

Multiple Infarction과 Small Artery Infarction의 독립적 위험인자로서의 Methylene tetrahydrofolate Reductase Gene Mutation

정우상, 정정욱, 박정미*, 최병욱**, 김남근, 오도연***

* 포천중문의과대학교 분당차한방병원 한의학교실 내과, ** 포천중문의과대학교 분당차병원 신경과학교실

*** 포천중문의과대학교 분당차병원 임상의학연구소

The Predictive Value of the Methylene tetrahydrofolate Reductase Gene Mutation for Multiple Infarction and Small Artery Infarction

Woo Sang Jung O.M.D., Jung Uk Jung O.M.D., Jung Mi Park O.M.D.*,
Byung Ok Choi M.D.**., Nam Keun Kim Ph.D., Do Yeun Oh M.D.***

* Department of Oriental Internal Medicine, College of Medicine,
Pochon Jung Moon University

** Department of Neurology, College of Medicine, Pochon Jung-Moon University

*** Institute for Clinical Research, College of Medicine, Pochon Jung-Moon University

Objective : Hyperhomocysteinemia has been proven to be an independent risk factor for stroke. The genetic mutation of methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) elevates serum homocysteine level, but it still remains controversial whether the MTHFR gene mutation could be a predictor of ischemic stroke. Therefore, we studied if this genetic defect could cause ischemic stroke independently.

Methods : We gathered ischemic stroke subjects and age, sex-matched controls. Age, gender, past medical history, smoking habit, serum homocysteine level, and the MTHFR genotype were recorded. General characteristics of ischemic stroke subjects were compared to the controls. We classified the stroke according to the related vessels(small and large artery infarction) and single lesion and multiple infarction. Relevant risk of the MTHFR genotype was evaluated in each stroke subtype with multiple logistic regression analysis.

Results : When the controls were compared to the whole ischemic stroke, there was no specific difference except some medical histories. However, further analysis based on stroke subtypes showed important results. The small artery infarction group, multiple infarction group had significant odds ratio of the MTHFR TT genotype adjusted for age, gender, medical history and smoking habit.

Conclusions : The MTHFR TT genotype is an independent risk factor for certain types of ischemic stroke, small artery infarction and multiple infarction.

Key Words : Methylene tetrahydrofolate reductase(MTHFR) gene, small artery infarction, multiple infarction, homocysteine

I. 緒 論

뇌졸중은 발병 후 비가역적인 신경학적 손상을 남기므로 그 예방이 무엇보다

중요하며 이를 위해 많은 위험인자들이 제시되고 있으나 아직까지 특정 유전적 인자에 대하여는 규명된 바가 없다.

Homocysteine은 아미노산의 일종으로서 혈장내에 고농도로 존재할 경우 혈관내벽에 손상을 입혀 심혈관계질환 및 뇌졸중을 야기하는 것으로 알려져 있다.^{1,2,3} Homocysteine의 혈장내 농도는 환경적, 유전적 인자에 의해 영향을 받는데, 유전적 인자의 대표적인 것이 methylenetetrahydrofolate reductase

접수 : 2002년 2월 7일 채택 : 2002년 4월 30일

교신저자 : 정우상 (경기도 성남시 약삼동 351 포천중문의대 분당차병원 한방내과, 전화 : 031)780-6101, FAX : 031) 780-6120, E-mail : WSJung@cha.ac.kr)

(MTHFR) gene이다.⁴ 이 MTHFR gene의 변이는 homocysteine의 대사에 영향을 주어 고농도의 혈중을 유발시키므로 MTHFR gene 변이가 뇌졸중의 유전적 위험인자가 될 수 있는 개연성은 있으나 아직까지는 확실히 정립되어 있지 않으며 직접적인 영향은 없다는 보고가 우세하다.^{5,6} 그러나 기존의 연구가 뇌경색 전체를 대상으로 대부분 이루어졌으며 뇌경색 중에도 유형에 따라 다른 병태생리를 가짐을 고려할 때, 저자 등은 뇌졸중 유형에 따라 MTHFR gene 변이가 독립적 위험인자가 될 수 있는지 여부를 확인하기 위하여 본 연구를 시작하였다.

II. 本 論

1. 연구대상

2000년 12월 1일부터 2001년 10월 1일까지 분당차병원에 내원한 급성기 및 만성기 뇌경색 환자군과, 성별 및 나이가 짝지어진 뇌졸중이 아닌 대조군을 대상으로 하였다. 뇌경색의 진단은 신경학적 검사 및 Brain MRI, carotid doppler, echocardiogram 등을 토대로 이루어졌으며, large artery infarction 군과 small artery infarction군으로 분류하였다.⁷ large artery infarction은 두 개내·외 대혈관의 폐색이 확인되거나 경동맥이나 중대뇌동맥같은 주요 분지 또는 추골, 기저, 후대뇌 동맥 등의 죽상 혈전증이 뇌경색의 원인으로 추정되는 경우로 정의하였으며, small artery infarction군은 의식 저하나 대뇌피질의 병변 없는 전통적인 열공성 뇌경색 및 피질하 경색에 속하는 경우로 하였다. 또한 병소에 따라 multiple infarction과 single infarction을 구분하였다.

2. 연구방법

대조군 및 뇌경색군의 성별, 연령, 과거력, 혈중 homocysteine 농도, 및 MTHFR genotype을 측정하였다. Homocysteine은 8시간 공복 후 아침 식전에 환자의 상박 정맥에서 채혈하였으며 Fiskerstrand 등의 방법⁸에 따라 high-performance liquid chromatography로 serum total level을 측정하였다. DNA는 환자의 혈액에서 추출한 백혈구로부터 분리하여 Polymerase chain reaction (PCR)으로 증폭하여 HinfI 효소로 처리하여 전기영동한 후 genotype을 관찰하였다.⁴

3. 통계분석

대조군과 뇌경색군과의 일반속성 비교에 있어 연속변수는 Independent t-test를, 계수 및 비율변수는 Chi-square test를, 정규분포를 따르지 않는 혈중 homocysteine 농도의 비교는 비모수적 검정인 Mann-Whitney U test를 사용하였다. MTHFR gene mutation의 비교위험도는 Multiple logistic regression을 이용해 분석하였으며 모든 통

계분석은 SPSS for win. ver 6.5로 이루어졌다.

4. 연구결과

1) 대조군과 뇌경색군의 관찰항목 분석
대조군과 뇌경색군은 각 106레이며, 성별 및 연령의 분포는 동일하였다. 과거력에 있어서 고혈압, 당뇨, 고지혈증, 심방세동의 유병율이 뇌경색환자에게 많았으며 흡연자의 분포는 차이가 없었다. 혈중 homocysteine 농도는 뇌경색군이 대조군보다 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았으며(10.8 ± 5.4 vs. 9.8 ± 4.2 , $P > 0.05$), hyperhomocysteinemia ($>15 \mu\text{mol/L}$)의 비율에서도 뇌경색군이 높았으나 역시 통계적 유의성은 없었다(17.0% vs. 7.5% , $P > 0.05$). MTHFR genotype의 분포에서도 양군간 유의한 차이는 없었다.(Table 1.)

2) 뇌경색 유형별 관찰항목 분석
경색이 일어난 혈관에 따라 small artery infarction과 large artery infarction으로 나누고, 병소에 따라 single infarction과

Table 1. General Characteristics of Control and Ischemic Stroke Subjects.

	Control (n=106)	Stroke (n=106)	P-value*
Age, yr	59.7±11.1	59.6±10.8	> 0.05
Gender, Male	54	53	> 0.05
Medical history			
Hypertension	47	78	< 0.001
Diabetes Mellitus	13	33	< 0.01
Hyperlipidemia	30	49	< 0.05
Atrial fibrillation	2	11	< 0.05
Smoking	28	22	> 0.05
Homocysteine, $\mu\text{mol/L}$	9.8±4.2	10.8±5.4	> 0.05
Hyperhomocysteinemia, ($>15 \mu\text{mol/L}$)	8	18	> 0.05
MTHFR genotype			
CC	35	26	
CT	54	54	> 0.05
TT	17	26	

*: Chi-square test for categoric variables, independent Student's t-test for continuous variables, and Mann-Whitney U test for homocysteine

multiple infarction으로 나누어 각각의 군을 대조군과 비교하였다. Single infarction과 large artery infarction은 대조군에 비해 고혈압, 당뇨, 심방세동 등 알려진 위험인자의 유병율이 많았으나 homocysteine이나 MTHFR genotype의 차이는 없었다. Small artery infarction과 multiple infarction에서는 고혈압, 당뇨 등 기존의 위험인자에서 높은 유병율을 보였으며 높은 homocysteine 수치 및 MTHFR gene mutation이 관찰되었다. (Table 2.)

3) 뇌경색 유형별 MTHFR gene mutation의 비교위험도 분석

Heterozygote mutation(CT)은 모든 유형의 뇌경색에서 위험인자로서의 의미를 가지지 못했으나, homozygote mutation(TT)의 경우 small artery infarction과 multiple infarction에서 유의한 비교위험도를 나타내었다. (Table 3.)

III. 考 察

Homocysteine은 thiol을 함유한 아미노산의 일종으로 동물성 단백질섭취의 분해산물이며 체내에서 cystathionine-β-synthase에 의해 cystathionine로 대사되거나 methionine

synthase에 의해 methionine으로 대사된다. 이 과정에서 5-methyltetrahydrofolate가 homocysteine에 methyl기를 제공하고 tetrahydrofolate로 전환되며 methyl기가 빠진 tetrahydrofolate는 5-10 methylenetetrahydrofolate로 변하고, 이는 다시 methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)의 도움으로 5-methyltetrahydrofolate로 전환된다. 따라서 MTHFR을 생성하는 유전자의 변이로 MTHFR이 결핍되면 homocysteine의 대사가 억제되어 hyperhomocysteinemia가 유발되는데, 이는 혈관 내벽에 손상을 입혀 여러가지 혈관질환을 야기하는 위험인자가 된다.^{3,4,9}

MTHFR gene nucleotide 677의 cystine이 thymine으로 변이되면 hyperhomocysteinemia가 유발된다는 것은 알려진 사실이나 C677T 변이 자체가 뇌졸중 등 혈관질환의 독립적 위험인자가 되는가에 대하여는 아직 정설이 없는데, 그 이유는 기존의 연구가 대조군과 뇌경색군 전체를 비교하는 것이 주류이었기 때문이라고 사료된다.^{5,6,10}

본 연구에서도 대조군과 전체 뇌경색군의 비교에서는 기존의 알려진 뇌졸중 위험인자인 고혈압, 당뇨 외에, homocysteine수치 및 MTHFR gene 변이에서는 유의한 차이를 보이지 않아 기존의 보고와 일치하는 결과를 보였다.^{6,10} 그러나, 뇌경색군을 병소의 개수 및 손상혈관의 대소에 따라 구분하여 각각 대조군과 비교한 결과 small artery infarction과 multiple infarction에서 높은 homocysteine 및 MTHFR gene 변이를 관찰할 수 있었다. 이는 atherosclerosis를 주원인으로 하는 뇌경색 유형이 small artery infarction과 multiple infarction이라는 것을 상기할

Table 2. Comparison to the Control Group according to Ischemic Stroke Subtypes.

	Lesion location		Involved vessel	
	Single (n=59)	Multiple (n=47)	Small (n=63)	Large (n=43)
Age, yr	56.8 10.8	63.1 10.0	59.2 11.7	60.2 9.5
Gender, Male(%)	29(49.2)	24(51.1)	33(52.4)	20(46.5)
Medical history(%)				
Hypertension	39(66.1)†	39(83.0)*	49(77.8)*	29(67.4)*
Diabetes Mellitus	18(30.5)†	15(31.9)†	16(25.4)	17(39.5)*
Hyperlipidemia	25(42.4)	24(51.1)*	27(42.9)	22(51.2)*
Atrial fibrillation	10(16.9)†	1(2.1)	2(3.2)	9(20.9)*
Smoking(%)	13(22.0)	9(19.1)	14(22.2)	8(18.6)
Homocysteine, μmol/L	9.3±3.8	12.8±6.4*	11.5±5.5	10.0±5.2
Hyperhomocysteinemia, (>15μmol/L) (%)	5(8.5)	13(27.7)†	13(20.6)	5(11.6)
MTHFR genotype (%)				
CC	17(28.8)	9(19.1)	10(15.9)	16(37.2)
CT	36(61.0)	18(38.3)	32(50.8)	22(51.2)
TT	6(10.2)	20(42.6)†	21(33.3)*	5(11.6)

*: P<0.05, † : P<0.01, ‡ : P<0.001 by chi-square test for categoric variables, independent Student's t-test for continuous variables, and Mann-Whitney U test for homocysteine vs. controls.

Table 3. Relative Risk Assessment of MTHFR Gene Mutation according to Ischemic Stroke Subtypes.

	Lesion location		Involved vessel	
	Single (n=59)	Multiple (n=47)	Small (n=63)	Large (n=43)
Normal, CC	1.00	1.00	1.00	1.00
Heterozygote, CT	1.45 (0.64-3.26)	1.27 (0.45-3.61)	2.14 (0.87-5.25)	0.96 (0.39-2.36)
Homozygote, TT	1.19 (0.29-4.84)	3.63 (1.19-11.10)	4.32 (1.49-12.55)	0.40 (0.08-2.01)

Values are odds ratios and 95% confidence intervals adjusted for age, gender, hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidemia, atrial fibrillation, and smoking by multiple logistic regression.

때, homocysteine이 혈관내벽에서 atherosclerotic change를 유발한다는 점과 부합된다. MTHFR TT genotype과 stroke의 관계는 직접적 관계를 가지지 않는다거나 또는 moderate risk factor로서의 의미가 있다는 보고는 있으나^{6,10} independent risk factor라는 보고는 없었다. 다만, stroke에서의 높은 TT genotype 및 multiple infarction과의 유의한 관련성에 대해서는 최근 보고된 바 있는데,^{5,11} 본 연구에서는 homozygote mutation (TT)이 small artery infarction과 multiple infarction에서 성별, 나이, 기왕력 등을 보정하고도 유의한 odds ratio를 가짐으로써 TT genotype의 multiple infarction과의 관련성 확인 및 그동안 연구되지 않았던 small artery infarction과의 관련성을 입증하였다는데서 그 의미를 찾을 수 있었다.

5-methyltetrahydrofolate가 tetrahydrofolate로 전환되는 과정에서 vitamine B12가 관여하며 tetrahydrofolate는 외부에서 섭취된 folate로부터 만들어지므로 folate 및 vitamine B12의 공급으로 MTHFR 결핍에 의한 homocysteine의 상승을 억제할 수 있다.^{12,13,14} 따라서 micro-angiopathy에 의한 뇌경색의 예방을 위해 MTHFR genotype에 대한 검사가 임상적으로 필요하며, 특히 TT genotype의 경우 multivitamin therapy를 통해 hyperhomocysteinemia를 방지하는 것이 고혈압에 대한 관리 못지않게 small artery infarction 및 multiple infarction의 예방에 중요하다 할 것이다.

參考文獻

1. Kang SS, Wong PWK, Malinow MR.

- Hyperhomocystinemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr* 1992;12:279-98.
2. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Cardiol* 1996; 27:517-27.
3. Yoo JH, Chung CS, Kang SS. Relation of plasma homocysteine to cerebral infarction and cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1998;29:2478-83.
4. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RF, Boers GJH et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-3.
5. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Biol* 1998;18:1465-9.
6. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1997;28:1739-43.
7. HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993;24:35-41.
8. Fiskerstrand T, Refsum H, Kralheim G, Ueland PM. Homocysteine and other thiols in plasma and urine:

- automated determination and sample suitability. *Clin Chem* 1993;39:263-71.
9. Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PWK, Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1996;88:1463-9.
10. Harmon DL, Doyle RM, Meleady R, Doyle M, Shiels DC, Barry R et al. Genetic analysis of the thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for ischemic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;99:208-211.
11. Yoo JH, Choi GD, Kang SS. Pathogenicity of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase for vascular dementia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1921-5.
12. Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, Davignon J, Latour Y, Genest J Jr et al. Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, pyridoxal phosphate, and folate. *Am J Cardiol* 1995;75:1107-11.
13. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
14. Blount BC, Mack MM, Wehr CM, MacGregor JT, Hiatt RA, Wang G et al. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997;94:3290-5.