60	46	1.85	0.17	1.30	0.87-1.95
	T	46	60			0.76	0.51-1.14
rs6856558	C	56	40	2.67	0.13	1.40	0.92-2.14
	T	40	56			0.71	0.47-1.09

* : transmitted, † : Non-transmitted, CI : confidence interval

Table 4. Haplotype analysis of TDO2 gene in autism spectrum disorders

Haplotype*	Observed	Expected	χ^2 value (df=1)	Global χ^2 value (df=2)
AC	212	205	1.8491	1.8491
TC	9	10	0.2	
TT	51	57	1.5	

* : Haplotype sequence : rs 2292536+rs 6856558

TDO2 유전자 다형성 위치를 나타내는 유전자 구조도를 Fig. 1에 표시하였다. TDO2 유전자의 각 SNP에 대한 대립유전자 빈도와 유전자형 빈도는 각각 Table 2에 제시하였다. 분석한 4개 SNP 가운데 2개 SNP(rs6830072, rs6830800)에서 다형성을 발견할 수 없었다. 다른 2개 SNP(rs2292536, rs6856558)에서 전달비를 95% 신뢰수준으로 분석한 결과 부모로부터 환자에게 더 빈번하게 전달되는 대립유전자를 찾아볼 수 없었다(Table 3).

두 SNP 사이에 연관불균형이 존재하였으므로($D' = 1$, $r^2 = 0.8259$), 이들 사이에 가능한 3가지의 일배체에 대해 일배체 전달 분석을 시행하였는데 여기서도 기대치보다 통계적으로 유의 있는 차이를 나타내는 일배체를 발견할 수 없었다($p > .05$) (Table 4).

고 찰

본 연구는 ASD 아동 및 생물학적 부모 trio를 대상으로 한

가족기반 유전 연구로, TDT와 일배체 분석 모두에서 TDO2 유전자의 SNP와 ASD 사이에 유의한 연관성을 발견하지 못하였다. 이는 적어도 이 연구에서 분석 대상이 되었던 SNP들은 자폐장애의 병인론과 유의한 관련성이 없을 가능성이 많음을 시사하는 결과이다. 이런 결과는 자폐장애 환자의 가족에서 TDO2의 전달에 유의한 차이를 보였던 이전 연구 결과와는 차이가 있는 것이다.¹⁷⁾

Nabi 등¹⁷⁾은 2명 이상의 자폐증, PDD NOS, 아스퍼거 장애 환자를 가지고 있는 196 multiplex family를 분석 대상으로 하여 4개의 촉진자 부위 다형성과 1개의 exon 부위 다형성에 대해 연합 분석을 시행하였다. 이 가운데 촉진자 부위에서 하나의 SNP 및 일배체가 부모로부터 자폐장애 환자에게 의미 있게 더 빈번하게 전달되었음을 보고하였다. 이는 AGRE 데이터베이스에 있는 다인종 샘플을 대상으로 한 결과이며, 진단 도구로는 ADI-R 만을 사용하였다. 연합 분석에서 부모-자녀간에 전달의 차이를 보인 촉진자 SNP(rs3755910)는 인종에 따른 다형성 차이가 아직 보고된 바 없는 상황이다. 이 SNP는 전체 대상이 196 가족이었음에도 불구하고 유의한 정보가 되는 전달은 34개(전달된 대립유전자 : 27개, 전달되지 않은 대립유전자 : 7개)에 불과하여 결과의 해석에 다소 제한이 있으며, minor allele frequency가 0.0236인 드문 다형성(rare polymorphism)으로 TDT 결과가 우연에 의한 것임을 배제할 수 없다는 한계를 가지고 있었다.

이런 한계점을 보완하고자 본 연구에서 분석을 시도한 SNP(rs2292536, rs6856558, rs6830072, rs6830800)들은 자폐장애와의 연관관계에 있어서 새로 탐색된 SNP이다. 이들은 모두 염색체 4q31.3에 위치하는 것으로 알려져 있으며, SNP 선정 과정에서 중합효소 연쇄반응-염기서열결정을 통해 다형성을 확인하였다. 이들은 SNP 데이터베이스(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>)에서도 인종에 따른 대립유전자 빈도에 많은 차이를 보이고 있다. 따라서 두 개의 SNP(rs6830072, rs6830800)가 한국인에서 다형성을 전혀 보이지 않았던 것은 유전자 구조에 있어 서양인종과의 인종적 차이에 기인하는 것으로 보인다. 향후 국제적 Hapmap project 결과를 참조하여 분석 대상이 되는 유전자 부위를 좀 더 정확히 선정할 수 있다면, SNP 분석의 특이도를 좀 더 높일 수 있을 것으로 생각한다.

이전에 발표된 연관 불균형 연구들에 따르면 TDO2 유전자는 가능성 있는 취약 부위에 존재하지는 않는 것으로 알려졌다. 그럼에도 불구하고 TDO2가 자폐장애와 관련된 유전 연구 대상이 된 것은 세로토닌과의 기능적 관련성 때문이다. 서론에 기술한 바와 같이, 자폐장애를 가진 사람의 혈액에서 관찰되는 고세로토닌혈증,¹¹⁻¹³⁾ 자폐장애에서 세로토닌의 전구물

질인 혈중 트립토판이 감소되었을 때 증상이 악화되었다는 보고, 배아 발생 과정에서 세로토닌이 뇌신경계 발달에 중요한 역할을 한다는 점 등 세로토닌계의 활성이 자폐장애의 증상 발현에 관련되어 있다는 근거들은 여전히 트립토판 대사와 관련된 유전자와 자폐장애의 관련성을 완전히 배제할 수 없음을 시사한다.^{14,15)}

특히 뚜렛 장애, 주의력결핍 과잉행동장애, 그리고 약물의존에서 TDO2 유전자의 다형성이 유의한 관계를 보였음이 보고되었는데, 이 가운데 뚜렛 장애에서는 Bonferroni 교정 후에도 통계적 유의성을 유지하였다는 사실에 주목할 필요가 있다($p=0.005$).^{25,26)} 이는 TDO2 유전자가 뚜렛 장애의 병인론에 관련되어 있을 가능성을 시사하는 것이다. 본 연구에서는 TDO2 유전자와 ASD와의 유의한 관련성이 드러나지 않았지만, 뚜렛장애와 자폐장애가 임상적, 유전학적으로 관련되어 있음을 감안할 때 그 연관성을 완전히 배제하기는 어려우며, 따라서 이 유전자에 존재하는 다른 SNP 부위를 추가로 탐색하는 것이 의미 있을 수 있다고 생각된다.

기존의 연구들에서 TDO2 뿐 아니라 세로토닌 운반체 및 세로토닌 수용체 유전자들을 포함한 세로토닌계 관련 유전자 다형성 연구들에서 일관된 보고가 없다는 점, 그리고 이 유전자들이 자폐장애 뿐 아니라 공통적으로 비교적 만성 경과를 밟으면서 인지, 지각, 사고 등 다양한 스펙트럼에 걸친 정신병리를 동반하는 신경정신과 질환에서 공통적으로 관련성을 보이고 있다는 점 등은 세로토닌계 관련 유전자가 단독적으로 자폐장애의 발생을 유발한다기 보다는 이와 유기적인 연결을 가지고 있는 도파민, GABA, 글루타메이트 등 다른 신경전달물질과의 복잡한 상호조절 과정을 통해 발현된다고 생각하는 것이 더 타당할 듯 하다.²⁷⁾ 이는 자폐장애가 뇌신경계의 국소적인 이상에 의한 질병이라기 보다는 중추신경계의 광범위한 범위에 걸친 정보 처리 및 통합 능력의 장애라는 관점과도 상통하는 바 있다고 생각된다.²⁷⁾

자폐장애와 다른 PDD 또는 ASD는 그 경계가 분명하지 않은 부분이 존재한다.²⁸⁾ 특히 PDD NOS는 PDD의 진단 기준을 만족시키면서 자폐장애의 진단기준을 모두 만족시키지 않는 잔여 진단 범주로서 그 진단적 타당성이 명백하게 제시되지 못하는 경향이 있고, 고기능 자폐증과 아스퍼거 증후군의 경계 또한 명확하지 않다.²⁹⁾ 뿐만 아니라 그 동안의 유전 연구들은 자폐장애와 PDD 내의 다른 소수 질환들이 동일한 유전적 기전을 공유하고 있다는 것을 지지하고 있다.⁵⁾ 많은 연구자들이 PDD의 분류에 있어 범주적 구분보다는 차원적 구분인 ASD의 개념이 임상적, 학문적으로 유용함을 인정하고 있다.^{27,29)} 따라서 본 연구에서는 다양하고 서로 이질적인 발달 장애들 가운데 언어 및 상호작용, 제한된 관심범위 및 상동적

행동이라는 세 가지 공통된 증상의 요인을 가지는 질병군을 하나의 스펙트럼으로 묶을 수 있다는 관점 하에, 자폐장애보다는 ASD를 분석의 대상으로 삼았다.

본 연구의 한계는 대상군 수가 비교적 적다는 점, 분석 대상이 된 SNP의 수가 적고, 대상 인구군에서 유전자 다형성이 발견되지 않는 부위가 존재함으로써 TDT를 시행하는 데 있어 의미 있는 유전적 정보를 얻기 어려웠다는 점 등을 들 수 있겠다. 아직까지 TDO2 유전자는 자폐장애의 병인론과 관련해서 극히 일부만이 탐색된 상태로, 향후 좀 더 확장된 연구 대상에 대하여 이 유전자와 자폐장애의 상관관계를 규명하는 것이 필요할 것으로 보이며, 이는 세로토닌 계열의 관련 유전자가 자폐장애의 발생에 미치는 영향을 좀 더 명확히 하는 데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각한다.

결 론

한국의 자폐스펙트럼 장애와 이변에 연구된 TDO2 유전자의 다형성과의 사이에 유의한 상관관계를 발견하지 못하였다. 그렇지만, TDO2 유전자와 자폐스펙트럼 장애와 연관을 보고하는 보고가 있으므로 이를 확인하기 위하여 더 많은 대상군의 수와 다수의 다른 유전자 다형성을 이용하여 연구할 필요가 있다.

중심 단어 : 자폐스펙트럼장애 · TDO2 유전자 · Transmission disequilibrium test (TDT) · Haplotype 분석.

■ 감사의 글

저자들은 이 연구에 기꺼이 참여해 주신 ASD 아동 및 그 가족들에게 깊은 감사를 전합니다.

References

- 1) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV. Washington DC, American Psychiatric Press;1994.
- 2) Lamb JA, Moore J, Bailey A, Monaco AP. Autism: recent molecular genetic advances. Hum Mol Genet 2000;9:861-868.
- 3) Smalley SL. Genetic influences in childhood-onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. Am J Hum Genet 1997;60:1276-1282.
- 4) Smalley SL, Asarnow RF, Spence MA. Autism and genetics: a decade of research. Arch Gen Psychiatry 1988;45:953-961.
- 5) Szatmari P, Jones MB, Zwaigenbaum L, MacLean JE. Genetics of autism: overview and new directions. J Autism Dev Disord 1998;28:351-368.
- 6) Folstein S, Rutter M. Infantile autism: a genetic study of 21 twin

- pairs. *J Child Psychol Psychiatry* 1977;18:297-321.
- 7) Lauritsen M, Ewald H. The genetics of autism. *Acta Psychiatr Scand* 2001;103:411-427.
 - 8) Folstein SE, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet* 2001;2: 943-955.
 - 9) Maestrini E, Lai C, Marlow A, Matthews N, Wallace S, Bailey A, et al. Serotonin transporter(5-HTT) and gamma-aminobutyric acid receptor subunit beta3 (GABRB3) gene polymorphisms are not associated with autism in the IMGSA families. The International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. *Am J Med Genet* 1999;15:88:492-496.
 - 10) Anderson GM. Genetics of childhood disorders: XLV. Autism, part 4: serotonin in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002;41:1513-1516.
 - 11) Anderson GM, Freedman DX, Cohen DJ, Volkmar FR, Hoder EL, McPhedran P, et al. Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. *J Child Psychol Psychiatry* 1987;28:885-900.
 - 12) Abramson RK, Wright HH, Carpenter R, Brennan W, Lumpuy O, Cole E, et al. Elevated blood serotonin in autistic probands and their first-degree relatives. *J Autism Dev Disord* 1989; 19:397-407.
 - 13) Cook EH, Leventhal BL. The serotonin system in autism. *Curr Opin Pediatr* 1996;8:348-354.
 - 14) McDougle CJ, Naylor ST, Cohen DJ, Volkmar FR, Heninger GR, Price LH. A double-blind, placebo-controlled study of fluvoxamine in adults with autistic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1996;53:1001-1008.
 - 15) Tordjman S, Gutknecht L, Carlier M, Spitz E, Antoine C, Slama F, et al. Role of the serotonin transporter gene in the behavioral expression of autism. *Mol Psychiatry* 2001;6:434-439.
 - 16) Comings DE, Muhleman D, Dietz GW Jr, Donlon T. Human tryptophan oxygenase localized to 4q31: possible implications for alcoholism and other behavioral disorders. *Genomics* 1991;9: 301-308.
 - 17) Nabi R, Serajee FJ, Chugani DC, Zhong H, Huq AH. Association of tryptophan 2,3 dioxygenase gene polymorphism with autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;125:63-68.
 - 18) Kim TR, Park RG. Childhood Autism Rating Scale (CARS). Seoul, Korean Educational Development Institute;1996.
 - 19) Park KS, Yoon JR, Park HJ, Kwon KO. Korean Educational Developmental Institute-Wechsler Intelligence Scale for Children (KEDI-WISC). Seoul, Korean Educational Development Institute;2002.
 - 20) Kim SK, Kim OK. Korean version of Vineland Social Maturity Scale. Seoul, Chung Ang Jeokseong Press;2002.
 - 21) Yoo HJ, Kwak YS. Korean version of Autism Diagnostic Observation Schedule (K-ADOS). Seoul, Hakjisa;2007 in press.
 - 22) Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, et al. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disorders* 2000;30:205-223.
 - 23) Yoo HJ. Korean version of Autism Diagnostic Interview-Revised (K-ADI-R). Seoul, Hakjisa;2007.
 - 24) Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disorders* 1994;24:659-685.
 - 25) Comings DE, Gade R, Muhleman D, Chiu C, Wu S, To M, et al. Exon and intron variants in the human tryptophan 2,3-dioxygenase gene: potential association with Tourette syndrome, substance abuse and other disorders. *Pharmacogenetics* 1996;6: 307-318.
 - 26) Comings DE. Clinical and molecular genetics of ADHD and Tourette syndrome: Two related polygenic disorders. *Ann N Y Acad Sci* 2001;931:50-83.
 - 27) Belmonte MK, Cook EH Jr, Anderson GM, Rubenstein JL, Greenough WT, Beckel-Mitchener A, et al. Autism as a disorder of neural information processing: directions for research and targets for therapy. *Mol Psychiatry* 2004;9:646-663.
 - 28) Willemsen-Swinkels SH, Buitelaar JK. The autistic spectrum: subgroups, boundaries, and treatment. *Psychiatr Clin North Am* 2002;25:811-836.
 - 29) Dawson G, Webb S, Schellenberg GD, Dager S, Friedman S, Aylward E, et al. Defining the broader phenotype of autism: genetic, brain, and behavioral perspectives. *Dev Psychopathol* 2002;14:581-611.