

도파민 수용체 제 4형 Exon III 다형성과 주의력결핍 과잉운동장애의 연합연구

조수철¹⁾ · 박태원²⁾ · 김재원¹⁾ · 유희정³⁾ · 김봉년¹⁾ · 신민섭¹⁾ · 황준원¹⁾

서울대학교병원 신경정신과 소아청소년분과,¹⁾ 전북대학교 의과대학 정신과학교실,²⁾
서울대학교 의과대학 분당서울대학교병원 정신과학교실³⁾

No Association of DRD4 Exon III Polymorphism with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in Korean Children Population

Soo-Churl Cho, M.D., Ph.D.¹⁾, Tae-Won Park, M.D., Ph.D.²⁾, Jae-Won Kim, M.D., Ph.D.¹⁾,
Hee-Jeong Yoo, M.D., Ph.D.³⁾, Boong-Nyun Kim, M.D., Ph.D.¹⁾,
Min-Sup Shin, Ph.D.¹⁾ and Jun-Won Hwang, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Division of Child and Adolescent Psychiatry, Department of Neuropsychiatry, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

²⁾Department of Psychiatry, College of Medicine, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

³⁾Department of Neuropsychiatry, Seoul National University College of Medicine,
Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

Objectives : The aim of the current study is to test for the association of DRD4 exon III VNTR polymorphism with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) in Korean children population.

Methods : 113 Korean children with ADHD, 102 parents, and 133 control subjects participated with the current study. The distribution of genotypes and alleles of DRD4 exon III VNTR in children with ADHD was compared with that in control subjects. In addition, 69 children with ADHD and their parents were analyzed using the transmission disequilibrium test (TDT).

Results : We could not find any significant differences in the distribution of genotypes and alleles at DRD4 exon III VNTR polymorphism between children with ADHD and control subjects. In addition, there was no preferential transmission of long allele of DRD4 exon III VNTR polymorphism.

Conclusion : These results suggest that DRD4 is not associated with ADHD in Korean children population.

KEY WORDS : Attention-Deficit Hyperactivity Disorder · DRD4 · Genetic Association Study.

서 론

주의력결핍 과잉운동장애(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)는 7세 이전에 발병하며, 과잉운동, 충동성, 부주의 등의 증상을 특징으로 하는 임상적인 장애이다.¹⁾

비록 ADHD의 병인에 대해 아직 잘 알려져 있지 않지만 일반적으로 심리적인 요인보다는 기질적인 요인, 특히 유전적인 요인이 중요한 역할을 한다는 것이 다양한 가족 및 유전 역학 연구 결과를 통해 밝혀지고 있다. 가족 · 쌍생아 · 입양 연구에서는 ADHD에서 높은 가족성이 보고되고 있다.^{2,3)} 또한, ADHD 환자와 혈연관계가 있는 가족이나 친족은 입양부모, 정상 대조군, 다른 정신과 질환이 있는 가족 및 친족 등에 비해 ADHD의 유병률이 높으며, 이환 일치률(concordance rate)이 일란성 쌍생아의 경우 60~80%, 이란성 쌍생아의 경우 20~30%로 알려져 있다. ADHD 장애 자체의 유전율(heritability)은 0.64~0.98로 보고되며, 개별 증상 중 과잉운동은 0.8~0.9, 부주의는 0.9 정도로 유전율이 보고되고 있다.⁴⁾

접수완료 : 2007년 5월 10일 / 심사완료 : 2007년 6월 28일

Address for correspondence : Jun-Won Hwang, M.D., Ph.D., Division of Child and Adolescent Psychiatry, Department of Neuropsychiatry, Seoul National University Hospital, Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel : +82.2-2072-3040, Fax : +82.2-744-8998
E-mail : huangjw1@snu.ac.kr

본 연구는 서울대학교병원 일반 연구비(04-2005-025-0)의 지원을 통해 시행되었음.

ADHD의 병태생리에는 도파민 체계가 관여함이 강력히 시사되고 있는데, 그 근거는 다음과 같다. 첫째, 도파민 운반체의 활성도를 억제하고 연접내 도파민 농도를 증가시키는 methylphenidate, amphetamine 및 기타 다른 중추신경 자극제(psychostimulant)를 사용함으로써 ADHD 증상을 효과적으로 조절할 수 있다. 둘째, 구조적 뇌영상 및 기능적 뇌영상 연구에서 도파민 신경원의 분포가 풍부한 전전두엽-기저핵 등의 영역에서 이상 소견이 발견되고 있다.⁵⁾ 셋째, 동물 모형에서 도파민 신경전달의 이상이 ADHD에서 운동 조절 및 이환된 것으로 알려진 다른 신경심리학적 기능에 주된 요소임이 강력하게 시사되고 있다.^{6,7)}

현재 몇몇 후보 유전자가 각각 전체 유전적 변량의 일부에 기여하는 것으로 알려져 있으며,^{8,9)} ADHD의 병태생리에 도파민이 깊이 관여한다는 과거 보고들에 의해 특히 도파민계 조절 유전자가 유전 연구의 초점이 되고 있다. 도파민 수용체 제 4형 유전자(dopamine receptor type 4 gene, DRD4)는 여러 도파민 관련 유전자 중 특히 관심을 모으고 있는 것 중 하나이다. DRD4는 운동기능, 중독 등에 도파민 D2 수용체와 유사한 작용을 보이며, ADHD의 기질 특성으로 지목되는 새로운 환경적 자극을 추구하는 경향과 관련된다는 보고가 있다.¹⁰⁾ Faraone 등¹¹⁾은 최근에 DRD4 7-repeat 대립유전자와 ADHD에 대한 meta-analysis 결과를 발표하였는데, 환자 대조군 연구에서 나온 교차비는 1.9 (95% 신뢰구간=1.5~2.2, p<.001)였다. 또, 가족 기반 연구에서 교차비는 1.4 (95% 신뢰구간=1.1~1.6, p=.02)였다. 이는 DRD4가 ADHD에 관여함을 시사하는 것으로, 병인에서 도파민의 추정되는 중요성을 강조한 것이라고 할 수 있다.

그러나, 연구에 따라 DRD4와 ADHD와의 관련성이 일관되게 보고되지 못했는데, 예를 들어 Todd 등¹²⁾은 ADHD latent class(ADHD의 부주의, 충동성, 과잉운동 등 아형과 증상갯수를 고려)와 DRD4 exon III의 7-repeat 대립유전자 및 5' 120-bp 대립유전자 등 두 가지 DRD4 다형성간의 연관을 확립하기 위해 일반인구에 기반한 쌍생아 표본을 조사하였지만, 분석된 latent class와는 어느 다형성도 유의한 연합을 보이지 않았다. 또한, 알려진 다형성의 분포도 서구인과 동양인은 차이를 보이고 있다. 예를 들어, 현재까지 연구에서 위험 대립유전자로 인식되어 온 DRD4의 7-repeat의 경우 아시아 인종, 특히 한국인에서는 매우 드문 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 지금까지 한국인 ADHD 아동을 대상으로 DRD4의 관련성을 살펴 본 연구는 한 편으로, 5-repeat 대립유전자의 과잉운동-충동성 증상을 감소시키는 효과가 시사된 바 있으나 DRD4 특정 다형성의 가족 내 선택적 전달은 시사되지 않았으며 일반 인구집단과의 비교도

이루어지지 않았다.¹⁴⁾

본 연구는 한국인 ADHD 환자를 대상으로 진단과정에서 표준화된 방법을 사용하여 공존장애에 의한 영향을 최소화하고, 가족 기반 외에도 환자와 대조군 간의 비교를 실시하여 ADHD와 주요 도파민 수용체 유전자인 DRD4와의 관련성을 규명할 목적으로 시행되었다. 선행연구에 결과에 따라 수립된 본 연구의 가설은 다음과 같다. 첫째, ADHD 환자에서 대조군에 비해 DRD4 exon III VNTR의 장형(long-form) 대립유전자의 분율이 증가할 것이다. 둘째, ADHD 환자의 가족 내에서 DRD4 exon III VNTR의 장형(long-form) 대립유전자의 가족 내 전달이 증가할 것이다.

방 법

1. 대 상

2004년 9월부터 2005년 12월까지 서울대학교병원, 경상대학교병원, 전북대학교병원 등 3개 의과대학병원의 소아정신과 외래를 방문하여 ADHD로 진단된 환자 116명을 대상으로 분석이 시행되었다. 본 연구의 포함기준과 배제기준은 다음과 같다.

-포함기준-

- 1) 연령 : 만 5세 이상.
- 2) 지능 : 전체 지능지수 ≥ 80 .
- 3) 임상적 면담 및 평가에서 ADHD로 진단.
- 4) 한국판 Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL)^{15,16)}에 의해 ADHD 진단 확정.

-배제기준-

- 1) 연령 : 만 5세 미만.
- 2) 지능 : 경계선 지능(전체 지능지수 70~79) 및 정신지체(전체 지능지수 <70).
- 3) 임상적 면담 및 평가 과정과 한국판 K-SADS-PL에 의해 ADHD 단독으로 있을 때와는 병인론적으로 독립된 것으로 추정되는 주요 일축 정신장애(예, 전반적발달장애, 양극성장애, 정신병적장애, 심한 학습장애, 뚜렛장애, 강박장애 등).
- 4) 두부외상, 경련성장애, 기타 아동의 주의력 및 신경발달에 유의한 영향을 미칠 수 있는 질환(예, 뇌출혈, 모야모야병, 듀센 근이영양증 등)의 과거력.
- 5) 아동의 주의력 및 신경발달에 유의한 영향을 미칠 수 있는 일탈된 신체적, 환경적 상황(예, 아동 방임, 학대)의 과거력.
- 6) 가족기반 분석에 생물학적 부모가 참여할 수 없는 경우. 또한, 가족내 전달 분석을 위해 ADHD 아동의 생물학적

부모 232명을 대상으로 선정하였다. 모든 부모와 아동에게는 서면으로 된 설명서를 통하여 연구의 목적과 과정을 설명하였고, 부모와 아동에게 각각 구두동의를 얻어 연구를 진행하였다. 대조군은 전주 시내 초등학교 한 곳의 학생 150명을 모집한 후 IOWA 코너스 평정척도¹⁷⁾상 16점 미만의 아동 133명을 선정하였다. 대조군 선정을 위해 학교장을 포함한 관련 학교 교사에게 연구의 취지와 목적을 설명하였으며, 부모에게는 서면으로 된 설명서를 통하여 연구의 목적과 과정을 설명하였고, 서면을 통해 연구 참여에 동의한 부모 및 아동을 대상으로 하였다.

2. 평가도구

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

K-SADS-PL은 Kaufman¹⁵⁾에 의해 개발된 반구조화된 면담도구로, ADHD를 포함한 소아청소년의 32개 정신과 질환에 대해 증상의 심각도와 이환 상태를 평가할 수 있다. 이 면담도구는 선별면담과 다섯 가지 진단부족으로 구성되어 있으며, 32개의 DSM-IV 소아청소년 정신장애를 선별면담과 진단부족을 통해 조사하도록 되어 있다. 각각의 문항은 '정보 없음' 0점, '없음' 1점, '역치하' 2점, '역치' 3점으로 평가된다. 진단에 있어서는 역치 진단(threshold diagnosis)과 역치하 진단(subthreshold diagnosis)의 2가지 방법이 사용될 수 있는데, 본 연구에서는 3점으로 평정된 증상만을 이용하여 DSM-IV에 의거한 진단을 내리게 되는 역치 진단을 사용하였다. Kim 등¹⁶⁾에 의해 국내표준화가 되어 있으며, 국내 표준화시 ADHD에 대해 kappa 0.695, 역치 진단의 경우 예민도 0.774, 진단특이도 0.9 이상을 기록한 바 있다.

2) 웨슬러 아동지능검사(Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised, WISC)

5~16세 아동의 인지기능을 측정하기 위해 가장 널리 사용되는 검사로서, 전체지능, 언어성 지능, 동작성 지능 등을 평정하며, 언어성 지능과 동작성 지능 각각은 6개의 하위 소검사 항목으로 구성되어 있다. 각 소검사의 평균 반분신뢰도는 0.52~0.87 범위에 달하며, 전체지능, 언어성 지능, 동작성 지능 항목의 신뢰도는 각각 0.95, 0.91, 0.93으로 산출되었다. 또한, 7세, 10세, 13세 아동을 대상으로 실시된 재검사에서 재검사 신뢰도는 Pearson 상관계수 0.52~0.89로 나타났다.¹⁸⁾

3) 소아행동평가척도(Child Behavior Checklist, CBCL)

Achenbach 등에 의해 1983년 원안에서 개정되었으며,¹⁹⁾ 부모 평정을 통해 아동의 사회능력과 문제행동을 평가하는 척도이다. 사회능력 척도는 사회성 척도와 학업 수행 척도

로 구성되어 있으며, 문제 행동 증후군 척도는 113개의 문항을 각 항목당 0~2점으로 평가하여 위축, 신체증상, 불안/우울, 사회적 미성숙, 사고의 문제, 주의집중 문제, 비행, 공격성, 내재화 문제, 외현화 문제, 총 문제 행동 등 총 11개의 소척도 점수를 산출할 수 있다. 국내판의 Cronbach 내적 합치도 계수(α)는 0.62~0.86, 검사-재검사 신뢰도는 Pearson 상관계수 평균 0.68 등으로 나타났다.²⁰⁾

4) ADHD 평정척도(DuPaul ADHD Rating Scales, ARS)

DuPaul 등²¹⁾에 의해 ADHD의 DSM-IV의 18개 세부 진단기준을 부모와 교사가 평가할 수 있도록 변환하여 만든 척도로서 각 항목당 0~3점으로 평가하게 되어 있다. 국내에서는 소유경 등²²⁾에 의해 표준화되었으며, Cronbach 내적 합치도 계수(α)는 연령에 따라 0.77~0.89, 검사-재검사 신뢰도는 Pearson 상관계수 0.31~0.97로 나타났다.

5) IOWA 코너스 평정척도(IOWA Conners Rating Scale)

ADHD 아동을 대상으로 과잉운동뿐만 아니라 공격성, 반항행동 등 다양한 외현화된 행동을 평가하는데 신뢰성을 갖춘 척도이다.²³⁾ 총 10문항으로 구성되어 있으며, 5문항은 부주의/과잉운동, 5문항은 반항/공격성과 관련되어 있다. 국내에서는 신민섭 등에 의해 표준화되었으며, Cronbach 내적 합치도 계수(α)는 0.91로 나타났다.¹⁷⁾

6) 주의력 진단검사(Attention Diagnostic System, ADS)

주의력에 대한 평가를 위해 사용되는 컴퓨터화된 연속수행 검사(continuous performance test)의 일종으로, 검사 결과 부주의 증상을 측정하는 누락횟수(omission error), 인지 및 행동적 충동성을 측정하는 오경보횟수(commission error), 과제처리 속도를 측정하는 반응시간 평균(mean reaction time), 주의의 일관성을 측정하는 반응시간 표준편차(standard deviation of reaction time) 등 4가지 기본지표가 산출되며, 부가적으로 자극에 대한 민감성 및 충동성을 나타내는 민감도지수(d')와 반응기준(beta) 등 2가지 지표도 산출된다. ADS의 4가지 기본지표 중 어느 하나라도 T 점수가 70 점(2배의 표준편차 점수) 이상인 경우 ADHD가 의심되는 것으로 간주할 수 있다.²⁴⁾ 한국 아동에 대해 홍강의 등²⁵⁾이 5세에서 15세 사이의 아동을 대상으로 표준화 및 규준점수 산출을 시행한 바 있는데, Cronbach 내적 합치도 계수(α)는 0.85였고, 주의력 요인, 정보처리 요인, 충동성 요인이 산출되었으며, 판별분석에 의해 정상아동과 ADHD 아동의 96.7%를 정확하게 변별해 주는 것으로 나타났다.

3. 유전자 분석

환아군, 부모군, 대조군을 대상으로 전혈을 채취한 후, -20℃

에 냉동 보관하였다. 이를 Genomic DNA Extraction kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 DNA를 추출하였다. DRD4의 exon III 다형성 위치를 증폭시키기 위해 사용된 시발체 순서는 다음과 같다.²⁶⁾

forward[5'-ACCACCACCGGCAGGACCCTCATGGCC-TTGCGCTC-3']

reverse[5'-CTTCCTACCCTGCCCGCTCATGCTGCTGCTCTACTGG-3']

PCR을 사용하여 유전자 검체를 증폭하였다. 유전자 검체 100ng, 시발체 10pmol, 1X pfu PCR buffer (Solgent, Korea), 400 μM dATP, dTTP, dCTP와 200 μM dGTP (Solgent, Korea), 200 μM 7-Deaza-dGTP(Boehringer, Mannheim), 5% DMSO, 2U Solgent pfu Taq 등을 MJ research PTC-100 thermal cycler에 넣고 반응시켰다. 반응과정은 98℃에서 5분간 denaturation시킨 후 98℃에서 45초, 55℃에서 45초, 72℃에서 1분 30초, 72℃에서 5분간 extension 시키는 과정을 35주기 동안 반복하였다. PCR로 증폭된 산물은 2.5% agarose gel에 분리되어 EtBR staining을 통해 band를 확인하였다. 유전자 다형성은 1 unit가 48bp로 구성됨을 고려하여, 2~10회 반복 여부를 해석하였다.

4. 통계방법

환아군과 대조군의 인구학적 정보는 변수의 종류에 따라 연속 변수의 경우 independent t-test, 범주형 변수의 경우 Chi-square test를 사용하였다. 또한, 모집 대학병원 또는 K-SADS-PL 시행 여부에 따라서 환아군을 둘로 나눈 후, Fisher's exact test와 independent t-test를 이용하여 성별, 연령 등 주요 인구학적 변수의 차이여부를 파악하였다. 환아군과 대조군 간의 유전형 및 대립 유전자 빈도 비교는 Chi-square test를 사용하였고, 연령, 성별, 부모의 교육정도, 가족의 사회경제적 상태 등 변수를 보정한 unconditional logistic regression analysis를 사용하여 통계적 유의성을 확인하였다. 부가족으로 가족기반 연구 분석을 위해 complete trio를 대상으로 하는 transmission disequilibrium test(TDT)를 사용하였다. 이 분석방법은 특정 대립유전자가 부모로부터 환자에게 전달되는 경우의 수와 전달되지 않는 경우의 수를 산출하여 대립유전자의 세대간 전달의 유의성을 검증하는 방식으로, McNemar test를 이용하여 분석하는 방법이다.²⁷⁾ 본 분석에서는 선택 비뚤림을 최소화하기 위해 TDT에서 환자-부모 trio가 모두 있는 경우만 포함시켰다. 또한, 유전자 정보가 부정확하거나, 환자-부모 trio의 유전자 형이 모두 동일할 때에는 분석에서 제외하였다.

DRD4처럼 대립유전자가 3가지 이상 존재하는 multiallelic

polymorphism인 경우에는, 최빈값을 보이는 대립유전자와 나머지 대립유전자로 이분하여 2×2 table을 이용한 비교를 추가적으로 실시하였다.^{28,29)} 또한, 대립유전자의 분포가 이봉분포(bimodal distribution)인 경우에 역최빈값(antimode)을 기준으로 양분할 수 있다는 기존 연구를 참조하여 bp 반복횟수가 적은 '짧은 대립유전자군(short alleles)'과 반복횟수가 많은 '긴 대립유전자군(long allele)'로 2×2 Table을 구성하여 추가적 분석을 시행하였다.²⁹⁾ 통계 프로그램으로는 SPSS 11.0, window version을 사용하였다.

결 과

분석에 포함된 환아군을 대학병원 별로 살펴보면, 서울대학교병원 86명, 경상대학교병원 22명, 전북대학교병원 8명 순이었다. 환아군을 모집 대학병원에 따라 서울대학교병원과 타병원으로 나누어 분석한 결과에서 성별 및 연령 차이는 관찰되지 않았다($\chi^2=.799$, $df=1$, $p=.371$; $t=.699$, $df=114$, $p=.486$). 환아군 116명과 대조군 133명의 연령은 각각 9.5 ± 2.1 , 9.4 ± 0.6 세로 유의한 차이는 없었다($t=-.315$, $df=247$, $p=.753$). 남녀 성비에서는 환아군이 104 : 12, 대조군이 114 : 19로 모두 남자가 많았으며, 환아군과 대조군에서 성비에 유의한 차이는 관찰되지 않았다($\chi^2=.883$, $df=1$, $p=.347$) (Table 1). 환아군의 지능지수는 105.7 ± 13.4 로 지능평가가 가능했던 대조군의 지능지수 100.5 ± 8.5 와 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 환아군의 한국판 소아행동평가척도 총점은 58.1 ± 8.2 점이었으며, IOWA 코너스 평정척도 총점은 11.4 ± 5.4 점이었다. K-SADS-PL이 실시되었던 87명의 환아군의 아형 분포는 혼합형>부주의형>특정불능>과잉운동-충동형 순이었는데, 각각의 아형은 39명, 20명, 17명, 11명으로 나타났다. K-SADS-PL을 통해 평가된 이들의 공존장애는 적대적 반항장애 13.8%, 행동장애 1.1%, 야뇨증 5.7%, 주요 우울장애 3.4%, 기분부전증 1.1%, 공포증 3.4%, 분리불안장애 2.3% 등으로 조사되었다. 또한, K-SADS-PL이 실시된 환아와 그렇지 못했던 환아 간에 성별의 분포에는 차이가 관찰되지 않았으나($\chi^2=.496$, $df=1$, $p=.481$), 실시되지 못한 환아에서 연령이 더 많은 것이 관찰되었다($t=2.39$, $df=114$, $p=.018$). 환자-부모 대상군은 69 trio 및 47 duo로 구성되었는데, duo의 경우 다섯 쌍을 제외하고는 모두 환자-어머니 쌍으로 구성되었다.

116명의 환아군 중 107명(92.2%)의 환아군에서 분석 결과를 얻을 수 있었다. 또한, 133명의 대조군 중 123명(92.5%)에서 분석 결과를 얻을 수 있었다. 대립유전자의 종류는 2-repeat 대립유전자부터 7-repeat 대립유전자까지

Table 1. Distribution of sex, age, and subtypes of ADHD in cases and controls

Characteristics	Patients (N=116)		Controls (N=133)	
	N	%	N	%
Sex				
Male	104	89.7%	114	85.7%
Female	12	10.3%	19	14.3%
	Mean	SD	Mean	SD
Age (years)	9.5	2.1	9.4	0.6
	N	%	N	%
ADHD subtype				
Combined type	39	33.6(44.8)*	-	-
Predominantly inattentive type	20	17.2(23.0)*	-	-
Predominantly hyperactive-impulsive type	11	9.5(12.7)*	-	-
NOS	17	14.7(19.5)*	-	-
Not assessed by K-SADS-PL-K	29	25.0	-	-

* : Figures in brackets are valid percent. ADHD : Attention-Deficit Hyperactivity Disorder, NOS : not otherwise specified, K-SADS-PL-K : the Korean version of Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime

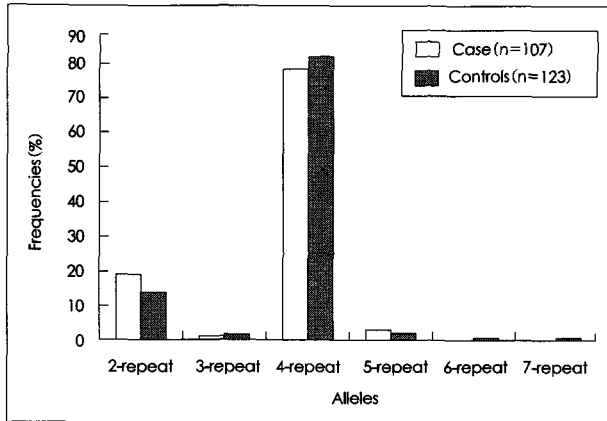


Fig. 1. Allele frequencies of exon III VNTR polymorphism of dopamine D4 receptor gene in cases and controls.

모두 6가지로 각각의 빈도는 Fig. 1에 제시하였다. 최빈값을 보이는 대립유전자는 4-repeat 대립유전자로 환아군의 경우 71.6%, 대조군의 경우 81.7%를 차지하였으며 전체의 73.7%를 차지하였다. 4-repeat 대립유전자를 포함하는 숫자에 따라 세 가지 유전자형으로 재분류하여 비교하였지만 유의한 차이를 발견할 수는 없었다($\chi^2=1.91$, $df=2$, $p=.384$). 또한, 대립유전자의 반복이 4-repeat 이상인 경우와 이보다 적은 경우로 나누어 유전자형을 비교하였지만 유의한 차이를 발견할 수 없었다($\chi^2=1.30$, $df=2$, $p=.523$) (Table 2). 대립유전자의 분포에 있어서도 최빈값을 보이는 4-repeat 대립유전자와 나머지 다른 대립유전자, 4-repeat 이상인 경우와 이보다 적은 경우로 나누어 비교하였지만 유의한 차이를 발견할 수 없었다($\chi^2=1.21$, $df=1$, $p=.270$; $\chi^2=1.39$, $df=1$, $p=.238$). 또, 환자-부모 69 trio를 대상으로 최빈값을 보이는 4-repeat 대립유전자와 나머지 다른 대립유전자,

반복이 4-repeat 이상인 경우와 이보다 적은 경우로 나누어 TDT 분석을 시행하였다. 분석 결과 유의한 대립유전자 선택 전달을 발견할 수 없었다($\chi^2=.00$, $df=1$, $p=1.000$; $\chi^2=0.26$, $df=1$, $p=.612$) (Table 3, 4).

고 찰

본 연구 결과 DRD4 exon III VNTR 다형성의 경우 최빈값을 보이는 대립유전자 포함 여부 및 대립 유전자가 4-repeat 이상인 경우(long allele)와 그렇지 않은 경우로 나누어 환아군과 대조군 간의 유전자형 및 대립유전자의 분포를 비교하였으나 모두 유의한 차이가 관찰되지 않았으며, 가족 전달 역시 소견이 관찰되지 않아 관련성이 시사되지 않았다. 또한, 본 연구에서 전체 대상군에서 관찰된 대립유전자는 총 6가지로 4-repeat(79.8%), 2-repeat(16.3%), 5-repeat(2.4%), 3-repeat(1.1%), 6-repeat(0.2%), 7-repeat(0.2%)의 순이었으며, 서구인에서 위험 요인으로 저목되던 7-repeat 대립유전자는 환아군에서 발견되지 않았다. 이러한 결과는 기존에 알려진 7-repeat로 대변되는 장형 대립유전자와 ADHD의 관련성과 반대되는 결과이다.

DRD4와 ADHD에 대한 대부분의 분자 유전학적 연구는 이 수용체의 3rd cytoplasmic loop의 아미노산 sequence를 코딩하는 exon III의 48bp의 반복서열로 이루어지며 기능적으로 G-protein coupling에 관여하는 것으로 생각되는 variable number tandem repeat(VNTR) 다형성(polymorphism)에 초점을 맞추어 왔다.³⁰⁾ DRD4의 mRNA는 연수, 전전두엽, 중뇌, 편도핵 등에서 높은 발현을 보이며, 기저핵에서는 비교적 낮은 수준으로 발현된다.³¹⁾ DRD4 유전자가

Table 2. Comparison of genotype and allele frequencies of exon III VNTR polymorphism of dopamine D4 receptor gene between cases and controls

	Cases (N=107)		Controls (N=123)		OR (95% CI)*
	N	%	N	%	
Genotype					
S/S	6	5.6	5	4.0	1.00(ref.)
S/L	30	28.0	28	22.8	0.69 (0.11-4.30)
L/L	71	66.4	90	73.2	0.84 (0.15-4.72)
Allele					
S	42	19.6	38	15.4	1.00(ref.)
L	172	80.4	208	84.6	1.05 (0.51-2.17)

* : OR and 95% CI were estimated by a unconditional logistic regression model controlling for age and sex of children, educational level of parents, and socioeconomic status of the families. S : short allele (2-and 3-repeat), L : long allele (4 or more-repeat), OR : odds ratio, CI : confidence interval.

Table 3. Transmission disequilibrium test* of exon III VNTR polymorphism of dopamine D4 receptor gene (1)

		Transmitted	
		4-repeat	others
Not transmitted	4-repeat	77	24
	Others	24	7

* : Comparisons were performed using McNemar test ($\chi^2=$.00, df=1, p=1.000)

Table 4. Transmission disequilibrium test* of exon III VNTR polymorphism of dopamine D4 receptor gene (2)

		Transmitted	
		S	L
Not transmitted	S	7	16
	L	19	90

* : Comparisons were performed using McNemar test ($\chi^2=$ 0.26, df=1, p=.612). S : short allele (2- and 3-repeat), L : long allele (4 or more-repeat)

없는 mice는 에탄올(ethanol), 코카인(cocaine), 메트암페타민(metamphetamine) 등에 과민감성을 보이며, 이러한 mice의 배측 선조에서는 도파민의 합성과 제거가 증가되어 있다.³²⁾ Van Tol 등은 DRD4의 변형을 연구하였는데, clozapine과 spiperone 결합에 대해 수용체의 장형(7-repeat)과 단형(2, 4-repeat)간에 상이한 특성이 있음을 발견하였다.³¹⁾ 또, Asghari 등은 DRD4의 loop가 길수록 G-protein과의 coupling이 더 약하다는 점을 발견하면서, 이 단백질에서 장형과 단형 간에 일부 기능적 차이가 있음을 제안하기도 하였다.³²⁾ 기존에 7-repeat 대립유전자에 의한 도파민 수용체의 민감도는 2-repeat 및 4-repeat 대립유전자에 의한 도파민 수용체에 비해 절반 정도라는 보고에 기초하여,^{31,32)} 그간 Caucasian을 대상으로 시행한 연구에서는 DRD4 exon III VNTR 다형성 중 7-repeat를 포함한 장형(long-form)이 ADHD와 연관성을 보여 왔으며, Faraone 등¹¹⁾은 DRD4 exon III VNTR 다형성과 ADHD의 관련성에 대한 meta-

analysis 결과에서 위험 대립유전자에 대한 환자 대조군 비교 시의 교차비 1.9(95% 신뢰구간=1.5~2.2, p<.001), 가족 기반 연구에서 교차비 1.4(95% 신뢰구간=1.1~1.6, p=.02)로, 비록 7-repeat 대립유전자에 의해 개인에게 전달되는 위험도는 적지만 전체인구 수준에서는 중요한 역할을 할 것으로 결론내린 바 있다. 그러나, 비록 시대에 따라 사용된 진단도구, 평가도구의 차이로 인해 직접 비교가 어렵지만, ADHD의 유병률이 전세계적으로 약 2~9.5% 사이로 일정하게 보고되는 점을 고려할 때 본 연구의 결과는 기존 Caucasian을 대상으로 한 연구에서 7-repeat 대립유전자와 ADHD의 관련성을 반박하는 것이다. 본 연구의 결과는 기존 연구 결과가 인종간의 대립유전자 분포의 차이에 의한 위양성(false-positive) 소견임을 시사하는 것으로, 다른 취약성 유전자 또는 인종간 공유하지 않는 환경적인 요인에 대해 조사할 이론적 근거를 제공할 것이다.

본 연구의 제한점은 다음과 같다. 첫째, 여러 기관에서 실시된 대상 선정 과정에서 K-SADS-PL의 경우에는 25%의 환자에서 결과를 얻을 수 없었는데, 이 경우 본 연구의 배제 기준 중 병인론적으로 독립된 주요 일축장애를 임상적 면담 및 평가로만 확인하게 하여 공존장애에 대한 위음성 결과를 초래할 가능성이 있다. 둘째, 대조군 선정과정에서 ADHD에 대한 평정척도, 부모 설문 조사, 담임교사와의 전화 상담 등으로 대조군 중 ADHD가 포함되는 경우를 배제하려고 하였으나, 환자군과 동일한 평가를 실시하지 못하고 축약된 평가과정을 실시하였던 것은 잠재적으로 ADHD 환자군이 포함되었을 가능성을 완전히 배제할 수 없어 제한점으로 들 수 있다. 셋째, 69 trio를 대상으로 가족 내 전달을 분석하였는데, 비록 69 trio의 환자군과 47 duo의 환자군간의 연령, 성별, 증상 등에 유의한 차이는 없었지만, 가족기반연구의 통계적 검정력(statistical power)을 떨어트리는 요인이 되었다. 넷째, DRD4 exon III VNTR 다형성 분석 결과 6가지의 대립

유전자가 나타난 것처럼 여러 대립유전자를 보이는 경우 분포의 독립성(independence) 면에서 가장 많이 이탈(deviation)되어있는 하나의 대립유전자를 정해서 비교가 가능한데,³⁴⁾ 일부 연구자들은 이러한 접근법은 통상적으로 질병과 관련된 단 하나의 대립유전자에서만 가능하다고 주장한 바 있으며 이러한 접근법이 타당한지에 대해서는 다소 논란이 있다.³⁵⁾

결론

현재 주의력결핍 과잉운동장애를 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. 기존 연구와 이번 연구에서 나타난 다양한 결과를 종합해 볼 때 도파민 수용체 유전자의 다형성이 주의력결핍 과잉운동장애 발병에 미치는 영향은 그만큼 복잡적이고 다양할 것이라고 추정할 수 있다. 따라서, 후속 연구를 통해 주요 환경적 변수를 사전에 통제하고, 전체 연구 대상 중 부모-자녀 trio의 비율을 높이는 것이 요망된다.

중심 단어 : 주의력 결핍 과잉행동장애 · 도파민 수용체 제 4형 · 유전연합연구.

References

- 1) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, ed 4. Washington DC: APA Press; 1994.
- 2) Hechtman L. Families of children with attention deficit hyperactivity disorder: a review. *Can J Psychiatry* 1996;41:350-360.
- 3) Faraone SV, Biederman J. Genetics of attention-deficit hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 1994;3: 285-302.
- 4) Stevenson J. Evidence for a genetic etiology in hyperactivity in children. *Behav Genet* 1992;22:337-344.
- 5) Ernst M, Zametkin AJ, Matochik JA, Pascualvaca D, Jons PH, Cohen RM. High midbrain[18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 1999;156:1209-1215.
- 6) Goldman-Rakic PS, Muly EC 3rd, Williams GV. D1 receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Rev* 2000;31:295-301.
- 7) Granon S, Passetti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci* 2000;20:1208-1215.
- 8) Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Wu S, Muhleman D, Blake H, et al. Comparison of the role of dopa-

- mine, serotonin, and noradrenaline genes in ADHD, ODD and conduct disorder: multivariate regression analysis of 20 genes. *Clin Genet* 2000;57:178-196.
- 9) Fisher SE, Francks C, McCracken JT, McGough JJ, Marlow AJ, MacPhie IL, et al. A genomewide scan for loci involved in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Hum Genet* 2002; 70:1183-1196.
- 10) Dulawa SC, Grandy DK, Low MJ, Paulus MP, Geyer MA. Dopamine D4 receptor knockout mice exhibit reduced exploration of novel stimuli. *J Neurosci* 1999;19:9550-9556.
- 11) Faraone SV, Biederman J, Weiffenbach B, Keith T, Chu MP, Weaver A, et al. Dopamine D4 gene 7-repeat allele and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 1999;156: 768-770.
- 12) Todd RD, Neuman RJ, Lobos EA, Jong YJ, Reich W, Heath AC. Lack of association of dopamine D4 receptor gene polymorphisms with ADHD subtypes in a population sample of twins. *Am J Med Genet* 2001;105:432-438.
- 13) Lee HJ, Lee HS, Kim YK, Kim L, Lee MS, Jung IK, et al. D2 and D4 dopamine receptor gene polymorphisms and personality traits in a young Korean population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003;121:44-49.
- 14) Kim YS, Leventhal BL, Kim SJ, Kim BN, Cheon KA, Yoo HJ, et al. Family-based association study of DAT1 and DRD4 polymorphism in Korean children with ADHD. *Neurosci Lett* 2005; 390:176-181.
- 15) Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, et al. Schedule for affective disorders and schizophrenia for schoolage children-present and lifetime version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36:980-988.
- 16) 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. *Yonsei Med J* 2004;45:81-89.
- 17) Shin MS, Ryu ME, Kim BN, Hwang JW, Cho SC. Development of the Korean version of the IOWA Conners Rating Scale. *Kor J Neuropsychiatr Assoc* 2005;44:82-88.
- 18) Korean Educational Development Institute. Korean Wechsler Child Intelligence Test for Children. Seoul: Korean Educational Development Institute;1991.
- 19) Achenbach TM. Manual for the Child Behavior Checklist /4-18 and 1991 profile. Burlington: Department of Psychiatry, University of Vermont;1991.
- 20) Oh KJ, Lee HR, Hong KE, Ha EH. Manual for K-CBCL: Korean Child Behavior Checklist. Seoul: Choong-Ang Aptitude Publisher;2001.
- 21) DuPaul GJ, Power TJ, Anastopoulos AD, Reid R. ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms, and Clinical Interpretations. New York: Guilford;1998.
- 22) So YK, Noh JS, Kim YS, Ko SG, Koh YJ. The reliability and validity of Korean parent and teacher ADHD rating scale. *Kor J*

- Neuropsychiatr Assoc 2002;41:283-289.
- 23) Loney J, Langhorne JE, Paternite CE. An empirical basis for subgrouping the hyperkinetic/minimal brain dysfunction syndrome. *J Abnorm Psychol* 1978;87:431-441.
 - 24) Shin MS, Cho SZ, Chung SY, Hong KE. A study of the development and standardization of ADHD Diagnostic System. *J Kor Acad Child Adolesc Psychiatry* 2000;11:91-99
 - 25) Hong KE, Shin MS, Cho SZ. Manual for ADHD Diagnostic System. Seoul: Korean Information Engineering;1999.
 - 26) Kotler M, Manor I, Sever Y, Eisenberg J, Cohen H, Ebstein RP, et al. Failure to replicate an excess of the long dopamine D4 exon III repeat polymorphism in ADHD in a family-based study. *Am J Med Genet* 2000;96:278-281.
 - 27) Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 1993;52:506-516.
 - 28) 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.
 - 29) Vanyukov MM, Moss HB, Yu LM, Deka R. A dinucleotide repeat polymorphism at the gene for monoamine oxidase A and measures of aggressiveness. *Psychiatry Res* 1995;59:35-41.
 - 30) Van Tol HH, Wu CM, Guan HC, Ohara K, Bunzow JR, Civelli O, et al. Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 1992;358:149-152.
 - 31) Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, et al. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991; 350:610-614.
 - 32) Mill J, Curran S, Kent L, Richards S, Gould A, Virdee V, et al. Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and the dopamine D4 receptor gene: evidence of association but no linkage in a UK sample. *Mol Psychiatry* 2001;6:440-444.
 - 33) Asghari V, Sanyal S, Buchwaldt S, Paterson A, Jovanovic V, Van Tol HH. Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. *J Neurochem* 1995;65: 1157-1165.
 - 34) Terwilliger JD. A powerful likelihood method for the analysis of linkage disequilibrium between trait loci and one or more polymorphic marker loci. *Am J Genet* 1995;56:777-787.
 - 35) Devlin B, Risch N. A comparison of linkage disequilibrium measures for fine-scale mapping. *Genomics* 1995;29:311-322.