

Apolipoprotein E 유전자형과 알츠하이머형 치매의 통계적인 고찰

의료법인 삼광의료재단¹, 서울보건대학 임상병리과², 주한 미육군 121 종합병원 임상병리과³

정안나¹ · 이연주¹ · 최삼규¹ · 박정오² · 우명수² · 유경래³

A Study on the Statistical Evaluation of Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer's Disease

Jung, An Na¹, Lee, Yoen Ju¹, Choi, Sam Kyu¹, Park, Jung Oh², Woo, Myoung Soo², Yu, Kyong Nae³

Samkwang Reference Laboratories Seoul, Korea¹

Department of Clinical Laboratory Science, Seoul Health College, Sunghnam Korea²

Department of Clinical Pathology 121st General Hospital USFK, Seoul, Korea³

Apolipoprotein E is the major lipid-carrier protein in the brain, and several studies provided evidence that apolipoprotein E(ApoE) epsilon4 allele can be considered a genetic risk factor for Alzheimer's disease(AD). Inheritance of the APOE gene has three alleles: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$. There are six possible genotypes: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 4$. AD is characterized by a progressive loss of function and death of nerve cells in several areas of the brain. The $\epsilon 4$ allele is associated with a risk for developing AD. People with the $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotype have the highest risk, but people with the $\epsilon 2/\epsilon 4$ or $\epsilon 3/\epsilon 4$ genotypes are also likely to develop the disease. 64.3% of people carry the is $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype, 22.1% carry the second $\epsilon 3/\epsilon 4$ genotype but, $\epsilon 2/\epsilon 2$ genotype is not usually found of people carry the 3.6% is $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotype in a total of a test group of 140 people. The ratio of $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotype related directly with AD is less than the $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype, but the $\epsilon 2/\epsilon 4$ and $\epsilon 3/\epsilon 4$ genotype ratio of indirect AD risk is 25.7% in the group of people, regardless. Thus, we have referred to the benefit from the treatment of AD through apoE genotype diagnosis.

Key Words : Apolipoprotein E(APOE), Alzheimer's disease(AD)

I. 서 론

Apolipoprotein E는 chylomicron, HDL(High Density Lipoprotein), LDL(Low Density Lipoprotein), VLDL(Very Low Density Lipoprotein) 같은 혈장의 정상 구성성분인 lipoprotein의 구성단백질을 coding하는 gene으로 19번 염

색체에 위치하여(Erkkila 등, 2001), 지방 운반 물질로서 중추 및 말초 신경계의 손상 후 지방대사를 조절하는 핵심적 역할을 한다(Bolyes 등, 1989). 특히 Apo E는 중추 신경계에서 신경의 회복 과정 중 콜레스테롤의 대사, 발생과정이나 손상 후의 수초(myelin)와 신경막의 성장과 유지에 도움을 주는 것으로 알려져 있다(Bolyes 등, 1989; Poirier 등 1994). 유전되는 ApoE gene에는 3가지의 대립 유전자 type인 $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ 가 있으며, 모든 사람은 각 부모로부터 ApoE gene의 한 개를 대립유전자로 물려받게 되고 총 6개의 genotype인 $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$,

교신저자 : 박정오, (우)461-703 경기도 성남시 수정구 양지동 212, 서울보건대학 임상병리과
Tel : 031-740-7138
E-mail : chungoh@shjc.ac.kr

$\epsilon 3/\epsilon 4$ 로 분류된다(Mikko, 2000). 알츠하이머형 치매는 뇌의 여러 부분에서 신경 세포와 점진적인 기능 소실에 의해 발생하는 질환이며(Mikko, 2000), 대부분의 증상은 기억상실, 판단력 상실, 개인성 변화를 나타낸다. 알츠하이머형 치매(Alzheimer's disease, AD)의 진단에 여러 가지 보조적인 검사들이 제시되고 있으며 그 중 하나가 apolipoprotein E 유전자형 검사이다(Corder 등, 1993; Craig 등, 2004; Donohoe, 1999).

지금까지 수많은 분자병리학적 실험 결과 많은 유전자들이 AD의 증상과 밀접한 관련이 있다는 것을 알게 되었는데, $\epsilon 4/\epsilon 4$ 유전자형은 AD로 발전하는데 가장 위험한 요소이고, $\epsilon 2/\epsilon 4$ 와 $\epsilon 3/\epsilon 4$ 유전자형 또한 AD로 발전될 확률이 높다. 그러나 $\epsilon 4$ 인자가 있다고 해서 반드시 AD로 발전되는 것은 아니지만 AD 환자의 40%가 $\epsilon 4$ 대립인자를 갖고 있는 것으로 보아 안심할 수는 없는 것이다(Mikko, 2000). 그러나, ApoE isoform의 생물학적 대사가 AD 신경병발생에 어떻게 영향을 미치는지 그 기전은 아직 완전하게 밝혀지지 않았으며 다만, ApoE의 $\epsilon 4$ 가 항체 축적을 촉진시키거나 peptide clearance에 영향을 미친다는 것이 보고되고 있는 실정이다(Itzhaki, 2004; Poirier 등, 1991; Wenham 등, 1991; Zivelin 등, 1997).

따라서 AD의 조기진단은 혈관성치매(vascular dementia, 이하 VD)등 다른 치매의 원인들을 감별하는데 도움을 줄 뿐 아니라 조기에 AD에 특이적인 약물치료를 시행함으로써 AD의 진행에 효과적인 처치가 가해질 수 있다는 점에서 중요하다. 특히 최근에는 AD의 자연 경과를 지연시키거나 변화시키는 약물에 대한 개발이 활발해짐에 따라(Knopman 등, 1997; Medical News, 1996) AD 환자의 조기진단, 조기 치료가 최근 AD 연구 및 치료에서 매우 중요하다.

이에 본 연구에서는 AD환자의 증가와 중요도가 높아짐에 따라 AD와 관련된 ApoE 유전자형의 유형별 분포를 검토하여 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

2003년 2월부터 2004년 7월까지 본 검사실에 의뢰된 140명의 AD환자이거나 환자로 의심되는 검체를 대상으로 하였다.

2. 방법

검체(EDTA blood)에서 genomic DNA를 추출하고 ApoE PCR kit을 이용하여 특이적으로 증폭하고, 전기영동상에서 각 위치의 띠를 확인하였다(Table 1).

Table 1. ApoE PCR

Solution		Sample 량
ApoE Mixture 1 및 2		15
ApoE PCR Enzyme		0.5
Total		15.5uL

Temperatures / Times	Cycles
95°C / 5min	1
94°C / 1min 64°C / 1min 72°C / 1.5min	35
72°C / 5min	1

b. 통계처리

2003년 2월부터 2004년 7월까지의 ApoE 검사 결과를 6가지의 ApoE 유전자형 별로 분류하여 실제로 AD로 진행될 빈도가 높고 유효한 유전자형 건수를 구분하였다.

Table 2. Results of classification on ApoE genotype

Type	$\epsilon 2/\epsilon 2$		$\epsilon 3/\epsilon 3$		$\epsilon 4/\epsilon 4$		$\epsilon 2/\epsilon 3$		$\epsilon 2/\epsilon 4$		$\epsilon 3/\epsilon 4$	
Mixture tube	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Position (bp)	501	365	501	365	501	365	501	365	501	365	501	365

III. 결과

140개 검체 중 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 유전자형은 90건(64.3%)이었고, $\epsilon 3/\epsilon 4$ 유전자형이 31건(22.1%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ 유전자형 9건(6.4%), $\epsilon 2/\epsilon 4$ 유전자형 5건(3.6%), $\epsilon 4/\epsilon 4$ 유전자형 5건(3.6%), $\epsilon 2/\epsilon 2$ 유전자형 0건(0%)순이었다(Table 3, Fig. 2).

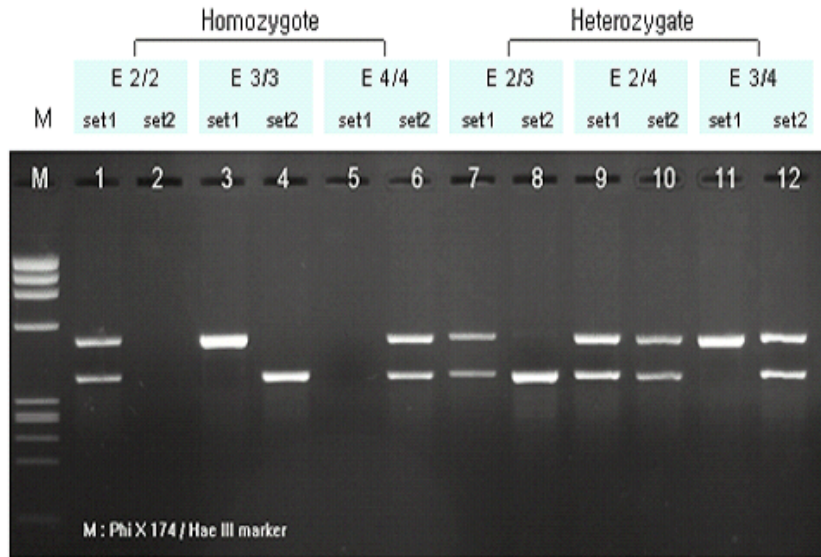


Fig. 1. Electrophoresis of apoE Genotypes

Table 3. The Number of Cases and Ratio on apoE Genotype

ApoεType	Total(N=140)	Ratio(%)
ε2/ε2	0	0
ε3/ε3	90	64.3
ε4/ε4	5	3.6
ε2/ε3	9	6.4
ε2/ε4	5	3.6
ε3/ε4	31	22.1

전체 건수 중 총 AD 유효 건수는 모두 41건(29.3%)으로 비교적 높은 빈도를 나타냈다. 또한, AD 유효 건수 중에서도 36건이 ε2/ε4와 ε3/ε4 유전자형으로 대부분을 차지하였다(Table 4).

Table 4. The number of efficacy cases and ratio on AD

AD Cases	Cases	Ratio(%)
AD possible cases(ε2/ε4, ε3/ε4)	36	87.8
AD high possible cases(ε4/ε4)	5	12.2
Total AD efficacy cases	41	100

IV. 고 찰

현대의 대표적 불치병의 하나인 유전성 치매 즉, 알츠하이머형 치매는 뇌의 여러 부분에서 신경 세포사와 점

진적 기능 소실에 의해 나타나는 질환이다. 서양에서는 AD 환자의 대략 70%에서 최소한 하나의 Apo ε4 대립유전자를 갖고 있다고 한다(Roses AD, 1996). 또한 치매환자가 특이도가 높으므로, Apo E 유전자형 검사는 AD에 있어서 학문적 관심의 차원이 아니라 진단적 가치가 있는 검사방법이 될 가능성이 있다(Roses 등, 1997). 이를 이용하여 근래에 ApoE 유전자형 검사를 실시하여 제한적이지만 AD로 진행될 가능성이 높은 환자에게 미리 예방을 할 수 있도록 의학정보를 제공하고 있다.

본 연구에서 대부분 건수는 ε3/ε3 유전자형으로 90건(64.3%)이었고, ε3/ε4 유전자형이 31건(22.1%)으로 두 번째로 많았다. 그 다음 ε2/ε3 유전자형 9건(6.4%), ε2/ε4 유전자형 5건(3.6%), ε4/ε4 유전자형 5건(3.6%) 순이다. 그러나 ε2/ε2 유전자형은 건수가 하나도 없었다. AD로 발전될 확률이 가장 높은 ε4/ε4 유전자형의 건수는 총 140건수 중 5건으로 희귀 유전병인 만큼 차지하는 비율이 당연히 빈도수가 낮다고 생각할 수 있겠지만, ε4/ε4 유전자형 뿐만 아니라 ε2/ε4, ε3/ε4 유전자형도 ε4 인자의 영향으로 인하여 AD로 진행될 가능성이 있으므로, 전체 건수 중 총 AD 유효 건수는 모두 41건(29.3%)으로 비교적 높은 빈도를 나타냈다. 또한, AD 유효 건수 중에서도 36건이 ε2/ε4와 ε3/ε4 유전자형으로 대부분을 차지하였다(Table 4).

위 결과가 얻어진 의뢰된 검체 140건은 전국에서 본 검사실에 의뢰된 것으로, 통계적인 분석을 하였지만, 의뢰한 병원 중 한 병원이 50%를 차지하여 다소 치우친 통

계분석의 가능성도 있다. 그러나, 유전자형별 분포율을 보았을 때, 가장 보편적인 ApoE 유전자형은 ε3/ε3형 유전자로 건수가 가장 많았고 다음으로 ε3/ε4 형, ε2/ε3 형의 순을 나타냄은 결과와 일치함을 보였다. 정상인에서 ε3 유전자가 가장 많이 나타나고, ε2 유전자는 고지혈증과 관련이 있으며, ε4 유전자가 AD 환자에서 가장 높게 나타남을 고려할 때 전국 병원들의 보다 많은 환자를 대상으로 ApoE 유전자형 통계를 낸다면 AD 유효 건수는 더욱 늘어날리라 예상된다.

V. 결 론

본 검사실에 의뢰된 총 140명의 검체 중 ε3/ε3 유전자형이 대부분을 차지하고, AD에 직접적 연관이 있는 ε4/ε4 유전자형은 상대적으로 그 수가 적지만, 간접적 연관이 있으면서 AD의 위험도가 높은 ε2/ε4와 ε3/ε4 유전자형은 전체 6가지 type 중에서 25.7%로 그 유효성을 배제할 수는 없다고 생각된다. 더불어 Apoε4 유전자를 가지고 있다고 해서 AD에 걸릴 가능성이 반드시 존재한다는 것은 아니며 단지 정상인보다 출현 비율이 높다는 것을 의미하므로, 가계적으로 소인이 있는 사람들에게 Apo E 유전자형 분석검사는 예방의학적 측면에서 도움을 줄 수 있는 것이다. 이에 Apo E 유전자형 분석 방법은 최신 분자생물학적 기법인 중합효소연쇄반응(PCR)을 이용한 것으로 신속하고 정확하게 ApoE 유전자형의 구분이 가능하다. 그러므로 Apo E 유전자형 분석은 AD환자에 대해 Apo E 유전자의 다형성을 규명하는 것이 진단이나 치료에 도움이 되고, 치매의 원인 규명과 조기 예방 등을 위한 검사로서 아직까지 난치성 질환으로 불리는 AD의 가능성을 미리 파악하여, AD로의 진행을 예방할 수 있는 기초 자료로서 유용성이 클 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Boyles JK, Zoellner CD, Anderson LJ, Kosik LM, Pitas RE, Weisgraber KH et al. A role for apolipoprotein E, apolipoprotein A-1 and low density lipoprotein receptors in cholesterol transport during regeneration and remyelination of rat sciatic nerve. *J Clin Invest* 83:1015-1031, 1989

2. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE. Gene dose of Apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 13:261(5123):828-829, 1993
3. Craig D, Hart DJ, McCool K, McIlroy SP, Passmore AP. Apolipoprotein E e4 allele influences aggressive behaviour in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(9):1327-1330, 2004
4. Donohoe GG, Salomaki A, Lehtimaki T, Pulkki K, Kairisto V. Rapid identification of Apolipoprotein E genotype by multiplex amplification refractory mutation system. *Clin Chem* 45(1):43-146, 1999
5. Erkkila AT, Sarkkinen ES, Lindi V, Lehto S, Laakso M, Uusitupa MI. APOE polymorphism and the hypertriglyceridemic effect of dietary sucrose. *Am J Clin Nutr* 73:746, 2001
6. Itzhaki R. Herpes simplex virus type 1, apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Herpes* 11 Suppl 2:77A-82A, 2004
7. Knopman DS, Morris JC. An update on primary drug therapies for Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 54:1406-1409, 1997
8. Mikko H. A molecular genetic study of factors involved in Alzheimer's disease. Series of Reports, *Department of Neurology* 53:81, 2000
9. Poirier J, Hess M, May PC, Finch CE. Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Mol Brain Res* 11:97-106, 1991
10. Poirier J, Aubert I, Bertrand P. Apolipoprotein E4 and cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease: A role for the amyloid / apoE4 complex?: Giacobini E, Beker RE, eds. Alzheimer's disease : Therapeutic strategies. p72-76, Birkhauser, Boston, 1994
11. Roses AD. Apolipoprotein E allele as risk factors in Alzheimer's disease. *Ann Rev Med* 47:387-400, 1996
12. Roses AD, Saunderson AM. Apolipoprotein E genotyping as a diagnostic adjunct for Alzheimer's disease. *Internat psychogeriatr* 9 suppl 1:277-288, 1997
13. Spell C, Kolsch H, Lutjohann D, Kerksiek A, Hentschel F, Damian M, Von Bergmann K, Rao ML, Maier W, Heun R. SREBP-1a Polymorphism

- Influences the Risk of Alzheimer's Disease in Carriers of the ApoE4 Allele. *Dement Geriatr Cogn Disord* 29(18):245-249, 2004
14. Wenham PR, Newton CR, Price WH. Analysis of Apolipoprotein E genotypes by the amplification refractory mutation system. *Clin Chem* 37(2):241-244, 1991
 15. Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U. Improved method for genotyping Apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. *Clin Chem* 43(9):1657-1659, 1997