

주의력결핍 과잉행동장애와 노르에피네프린 수송체 유전자 다형성의 연관성

송정은¹⁾ · 육기환²⁾ · 이성희³⁾ · 김소원³⁾ · 이민구³⁾ · 홍현주⁴⁾

분당 제생병원,¹⁾ 차의과학대학교 분당차병원 정신과학교실,²⁾
연세대학교 의과대학 약리학교실,³⁾ 한림대학교 의과대학 정신과학교실⁴⁾

Case-Control Association Study of the Norepinephrine Transporter Gene Polymorphism in Children with ADHD

Jungeun Song, M.D.¹⁾, Ki-Hwan Yook, M.D., Ph.D.²⁾, Sung Hee Lee, M.D.³⁾,
So Won Kim, M.D.³⁾, Min Goo Lee, M.D., Ph.D.³⁾ and Hyun Ju Hong, M.D., Ph.D.⁴⁾

¹⁾Department of Psychiatry, Bundang Jesaeng Hospital, Seongnam, Korea

²⁾Department of Psychiatry, Bundang CHA Hospital, School of Medicine, CHA University, Seongnam, Korea

³⁾Department of Pharmacology, Pharmacogenomic Research Center for Membrane Transporters,
College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

⁴⁾Department of Psychiatry, Hallym University College of Medicine, Anyang, Korea

Objectives : This study aimed to examine the association between norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphisms and attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and to examine the relationship between the genotypes and allele variants of SLC6A2 and results of the Korean version of the parent ADHD rating scale (K-ARS).

Methods : We examined the association between ADHD and norepinephrine transporter gene polymorphism using DNA from 137 Korean children with ADHD and 120 normal controls. We compared the genotype distributions and allele frequencies of SLC6A2 polymorphism between the control group and the ADHD group. Then, we correlated the children's K-ARS mean totals, inattention scores, and hyperactivity/impulsivity scores with the genotypes and alleles for each SLC6A2 polymorphism.

Results : There were no significant differences in genotype and allele distribution for each SLC6A2 polymorphism, as shown by the Chi-square test ($p > .01$). There was a trend toward a difference in allele frequency in rs 5568, but it was not statistically significant after adjusting for multiple comparisons ($p = .048$). Also, there were no significant differences in K-ARS scores according to the genotypes and alleles for the SLC6A2 polymorphisms.

Conclusion : Our study found no significant evidence of an association between SLC6A2 polymorphisms and ADHD.

KEY WORDS : ADHD · SLC6A2 · Polymorphism · K-ARS.

서 론

주의력결핍 과잉행동장애(attention-deficit hyperactivity

접수완료 : 2009년 9월 30일 / 심사완료 : 2009년 11월 10일

Address for correspondence : Hyun Ju Hong, M.D., Ph.D., Department of Psychiatry, Hallym University Sacred Heart Hospital, 896 Pyeongchon-dong, Dongan-gu, Anyang 431-070, Korea

Tel : +82.31-380-3750, Fax : +82.31-381-3753

E-mail : honghj88@gmail.com

본 연구는 2009년도 보건과학기술연구개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임(A030001).

disorder, ADHD)는 3~5%의 유병율을 가진 흔한 질환으로¹⁾ 국내 초등학생을 대상으로 한 연구에서는 4~5%의 유병율이 보고되었다.²⁾ 이 질환은 과잉행동/충동성, 부주의 등의 주요 증상을 보이며, 학업적 사회적 기능의 손상 뿐 아니라 나아가 성인이 되어서는 직업적 기능까지 손상을 보인다고 알려져 있다. 동반되는 정서 및 행동문제들도 다양하고 심각하여 불안, 우울, 공격성, 비행, 교통사고, 약물중독 등의 많은 문제를 동반한다.³⁾ ADHD 아동의 부모나 형제의 20~30%가 역시 같은 질환을 갖고 있고,^{4,5)} 쌍생아 연구에서 일란성

쌍생아가 이란성 쌍생아에 비해 더 높은 일치율을 보인다.⁶⁾ 입양 연구에서도 ADHD 환자의 생물학적 부모와 형제자매에서 입양 부모와 형제자매보다 ADHD 발병율이 2~3배 높은 것으로 보고되는 등⁷⁾ 여러 연구에서 ADHD의 유전적 원인의 중요성이 밝혀져 왔다.

이러한 연구 결과를 바탕으로 하여 주의력결핍 과잉행동장애와 연관 있는 유전자를 찾는 연구들이 진행되어 왔으며 기존의 신경생물학적인 연구나 약리학적인 연구를 바탕으로 도파민, 노르에피네프린의 수송체와 수송체 및 이들 신경전달 물질의 합성, 불활성화와 분해, 분비에 관한 연구들이 진행되고 있다.⁸⁾ 노르아드레날린성 신경계는 집중, 민첩, 각성 등의 고위 피질 기능의 조절과 연관되어 있기 때문에 ADHD의 병인론에 중요한 부분으로 간주되고 있다. 특히 전두엽의 경우 도파민 수송체 밀도가 낮아 노르에피네프린 뿐 아니라 도파민의 재흡수에도 노르에피네프린 수송체(Norepinephrine transporter, NET)가 중요한 역할을 한다.⁹⁾ 신경 화학적 연구에서도 정상 대조군에 비하여 ADHD군에서 소변의 노르에피네프린 대사물인 3, 4-dihydroxy-phenylglycol과 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG)이 낮게 검출되어 노르에피네프린이 ADHD와 연관성이 있음을 시사하였다.¹⁰⁾ 또한 ADHD rat 모델에서는 노르에피네프린 분비의 α_2 수송체를 통한 억제가 감소되면 rat에서 과활동이 유발되었다.¹¹⁾

NET는 전시냅스말단으로 노르에피네프린을 재흡수하는 역할을 하므로 노르에피네프린을 통한 신호 전달의 강도와 지속시간에 영향을 주어 ADHD의 병인론에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어 왔으며 ADHD의 효과적인 치료 약물의 표적이 되어 왔다.¹²⁾ NET 유전자를 파괴한 쥐에서 코카인과 암페타민에 대한 민감성이 증가되었고¹³⁾ 특히 NET에 높은 선택적 효과를 보이는 아도복세틴이 ADHD치료에 효과를 보이는 것은¹⁴⁾ 더욱더 NET가 ADHD의 병인론에 중요한 역할을 하는 것을 뒷받침한다.

NET유전자(NET1, SLC6A2)는 16q12.2에 위치하고 있으며 14개의 엑손으로 이루어져 있고 약 300개의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)이 밝혀져 있다.¹⁵⁾ SLC6A2는 ADHD의 병인론에 관계된 후보유전자로서 여러 연구가 진행되어 왔으며 SLC6A2의 SNP 중 rs 3785157, rs 998424 등이 ADHD와 연관 있다는 연구결과들이 있었다.^{16,17)} 유럽의 776명의 ADHD 복합형 환자와 674가족을 대상으로 한 다기관 연구(International Multisite ADHD gene, IMAGE)¹⁸⁾에서는 ADHD와 연관된 51개의 유전자중에서 1,038가지의 SNP를 분석하였으며 분석된 23개의 SLC6A2중에 2개의 SNP(rs 3785143, rs 11568324)가

의미 있는 것으로 보고 하였다.

현재까지 유전형에 따른 ADHD의 임상증상을 분류하려는 많은 연구들이 진행되어 왔다. 유전형과 ADHD의 표현형과의 관계를 연결시키려는 개념을 바탕으로 진행 된 여러 연구 중 도파민 수송체 유전자의 유전형에 따라 연속수행검사 결과에 차이가 있다는 보고들이 있었다.¹⁹⁾ 그러나 NET 유전자형에 따른 ADHD의 임상적 특징을 연구한 결과는 많지 않았고 -3081(A/T) 다형성에 따른 연속수행검사의 항목별 점수 비교를 한 연구²⁰⁾에서 A/T 또는 T/T유전형을 가진 군이 A/A 유전형을 가진 군보다 연속수행검사의 반응시간 표준편차 점수가 다소 높은 경향을 보였다.

한국인 ADHD를 대상으로 NET유전자에 대한 연구는 아직 부족한 실정으로 본 연구는 Bobb 등¹⁷⁾의 연구에서 ADHD와 연관 있다고 보고된 rs 998424를 포함한 5가지 SLC6A2 SNPs(rs 2242446, rs 5568, rs 5569, rs 998424, rs 1610905)와 ADHD의 연관성을 보고 또한 각 SNP의 유전자형과 대립형질에 따른 한국판 부모용 ADHD 평정척도(Korean version parent ADHD rating scale, K-ARS)²¹⁾ 점수를 비교하기 위한 연구이다.

방 법

1. 연구대상

본 연구를 위해 ADHD군은 2006년에서 2008년까지 한림대학교 성심병원과 분당 차병원 정신과 외래에 내원한 만 6세에서 18세 사이의 아동 중 일차적으로 정신 장애의 진단 및 통계 편람 제 4판(DSM-IV)의 ADHD 진단 기준을 충족시키고 과거 메틸페니데이트를 포함한 정신과적 약물을 복용한 적이 없는 아동을 대상으로 하였다. 또한 K-ARS점수 19점 이상을 만족하는 군만을 포함하였다. ADHD 환자군에서 배제 기준은 기본적인 신체 검사와 혈액 검사에서 이상이 발견된 경우, 심혈관계 질환이나 심각한 신체 질환, 경련 등의 신경학적 질환이 있는 경우, 전반적 발달 장애, 정신분열증, 조울증, 기타 소아기 정신병으로 진단 받았던 경우, 자살 사고가 심하거나 추가적인 항우울제가 필요하다고 판단되는 주요 우울장애가 있는 경우로 하였다. 또한 한국판 웨슬러 아동지능검사 III(Korean Wechsler's Intelligence Scale for Children III, KEDI-WISC III)에서 지능지수 70 미만을 보인 아동들도 제외하였다. ADHD로 진단받은 192명의 환자 중에서 154명이 선정기준과 배제기준을 만족하였으며 이중 147명이 연구에 동의하였으나 10명은 유전자 검사를 실패하여 최종 137명이 연구 대상이었으며 연구 아동과 부모에게 본 연구에 대해 충분히 설명하고 서면 동의를 받았다.

정상 대조군으로는 한국인으로 ADHD의 가족력 및 병력이 없는 120명의 DNA 샘플로 이루어졌다. 정상 대조군은 연세대학교 Pharmacogenomic Research Center for Membrane Transporter의 DNA 은행의 혈액 샘플에서 ADHD집단과 성비가 동일한 군으로 무작위로 선택되었으며 대상군의 나이 분포는 20~36세에 해당하였다. 대조군의 선정을 위해서 자가 보고를 통해 내과적 또는 신경학적 질환이 없음을 확인하였고 건강상태는 신체적 검사와, 혈액검사, 0.02mSv의 방사선으로 흉부 방사선 촬영으로 확인하였다. 자가 보고에 의해서 과거 또는 현재에 ADHD를 포함한 정신과적 질환을 보고하지 않은 경우로 하였으나 정형화된 정신과적 면담이나 도구를 사용하지는 않았다. 본 연구에서는 NET유전자의 ADHD군과 정상 대조군과의 비교를 위하여 Single Nucleotide Polymorphism database(dbSNP, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)를 이용하여 SLC6A2 SNPs중에서 이전 연구에 ADHD와 연관 있다고 보고된 SNP를 포함 하여 일본 인구에서 minor allele frequency가 높은 5가지 SLC6A2 SNPs(rs 2242446, rs 5568, rs 5569, rs 998424, rs 1610905)를 선택하였다.

본 연구는 한림대학교 성심병원과 분당 차병원의 임상연구심의위원회 승인을 받았다.

2. 평가 도구

1) ADHD 및 공존질환의 진단

(1) 한국어판 Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL)²²⁾

ADHD와 공존 질환은 K-SADS-PL을 근거로 숙련된 두 명의 소아청소년정신과 의사에 의해 진단되었다. K-SADS-PL은 소아청소년 환자에게 대한 정신과적 진단에 널리 사용되는 반 구조화된 면담 도구이며 한국 ADHD 아동에서 진단의 타당도는 높은 것으로 보고되었다.

(2) 한국어판 부모 ADHD 평가 척도(Korean version of Parent ADHD Rating Scale, K-ARS)²¹⁾

학령기 아동의 ADHD 증상을 평가하기 위해 고안된 척도이다. DSM-IV의 ADHD 진단기준으로 이루어진 총 18개 문항으로 부주의성과 과잉활동-충동성 두 개의 소척도로 구성되어 있으며 행동의 심각도에 따라 0~3점으로 평정하도록 되어있다. 이 척도는 과잉행동이 동반된 ADHD 아동과 그렇지 않은 ADHD 아동을 구분하는데 유용한 것으로 나타났다. 한국에서의 타당도와 신뢰도 및 규준이 소유경 등에 의해 보고된 바 있다.

2) DNA 염기서열분석

환자군과 대조군의 말초혈액에서 정제 kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 genomic DNA를 분리하였다. NET 유전자를 증폭하기 위해 UCSC In-Silico PCR(<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?command=start>) 방법을 사용 하였다. 각 시료의 분량은 DNA 10ng, 각각의 시발체 0.0005Mm, dNTPs 0.25mM, MgCl₂ 3Mm, 1×reaction buffer 1μl, 0.25U Taq DNA polymerase(Intron Biotechnology, Seongnam, Korea)로서 총 부피는 10μl이 되도록 하였다. 중합효소연쇄반응(PCR)은 94℃에서 5분간 1주기를 수행한 후, 94℃에서 30초, 60~65℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 30~60초간 initial extension, 72℃에서 10분간 final extension을 각각 35주기를 수행하였다. PCR 결과물과 시발체를 정제하기 위하여 Multiscreen 384-PCR Filter Plate(Milipore, Billerica, MA, USA)를 사용하였다. 정제된 결과물의 염기 서열 분석을 위하여 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit과 ABI 3730xl automated sequencer(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하였다. 돌연변이에 대한 분석은 Phred, Phrap, Consed, Polyphred 5.04 softwares를 사용하였다(<http://droog.mbt.washington.edu/PolyPhred.html>).

3) SNaPSHOT assay(single base primer extension assay)

본 연구는 NET 유전자형을 분석하기 위해 ABI PRISM SNaPSHOT Multiplex kit(ABI, Foster City, CA, USA)를 이용한 single base primer extension assay를 하였다. PCR을 위한 시발체의 염기순서는 Table 1에 명시하였다. 10μl의 중합효소연쇄 반응 복합물을 만들기 위한 각 시료의 분량은 10ng genomic DNA, 0.5 pM의 각각의 oligonucleotide primer, 10X PCR Gold buffer 1μl, dNTP 250μM, MgCl₂ 3mM 그리고 0.25unit의 i-Star Taq DNA 중합효소(Intron Biotechnology, Seongnam, Korea)가 첨가되었다. 반응 온도와 시간은 95℃에서 10분간 1주기, 95℃에서 30초간 30주기, 55℃에서 1분간 30주기, 72℃에서 7분간 1주기, 마지막으로 72℃에서 1분간 1주기를 수행하였다. 증폭된 유전자를 정제하기 위하여 shrimp alkaline phosphatase(SAP)(Roche) 1unit을 사용하여 37℃에서 60분간 처리하였고 exonuclease I(USB Corporation)을 72℃에서 15분간 처리하였다. 정제된 PCR 산물 1μl와 Table 1에 명시한 시발체 0.15pmol을 SNaPSHOT Multiplex Ready reaction mixture에 첨가하였다. 이 복합물의 extension reaction을 위해 96℃에서 10초, 50℃에서 5초, 60℃에서 30초간 각각 25주기를 수행하였다. Fluorescent dye termi-

Table 1. Primers sequence for the norepinephrine transporter gene

rs number	Strand		Primer sequence	Tm
rs 1610905	Forward	Forward primer	CAGGAAACAGCTATGACCTGAAACCTCTACCTCCTCAA	55
		Reverse primer	TGTA AACGACGGCCAGTGCAAGTGCCAGAGTACACA	
rs 5568	Forward	Forward primer	TGAGCTGTAAGTTCATGCTG	55
		Reverse primer	ACCTGGTGTGAATAGTGG	
		Genotyping primer	AGCCATTGATGAGGTCCTTG	
rs 5569	Reverse	Forward primer	AGTTCTGAGTTGCTGAGA	55
		Reverse primer	CCTACTCACCTGGTATGC	
		Genotyping primer	TGGAAGTCATCTGCCAGGCC	
rs 998424	Forward	Forward primer	ACCTTCAGCACITTCCTTCT	55
		Reverse primer	GAAGACTACTGGGCCTAACC	
		Genotyping primer	TGCATAACCARGGTGAGTAG	
rs 2242446	Reverse	Forward primer	GGCTGTCAGAAGTCTCCAAC	55
		Reverse primer	CTCCTCACCCAGCAG	
		Genotyping primer	ACGCAGGGTCCCAGAAAAG	

nator를 제거하기 위하여 1unit의 SAP를 37°C에서 1시간, 72°C에서 15분간 처리하였다. 최종 반응 샘플 1 µl를 Hi-Di formamide 9 µl(ABI, Foster City, CA, USA)와 혼합하여 95°C에서 5분간 보관 후 ABI Prism 3,730×1 DNA analyzer로 전기영동을 하기 위해 5분간 얼음 위에 두었다. 최종 결과를 얻기 위하여 GeneScan analysis software(ABI, Foster City, CA)를 사용하였다.

3. 통계 분석

연구 대상의 인구학적 특성 및 공존질환을 파악하기 위해 기술 분석을 사용하였다. 각각의 SNP에서 환자군 및 대조군의 유전형의 빈도에서 Hardy-Weinberg 평형상태를 알아보았다. 또한, 연구 대상의 정상 대조군과 ADHD군 간의 SLC6A2 유전형과 대립유전자의 빈도 차이를 비교하기 위해 Chi-square test를 이용하였다. 각각의 SLC6A2 유전형 사이에서 K-ARS 총점, 과잉행동-충동성 점수, 부주의성 점수의 평균의 차이를 비교하기 위해 ANOVA를 사용하였고 각각의 SLC6A2 대립유전자 간의 K-ARS 점수 평균 차이를 비교하기 위해 t-test를 이용하였다. 모든 통계는 SPSS 15.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 윈도우용 프로그램을 사용하였다. 5개의 SNP에서 차이를 알아보는 다중 비교를 교정하기 위해 Bonferroni correction을 적용 하였고 통계적 유의 수준은 p-value<.01을 기준으로 하였다.

결 과

1. 연구 대상의 인구학적 특성 및 임상 특징

총 137명(남아 114명, 여아 23명)의 아동들이 ADHD 대상군이었으며 평균 연령은 10.2±2.9세였다. ADHD 아형

Table 2. Demographic and clinical characteristics of subjects with ADHD

	Subjects with ADHD (N=137)
Sex	
Male, N (%)	114 (83.2)
Female, N (%)	23 (16.8)
Age, Mean (SD)	10.2 (2.9)
ADHD Subtype, N (%)	
Combined type	113 (82.5)
Predominantly inattentive type	23 (16.8)
Hyperactivity/impulsivity type	1 (0.8)
Comorbidity, N (%)	
ODD	32 (23.4)
CD	8 (5.8)
Depressive disorder	36 (26.3)
Anxiety disorder	9 (6.6)
Tic disorder	17 (12.4)
Others	18 (13.1)
K-ARS, Mean (SD)	
Predominantly hyperactivity-impulsivity	14.0 (5.8)
Inattentiveness	17.4 (4.4)
Total	31.4 (8.4)
CGI-S, Mean (SD)	4.4 (1.0)

ODD : oppositional defiant disorder, CD : conduct disorder, K-ARS : Korean version of Parent ADHD Rating Scale

으로는 혼합형이 113명으로 가장 많았고 부주의형이 23명, 행동형이 1명 순으로 나타났다(Table 2). 정상 대조군은 120명으로(남자 100명, 여자 20명) ADHD 군과 성별 차이는 없었다($\chi^2=.001$, $p=.98$). 정상 대조군의 나이 범위는 20~36세였으며 개별 나이 정보는 알 수 없었다.

2. 정상대조군과 ADHD군의 NET 유전자 유전형 및 대립유전자의 빈도 비교

ADHD군의 모든 유전자형 빈도는 Hardy-Weinberg 평형을 이루었고(rs 2242446 : $\chi^2=.44$, $p=.51$, rs 5568 : $\chi^2=.01$, $p=.94$, rs 5569 : $\chi^2=.81$, $p=.37$, rs 998424 : $\chi^2=.58$, $p=.45$, rs 1610905 : $\chi^2=.11$, $p=.74$), 정상 대조군 유전자형 빈도 역시 Hardy-Weinberg 평형을 이루고

있었다(rs 2242446 : $\chi^2=.43$, $p=.51$, rs 5568 : $\chi^2=.00$, $p=.95$, rs 5569 : $\chi^2=.05$, $p=.82$, rs 998424 : $\chi^2=.34$, $p=.56$), rs 1610905 : $\chi^2=1.85$, $p=.17$). 정상 대조군과 ADHD군 사이에서 SLC6A2 각각의 SNP 유전자형 및 대립유전자 빈도의 의미 있는 차이는 없었다($p>.01$) (Table 3). 그러나 SNP rs 5568의 경우 ADHD군과 정상대조군 간에 통계적으로 유의미하지는 않지만 A 대립유전자와 C 대

Table 3. Distribution of genotype and allele frequencies of norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphism between normal control group and ADHD group

SNP Position	Genotype				Allele					
		Normal controls (N=120)	ADHD (N=137)	χ^2	p		Normal controls (N=120)	ADHD (N=137)	χ^2	p
rs 242446	TT	56	56	1.22	0.543	T	171	178	1.98	0.159
	TC	51	66			C	69	94		
	CC	13	14							
rs 5568	AA	52	52	1.45	0.486	A	168	169	3.92	0.048
	AC	55	64			C	72	105		
	CC	13	21							
rs 5569	GG	59	70	1.5	0.472	G	176	202	0.10	0.757
	GA	49	58			A	64	69		
	AA	12	8							
rs 998424	GG	59	72	1.13	0.570	G	171	205	0.46	0.500
	GA	48	57			A	65	68		
	AA	11	8							
rs 1610905	-/-	42	41	4.1	0.129	-	133	154	0.02	0.886
	-/+	46	70			+	101	120		
	+/+	29	26							

ADHD : attention- deficit hyperactivity disorder

Table 4. Differences of mean scores of K-ARS by distribution of genotype frequencies of norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphism

	Number	Total scores of K-ARS			Scores of inattention subscale of K-ARS			Scores of hyperactivity/ impulsivity subscale of K-ARS			
		Mean (SD)	F (df)	p	Mean (SD)	F (df)	p	Mean (SD)	F (df)	p	
rs 2242446	TT	56	30.57 (8.43)	0.42 (2)	0.66	17.14 (4.68)	0.18 (2)	0.83	13.25 (8.29)	0.72	0.49
	TC	66	31.77 (7.89)			17.44 (4.15)			14.47 (5.19)		
	CC	14	32.36 (10.52)			17.93 (5.20)			14.43 (6.57)		
rs 5568	AA	52	32.08 (9.14)	0.34 (2)	0.71	17.56 (4.6)	0.07 (2)	0.94	14.71 (5.86)	0.71 (2)	0.49
	AC	64	31.09 (7.49)			17.28 (4.41)			13.66 (5.75)		
	CC	21	30.48 (9.07)			17.24 (4.3)			13.19 (5.76)		
rs 5569	GG	70	31.10 (8.07)	1.73 (2)	0.18	17.06 (4.27)	0.70 (2)	0.50	13.04 (5.75)	1.76 (2)	0.18
	GA	58	32.83 (8.65)			17.90 (4.49)			14.93 (5.48)		
	AA	8	32.13 (8.36)			18.13 (1.13)			13.88 (6.51)		
rs 998424	GG	72	29.82 (7.84)	2.75 (2)	0.07	16.79 (4.46)	1.34 (2)	0.27	13.03 (5.80)	2.31 (2)	0.10
	GA	57	33.23 (8.72)			18.02 (4.53)			15.21 (5.52)		
	AA	8	32.15 (8.36)			18.13 (3.18)			13.88 (6.51)		
rs 1610905	-/-	41	31.83 (8.87)	0.35 (2)	0.70	17.73 (4.03)	0.52 (2)	0.60	14.07 (5.88)	0.34	0.71
	-/+	70	31.26 (7.97)			17.46 (4.35)			14.24 (5.33)		
	+/+	26	30.15 (8.72)			16.62 (5.32)			13.15 (6.85)		

K-ARS : Korean version of Parent ADHD Rating Scale

Table 5. Differences of mean scores of K-ARS by distribution of allele frequencies of norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphism

	Number	Total scores of K-ARS			Scores of inattention subscale of K-ARS			Scores of hyperactivity/impulsivity subscale of K-ARS			
		Mean (SD)	t (df)	p	Mean (SD)	t (df)	p	Mean (SD)	t (df)	p	
rs 2242446	T	178	31.11 (8.20)	-0.61 (270)	0.54	17.27 (4.47)	-0.50 (270)	0.62	13.78 (5.86)	-0.72 (270)	0.48
	C	94	31.77 (8.67)			17.55 (4.42)			14.31 (5.65)		
rs 5568	A	169	31.69 (8.48)	0.79 (272)	0.43	17.40 (4.53)	0.08 (272)	0.94	14.35 (5.81)	1.33 (272)	0.19
	C	105	30.87 (8.12)			17.35 (4.31)			13.40 (5.68)		
rs 5569	G	202	31.01 (8.23)	-1.19 (270)	0.24	17.27 (4.38)	-1.31 (270)	0.191	13.7.3 (5.61)	-0.72 (270)	0.43
	A	69	32.39 (8.76)			18.06 (4.07)			14.93 (5.48)		
rs 998424	G	205	30.90 (8.17)	-1.55 (270)	0.12	17.11 (4.54)	-1.69 (270)	0.09	13.79 (5.69)	-0.90 (270)	0.37
	A	68	32.71 (8.76)			18.16 (4.06)			14.51 (6.01)		
rs 1610905	-	154	31.77 (8.44)	0.42 (272)	0.66	17.62 (4.19)	0.18 (272)	0.83	14.20 (5.59)	0.9 (272)	0.37
	+	120	30.86 (8.20)			17.06 (4.73)			13.71 (6.00)		

K-ARS : Korean version of Parent ADHD Rating Scale

립유전자 빈도에 차이를 보였다($p=0.048$).

3. ADHD 군의 유전형에 따른 K-ARS 점수비교

5가지 SLC6A2 다형성 내에서 각각의 유전형과 대립유전자에 따른 K-ARS 총점, 부주의성, 과잉행동-충동성 점수를 각각 비교한 결과 유전형과 대립유전자에 따른 의미 있는 차이를 보이지 않았다($p>0.01$) (Table 4, 5).

고 찰

본 연구는 한국인 소아 청소년 ADHD 환자와 정상 대조군을 대상으로 하여 ADHD와 NET유전자의 단일염기 다형성과의 연관성을 연구하였다. 본 연구에서 비교한 SNP rs 5569는 엑손 9에 위치하고 있으며 rs 5569의 유전형간의 methylphenidate 반응을 비교한 연구에서 methylphenidate에 대한 반응이 A/A 유전형의 경우가 G/G 또는 G/A 유전형보다 낮은 것으로 보고되어 rs 5569와 ADHD 약물반응의 연관성이 제시된 바 있다.²³⁾ 그러나 Barr 등²⁴⁾의 연구에서는 rs 5569 polymorphism이 ADHD와 연관성이 없다고 보고하였다. Cho 등²⁰⁾의 186명 한국인 ADHD와 109트리오, 150명의 정상 대조군을 대상으로 한 환자-대조군 연구와 가족기반 연관 연구에서도 rs 5569는 ADHD와 연관성을 보이지 않았다. 본 연구에서도 rs 5569의 경우 ADHD 환자군과 대조군간에 의미 있는 차이를 보이지 않아 이전 두 연구와 일치하는 결과를 보였다.

Xu 등¹⁶⁾은 21가지의 단일염기 다형성 변이(single nucleotide SNP)를 연구하여 이 중 rs 3785157와 rs 998424도 ADHD와 연관 가능성이 있음을 제시하였다. Bobb 등¹⁷⁾도 ADHD 가족에서 rs 3785157의 T 대립유전자와 rs 998424의 C대립 유전자가 전달(transmission)이 잘 되는 것으로 보고

하였다. 그러나 아일랜드 ADHD 환자군을 대상으로 한 연구에서 rs 998424는 ADHD와 연관성이 없었다.²⁵⁾ 성인 ADHD 군을 대상으로 한 De Luca 등²⁶⁾의 연구에서도 rs 998424가 ADHD와 의미 있는 연관성이 없었으며 이들은 SLC6A2의 경우 45kb 이상의 spanning을 보이는 큰 유전자이므로 위험 유전자가 있더라도 linkage로 인해 의미 있는 결과가 나오지 않았을 가능성을 시사하였다. Kim 등²⁷⁾의 ADHD 474 트리오를 대상으로 한 연구에서 역시 rs 3785143, rs 11568324가 의미있는 것으로 보고 하였으나 이전 연구에서 보고되었던 rs 3785157, rs 5569, rs 998424 등은 연관성이 없는 것으로 나타났다. 이들은 이 3가지 다형성이 rs 11568324와 5kb 내에 위치하고 있어 연쇄 불평형(Linkage Disequilibrium, $D'=0.69\sim 1.0$) 때문에 다른 연구에서 의미 있는 연관성을 보였을 가능성을 시사하였다. 본 연구에서도 ADHD 군과 정상 대조군 간에 rs 998424의 유전자형 및 대립형질 간의 빈도 차이가 없어 이들의 연구 결과와 일치하였다.

rs 5568의 경우 현재까지 ADHD와 연관이 있다는 결과는 없었다. 그러나 SLC6A2의 108가지 SNP대립형질에서 아토목세틴 치료반응을 비교했던 한 연구에서 rs 5568은 아토목세틴의 치료반응과 의미 있는 연관성을 보였다.¹⁵⁾ 본 연구에서는 rs 5568에서 통계적으로 의미는 없지만 ADHD 군과 정상 대조군간에 대립유전자 빈도의 차이를 보여($p=0.048$) 앞으로 rs 5568에 대한 연구가 필요함을 시사하였다.

최근 한국인을 대상으로 한 ADHD와 SLC6A2 다형성을 조사한 연구에서는 103명의 ADHD 환자군과 103명의 정상 대조군을 대상으로 한 환자 대조군 연구에서 SLC6A2의 촉진자 부위에 위치하는 -3081(A/T)의 유전자형과 대립유전자의 빈도가 ADHD환자군과 정상 대조군에서 의미 있는 차이가 있다는 보고가 있었다.²⁸⁾

본 연구에서는 ADHD 군의 각 SLC6A2 유전형과 대립형질간의 K-ARS 총점 및 과잉행동 충동성 점수와 부주의 점수를 비교 하였으나 통계적으로 의미 있는 차이가 없었다. NET 유전자형에 따른 ADHD의 임상적 특징을 연구한 다른 연구에서도 rs 998424의 유전자형에 따라서 KEDI-WISC점수와 Conners Teacher Rating Scale 점수가 통계적으로 의미있는 차이는 없었다.¹⁷⁾

본 연구의 제한점은 첫째, ADHD 군을 연령 짝짓기된 대조군과 비교 분석하지 못하였다는 것이다. 또한 대조군의 경우 정신과적 병력이 없음을 연구대상의 보고에만 의지하였고 정신과적 면담이나 검사를 하지 않았으며 그 외 사회경제적 수준 등 다른 변인들도 통제하지 못했다는 것이다. 둘째, 연구 대상군의 수가 적어서 통계 분석력이 떨어지고 위음성의 가능성이 있다. 셋째, 정신과의 유전학적 연구의 제한점 중 하나로, 본 연구에서 표현형의 정의가 정확하지 못하였다. 즉, ADHD는 다양한 표현형을 포함하나 본 연구에서는 아형에 따른 분석을 하지 못했고 공존질환을 배제하지 못하였다는 단점이 있다. 따라서 향후 ADHD를 아형이나 공존질환에 따라 좀더 동질한 표현형으로 분류하여 연구하는 것이 필요하겠다. 넷째, ADHD 유전자형과 대립유전자군 간에 부주의, 과잉행동-충동성 증상의 비교를 어머니가 평가하는 K-ARS에 의존하였기 때문에 객관적인 측정이 되지 않았을 가능성이 있다.

본 연구에서는 5가지 SLC6A2 다형성이 ADHD의 병인론에 기여한다는 결과를 증명하지 못했다. 그러나 이전의 한국인 표본을 대상으로 한 NET 유전자와 ADHD 연관성에 대한 두 연구에서 Cho 등²⁰⁾의 연구가 G1287A(rs 5569) 및 -3081(A/T)의 두 SNPs을 Joung 등²⁸⁾의 연구가 -3081(A/T)만을 분석한데 비해 본 연구는 5가지 SNPs을 분석하였고 기존에 한국인 표본에서 분석한 적이 없는 SNPs에 대해서도 분석했다는 데 큰 의미가 있다. 또한 rs 5568의 경우 ADHD와의 연관성을 조심스럽게 추론할 수 있으며 이는 향후 SLC6A2 다형성과 ADHD 연관성 연구에 뒷받침이 될 수 있을 것이다.

결 론

ADHD군과 정상 대조군 사이에서 SLC6A2의 5가지 SNPs(rs 2242446, rs 1805066, rs 5568, rs 5569, rs 998424)의 유전자형 및 대립유전자의 의미있는 차이는 없었다. 통계적으로 유의미하지는 않지만 rs 5568에서 ADHD군과 정상 대조군간에 대립유전자 빈도의 차이를 보이는 경향이 있었다. 5가지 SLC6A2 다형성 내에서 각각의 유전형

과 대립형질에 따른 K-ARS 총점, 부주의성, 과잉행동-충동성 점수를 각각 비교한 결과 유전형과 대립형질에 따른 의미 있는 차이는 보이지 않았다. 향후 더욱 많은 수를 대상으로 한 ADHD와 SLC6A2다형성과의 연관성에 관한 연구와 보다 객관적인 신경인지적 검사도구를 통한 SLC6A2 다형성 유전자형 간의 임상적 특징을 비교하는 연구가 필요할 것으로 생각되며 이는 ADHD와 노르에피네프린 신경계의 관련성을 밝히는데 중요한 역할을 할 것이다.

중심 단어 : ADHD · SLC6A2 · 다형성 · K-ARS.

References

- 1) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorder. 4th ed. Washington DC: APA Press; 1994.
- 2) Cho SC, Shin YO. Prevalence of disruptive behavior disorders. J Kor Acad Child Adolesc Psychiatry 1994;5:141-149.
- 3) Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. Lancet 2005;366:237-248.
- 4) Bird HR, Canino G, Rubino-Stiped M, Gould MS, Ribera J, Sesman M, et al. Estimates of the prevalence of childhood maladjustment in a community survey in Puerto Rico. Arch Gen Psychiatry 1988;45:1120-1126.
- 5) Paul J. History and overview of adulthood ADHD. In: Nadeau, KG, editor. A comprehensive guide to attention deficit hyperactivity disorder in adults. New York: Brunner/Mazel;1995. p.3-17.
- 6) Goodman R, Stevenson J. A twin study of hyperactivity II. The etiological role of genes, family relationships and perinatal activity. J Child Psychol Psychiatry 1989;30:691-709.
- 7) Sprich S, Biederman J, Crawford MH, Mundy E, Faraone SV. Adoptive and biological families of children and adolescents with ADHD. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 2000;39:1432-1437.
- 8) Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, et al. Molecular genetics of attention-deficit hyperactivity disorder. Biol Psychiatry 2005;57:1313-1323.
- 9) Moron JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA, Hope BT. Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. J Neuroscience 2002; 22:389-395.
- 10) Hanna GL, Ornitz EM, Hariharan M. Urinary catecholamine excretion and behavioral differences in ADHD and normal boys. J Child Adolesc Psychopharmacol 1996;6:63-73.
- 11) Russell V, Allie S, Wiggins T. Increase noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder: the spontaneously hyperactive rat. Behav Brain Res 2000;117:69-74.
- 12) Gresch PJ, Sved AF, Zigmond MJ, Finly JM. Local influence

- of endogenous norepinephrine on extracellular dopamine in rat medial prefrontal cortex. *J Neurochem* 1998;65:111-116.
- 13) Xu F, Gainotdoniv RR, Wetsel WC. Mice lacking the norepinephrine transporter are supersensitive to psychostimulants. *Nat Neurosci* 2000;3:465-471.
 - 14) Biederman J, Heiligenstein JH, Faries DE, Nora G, Dittmann R, Emslie GJ, et al. Efficacy of atomoxetine versus placebo in school-age girls with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics* 2002;110:1-7.
 - 15) Ramoz N, Boni C, Downing AM, Close SL, Peters SL, Prokop AM, et al. A haplotype of the norepinephrine transporter gene *slc6a2* is associated with clinical response to atomoxetine in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:2135-2142.
 - 16) Xu X, Knight J, Brookes K, Mill J, Sham P, Craig I, Talyor E, et al. DNA pooling analysis of 21 norepinephrine transporter gene SNPs with attention deficit hyperactivity disorder: no evidence for association. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;134:115-118.
 - 17) Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK, Clasen LS, et al. Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;134:67-72.
 - 18) Brookes K, Xu X, Chen W, Zhou K, Neale B, Lowe N, Anney R, et al. The analysis of 51 genes in DSM-IV combined type attention deficit hyperactivity disorder: association signals in DRD4, DAT1 and 16 other genes. *Mol Psychiatry* 2006;11:934-953.
 - 19) Oh KS, Shin DW, Oh GT, Noh KS. Dopamine transporter genotype influences the attention deficit in Korean boys with ADHD. *Yonsei Med J* 2003;44:787-92.
 - 20) Cho SC, Kim JW, Kim BN, Hwang JW, Park M, Kim SA, et al. No evidence of an association between norepinephrine transporter gene polymorphisms and attention deficit hyperactivity disorder: a family-based and case-control association study in a Korean sample. *Neuropsychobiology* 2008;57:131-138.
 - 21) 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.
 - 22) 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 (K-SADS-PL-K). *Yonsei Med J* 2004;45:81-89.
 - 23) Yang L, Wang YF, Li J, Faraone SV. Association of norepinephrine transporter gene with methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004;43:1154-1158.
 - 24) Barr CL, Kroft J, Feng Y, Wigg K, Roberts W, Malone M, et al. The norepinephrine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet* 2002;114:255-259.
 - 25) McEvoy B, Hawi Z, Fitz M, Gill M. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter gene polymorphism and ADHD in Irish population. *Am J Med Genet* 2002;114:665-666.
 - 26) De Luca V, Muglia P, Jain U, Kennedy JL. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene MnlI polymorphism and adult ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;124:38-40.
 - 27) Kim JW, Biederman, McGrath CL, Doyle AE, Mick E, Fagerness J, et al. Further evidence of association between two NET single-nucleotide polymorphisms with ADHD. *Mol Psychiatry* 2008;13:624-630.
 - 28) Joung Y, Kim CH, Moon J, Jang WS, Yang J, Shin D, et al. Association studies of -3081 (A/T) polymorphism of norepinephrine transporter gene with attention deficit/hyperactivity disorder in Korean population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010;153B:691-694.