

Choline Acetyltransferase 유전자 다형성이 경도인지손상 발현에 미치는 영향*

이정재¹⁾ · 박준혁²⁾ · 이석범³⁾ · 허윤석⁴⁾ · 김태희⁴⁾
윤종철⁵⁾ · 주진형⁶⁾ · 이동영⁷⁾⁸⁾ · 박경운⁹⁾ · 김기웅^{4)8)†}

The Impact of Choline Acetyltransferase Polymorphism on the Expression of Mild Cognitive Impairment*

Jung Jae Lee, M.D.,¹⁾ Joon Hyuk Park, M.D.,²⁾ Seok Bum Lee, M.D.,³⁾ Yoonseok Huh, M.D.,⁴⁾
Tae Hui Kim, M.D.,⁴⁾ Jong Chul Youn, M.D., Ph.D.,⁵⁾ Jin Hyeong Jhoo, M.D., Ph.D.,⁶⁾
Dong Young Lee, M.D., Ph.D.,⁷⁾⁸⁾ Koungh Un Park, M.D., Ph.D.,⁹⁾ Ki Woong Kim, M.D., Ph.D.^{4)8)†}

ABSTRACT

Objectives : The potential association between choline acetyltransferase(CHAT) polymorphism and the risk of mild cognitive impairment(MCI) has not been investigated in Korea. We examined the main effect of CHAT polymorphism and its interaction with apolipoprotein E(APOE) polymorphism in the development of MCI in elderly Korean sample.

Methods : We analyzed CHAT 2384G > A polymorphism and APOE polymorphism among 149 MCI subjects with MCI and 298 normal controls. We tested the association between MCI and CHAT A allele status using a logistic regression model. In addition, we employed generalized multifactor dimensionality reduction(GMDR) to investigate the interaction between CHAT and APOE with regard to the risk of MCI.

Results : The CHAT A allele was associated with AD risk(OR = 1.59, 95% CI = 1.02–2.48, p = 0.042). No sig-

Received : October 18, 2010 / Revised : October 20, 2010 / Accepted : October 26, 2010

*이 논문은 분당서울대학교병원 일반연구비에 의해 이루어진 것임(Grant No. 02-2005-014).

¹⁾경북대학교병원 정신과학교실 *Department of Psychiatry, Kyungpook National University Hospital, Daegu, Korea*

²⁾제주대학교병원 정신과학교실 *Department of Psychiatry, Jeju National University Hospital, Jeju, Korea*

³⁾단국대학교병원 정신과학교실 *Department of Psychiatry, Dankook University Hospital, Cheonan, Korea*

⁴⁾분당서울대학교병원 신경정신과학교실
Department of Neuropsychiatry, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

⁵⁾경기도노인전문병원 신경정신과 *Department of Neuropsychiatry, Kyunggi Provincial Hospital for the Elderly, Yongin, Korea*

⁶⁾강원대학교병원 신경과학교실 *Department of Neuropsychiatry, Kangwon National University Hospital, Chuncheon, Korea*

⁷⁾서울대학교병원 정신과학교실 *Department of Psychiatry, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea*

⁸⁾서울대학교 의과대학 정신과학교실 *Department of Psychiatry, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea*

⁹⁾분당서울대학교병원 진단검사의학과학교실
Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

†교신저자 : 김기웅, 463-707 경기도 성남시 분당구 구미동 300

전화) (031) 787-7432, 전송) (031) 787-4058, E-mail) kwkimmd@snu.ac.kr

nificant gene-gene interaction between CHAT and APOE was found in GMDR method (testing balanced accuracy = 0.540, $p = 0.055$).

Conclusion : The CHAT A allele was associated with MCI risk in the Korean elderly. Its interaction with the APOE $\epsilon 4$ allele was not significant with regard to the development of MCI.

KEY WORDS : Choline acetyltransferase · Apolipoprotein E · Polymorphism · Gene-gene interaction · Mild cognitive impairment (MCI).

서 론

치매는 다양한 인지기능 저하와 행동 증상을 유발하는 신경정신장애이다. 우리나라의 경우, 2010년도 기준으로 65세 이상 노인의 8.76%가 치매에 이환되어 있으며, 급격한 인구 고령화로 2050년에는 치매 인구가 약 213만 명에 이를 것으로 추산되고 있다.¹⁾ 따라서 치매로 인한 삶의 질 저하와 의료비 손실을 최소화하기 위해서는 치매를 전임상기(preclinical phase) 또는 최초기(very early clinical phase)에 조기 발견하여 조기에 치료하는 것이 중요하다.

경도인지손상(mild cognitive impairment, 이하 MCI)은 치매의 전구기로 생각되고 있으며 MCI의 연간 치매 발병률은 12~15%로 일반 인구에 비해 10배 이상 높다.²⁾ 따라서 MCI는 조기 발견 및 추적 관리를 통해 치매의 유병률과 치매로 인한 부담을 예측하고 경감시킬 수 있는 효과적인 관리 대상이다. MCI의 치매 전환율이 일반 인구에 비해 월등히 높지만 3년 내 치매 전환율은 50%에 미치지 못한다. 따라서 정확성이 높은 MCI의 치매 전환 예측 지표 개발을 위해 치매 및 MCI의 생물학적 위험인자의 규명이 필요하다고 하겠다.

생물학적 위험인자 중 현재까지 산발성 알츠하이머병의 위험 유전자로 일관되게 보고 되고 있는 것은 APOE $\epsilon 4$ 가 유일하다. 그러나 APOE $\epsilon 4$ 는 알츠하이머병이 보이는 유전적 분산의 50%밖에 설명할 수 없기 때문에 추가적인 위험 유전자 규명이 필요하다. Mubumbila 등³⁾은 Choline acetyltransferase 유전자(이하 CHAT) 다형성이 알츠하이머병의 치매 위험성을 증가시키는 유전적 위험인자라는 보고를 하였으며 한국인에서도 CHAT A allele은 알츠하이머병의 위험성을 3배 이상 증가시키는 독립적인 유전적 위험인자이며 APOE $\epsilon 4$ 와 유의한 유전

적 상호작용을 보였다.⁴⁾⁵⁾

CHAT는 Choline acetyltransferase(이하 ChAT)를 coding 하고 있는 유전자이며 ChAT는 신경전달물질인 아세틸콜린을 합성하는데 중요한 효소이다. 알츠하이머병에서는 아세틸콜린의 저하 및 콜린성 신경전달의 부진이 중요한 병리소견 중의 하나이다.⁶⁾⁷⁾ 또한 아세틸콜린 양뿐만 아니라 ChAT 활성도 역시 알츠하이머병에서 떨어진다고 하며⁶⁻⁹⁾ ChAT 활성도는 amyloid β 농도 및 neurofibrillary tangles의 수와 역상관관계를 가진다고 보고되고 있다.¹⁰⁾¹¹⁾ MCI에서는 전두엽과 해마의 ChAT 활성도가 보상성 상향 조절(compensatory up-regulation)되어 있으며 이는 알츠하이머병으로 전환과 연관성이 있다.¹²⁾ CHAT의 첫 번째 codon +4 위치에 있는 single nucleotide polymorphism(CHAT 2384 G > A, rs-3810950 ; Ala120Thr)은 CHAT 전사 효율에 영향을 줄 가능성이 높은 부위에 위치하기 때문에 MCI의 발병 위험성에 영향을 줄 위험인자가 될 가능성이 크다. Tang 등¹³⁾은 CHAT A 대립유전자와 APOE $\epsilon 4$ 유전자를 가지고 있을 경우 MCI의 조기발병과 관련이 있다고 하였으나 아직 국내에는 CHAT유전자 다형성과 MCI의 연관성에 관한 연구는 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 알츠하이머병의 새로운 후보 위험인자인 CHAT 유전자 다형성이 MCI의 발병위험성에 미치는 영향을 조사하고 CHAT가 미치는 MCI의 발현 위험성에 APOE가 영향을 미치는지 두 유전자의 상호작용 분석을 통해 살펴보고자 한다.

방 법

1. 연구대상

본 연구의 2005년도 9월부터 2010년도 9월까지 성남 시에서 시행된 한국인의 건강과 노화에 대한 전향적 연구

(Korean Longitudinal Study on Health and Aging)¹⁴⁾에서 임의 추출된 714명의 대상자 중, 2004년 Petersen¹⁵⁾이 제시한 수정된 MCI 진단기준에 따라 정상이 아니면서 치매도 아닌 상태로 1) 인지기능의 저하가 있으며 2) 기본적 일상생활동작 능력은 보존되어 있고 복잡한 도구적 일상생활동작에서는 경미한 장애가 있는 경우를 MCI로 진단하였다. 또한 1) 섬망이나 혼돈, 기타 의식 장애의 증거가 있을 경우 2) 병력 및 신경학적 검사에서 알츠하이머병, 파킨슨병, 뇌졸중, 뇌출혈, 종양, 정상 뇌압 수두증 등 인지기능의 저하를 일으킬 수 있는 신경학적 질환이 있을 경우 3) 바이러스, 진균, 매독 등을 비롯한 감염성 혹은 염증성 뇌질환의 병력이 있을 경우 4) 심각한 뇌혈관성 병리의 증거가 있을 경우 5) 경미한 두부 손상의 반복 또는 1시간 이상의 의식 상실을 동반하는 심각한 두부 손상의 병력이 있을 경우 6) DSM-IV 진단 기준상 우울증이나 조증 등 주요 정신과적 질환의 현병력이 있을 경우 7) 알코올 중독이나 약물 의존의 병력이 있을 경우 8) 인지기능의 감퇴를 일으킬 수 있는 내과적 질환이 있을 경우 9) 인지기능에 심각한 영향을 미칠 수 있는 약물을 사용하고 있는 대상자는 배제하였다.

정상대조군은 검사를 모두 수행한 피검자 중 신경정신과 전문의 3인 이상이 참석한 진단 평가 회의에서 MCI의 진단기준과 위에서 제시한 배제기준에 해당되지 않는 피검자를 대상으로 선정하였다.

최종 대상자는 성별과 연령을 1세 이하로 맞추어 MCI군은 149명, 대조군은 298명, 총 447명이 분석대상자로 선정되었다. 본 연구는 분당서울대학교병원 생명윤리위원회의 승인을 얻었다.

2. 임상평가 및 신경심리학적 평가

신경정신과 전문의가 CERAD-K 임상평가집(Korean version of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease Clinical Assessment Battery)¹⁶⁾과 Korean version of the Mini International Neuropsychological Interview(이하 MINI-K)¹⁷⁾¹⁸⁾를 사용하여 표준화된 임상평가, 신경학적 검사, 이학적 검사를 시행하였다.

신경심리평가는 CERAD-K 신경심리평가집(Korean version of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease Neuropsychological Assessment Battery),¹⁶⁾ 음소 단어유창성 검사(Lexical Flu-

ency Test),¹⁹⁾ 숫자외우기(Digit Span Test)²⁰⁾ 검사를 이용하였으며 CERAD-K 신경심리평가집은 범주적 단어유창성 검사(Categorical Fluency test), 단축형 보스턴 이름대기 검사(the Modified Boston Naming Test), 간이 정신상태평가(Mini Mental Status Examination-KC, MMSE-KC), 단어목록기억(Word List Memory Test), 구성행동(Constructional Praxis Test), 단어목록회상(Word List Recall Test), 단어목록재인(Word List Recognition Test), 구성회상(Constructional Recall Test), 길 만들기검사(Trail Making Test A)로 구성되어 있다. 일상생활동작은 CERAD-K 임상평가집에 포함되어 있는 블레스트 치매척도(Blessed Dementia Scale)를 사용하였다.

3. 유전자 분석

1) 검 체

EDTA 시험관을 이용하여 정맥을 통해 채취한 전혈의 백혈구에서 추출한 genomic DNA를 사용하였다.

2) APOE 유전자형 결정(PCR-RFLP 방법)²¹⁾

Genomic DNA 200ng, 각 primer(Biotech) 10pmol/ μ L, 각 dNTP(Pharmacia) 200 μ M, Taq polymerase 0.04U/ μ L, MgCl₂ 2.5mM, 20% glycerol 10 μ L, 10X-PCR buffer(Tris 100mM, pH 8.3, KCl 500mM) 5 μ L, 증류수 20 μ L와 혼합하여 최종 반응량을 50 μ L로 만들었다. Forward primer는 5'-TCCAAGGAGCTGC-AGGCGGCGCA-3', reverse primer는 5'-GCCCCG-GCCTGGTACTGCGG-3'으로 하였다. GeneAmp PCR System 9,600(Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여, 94°C에서 10분간 초기 변성한 후, 94°C에서 10분 denaturation, 65°C에서 30초 primer annealing, 72°C에서 2분 extension시키는 순서로 총 30 주기 시행하고, 72°C에서 5분간 final extension시켰다. 5% Agarose gel에서 전기영동하여 218bp의 단일 산물임을 자외선상에서 육안으로 확인한 후, PCR 산물을 30 μ L 증류수에 녹여 보관하였다. 30 μ L의 PCR 산물 중 10 μ L를 취해 제한효소인 HhaI(New England Biolabs Inc, Ipswich, MA, USA) 10U, 10X BSA 1.5 μ L, 제한효소 제조사에서 제공하는 10X NEB4 buffer 1.5 μ L, 증류수 1.5 μ L와 혼합하여 총 15 μ L의 반응액을 만든 후, 37°C에서

overnight reaction시켰다. 제한효소로 잘려진 산물을 ethidium bromide로 염색하여 20% polyarylamide gel 에서 3시간 동안 전기영동한 후, 자외선상에서 육안으로 크기를 확인하고, 그 결과를 poloid camera로 찍어 보 관하였다. DNA 단편의 크기는 $\epsilon 2$ 는 91bp와 81bp, $\epsilon 3$ 는 91bp와 48bp, $\epsilon 4$ 는 72bp와 48bp이다.

3) CHAT 유전자형 결정

Mubumbila 등³⁾이 제시한 PCR-automated direct sequencing 방법을 이용하여 유전자형을 결정하였다. CHAT 유전자(X56585) 염기서열에 기초하여 첫 번째 exon 전체를 포함할 수 있도록 forward primer는 5'-AAC-CCTGGTGGATTTGGATT-3', reverse primer는 5'-ATTTTCCTTGGCACCTGAG-3'으로 제작하였다. Genomic DNA 50ng, 각 dNTP 0.25mM, 각 primer 0.6 μ M Taq DNA polymerase 0.5U를 증류수에 섞어 20 μ L의 최종 반응 혼합물을 만들고, MJ research DNA engine thermocycler PTC 200(Hatboro, PA, USA)로 증폭하였다. Applied Biosystems ABI 3,700 sequencer (Carlsbad, CA, USA) in Macrogen(Seoul, Korea)을 이용하여 PCR 산물의 automated sequencing reaction을 시행하고, electrophore-gram peak로 +4 위치의 염기를 결정하였다.

4. 통계분석

연구 대상군의 homogeneity test를 위해 CHAT와 APOE의 대립유전자와 유전자형 빈도를 구하고 Hardy-Weinberg 평형은 χ^2 test를 이용하여 진단군별로 검증하였다. 연구 대상군의 사회인구학적 및 임상적 특성은 범주형 자료는 χ^2 test, 연속형 자료는 independent two sample t-test를 이용하여 비교하였다.

CHAT 유전자 다형성이 MCI 발현에 미치는 영향을 살펴보기 위해 학력수준을 보정한 로지스틱 회귀분석을 실시하였다. APOE유전자가 CHAT의 MCI 발현에 미치는 영향과 두 유전자의 상호작용을 조사하기 위해 로지스틱 회귀분석과 generalized multifactor dimensionality reduction(이하 GMDR) 방법²²⁾²³⁾을 사용하였다.

GMDR 방법은 두 개 이상의 요인에 대한 상호작용을 검정하기 위한 비모수적 통계방법으로 본 연구에서는 10-fold cross-validation을 이용한 two-locus interaction (CHAT-APOE)을 평가하였으며 Testing balanced ac-

curacy와 제시된 모형의 통계학적 유의성(p-value from Sign test)으로 두 유전자의 상호작용 여부를 판단하였다. Testing balanced accuracy는 제시된 모형이 환자군과 대조군을 어느 정도로 정확하게 예측하는지 나타나는 수치이며 0.5는 우연에 의해서 일어나는 확률로 모형의 예측도가 없는 것이고 1.0은 완벽하게 환자와 대조군을 예측한다고 할 수 있다.

모든 분석에는 SPSS 17.0(window version, SPSS Inc, Chicago, USA)를 사용하였으며 GMDR은 GMDR v0.7 프로그램을 사용하였다. 모든 통계적 유의수준은 0.05 미만으로 하였다.

결 과

1. 인구학적 특성

본 연구는 두 진단군 사이의 나이와 성별을 동일하게 맞춘 대응 환자-대조군 연구(matched case-control study)로 MCI군과 대조군의 평균 연령은 각각 71.3 \pm 4.9세, 71.4 \pm 4.9세였고 성별은 남자가 39.6%로 연령과 성별 모두 두 군의 차이는 없었다(t-test, p = 0.881). 교육수준은 MCI군에서는 6.1 \pm 5.2년이었고 대조군에서는 8.2 \pm 5.4년으로 대조군의 교육수준이 통계적으로 유의하게 높았다(t-test, p < 0.001). MMSE-KC 평균 점수는 MCI군에서 22.2 \pm 4.0점, 대조군은 25.3 \pm 3.1점으로 두 군에서 유의한 차이가 있었다(t-test, p < 0.001)(표 1).

2. 경도인지손상-대조군 연합분석

MCI군과 대조군의 CHAT유전자형 분포는 모두 Hardy-Weinberg 평형의 분포를 따랐다($\chi^2 = 0.621$, df = 1, p = 0.431, $\chi^2 = 0.064$, df = 1, p = 0.465).

CHAT 유전자형의 분포는 두 군에서 유의한 차이가 없었으나($\chi^2 = 4.571$, df = 2, p = 0.102) CHAT A allele의 발현빈도는 MCI군에서 17%로 대조군의 12.1%에 비해 높은 발현빈도를 보였으며 통계적으로 유의한 차이를 보였다($\chi^2 = 4.242$, df = 1, p = 0.039). APOE $\epsilon 4$ allele을 하나 이상 가지고 있는 경우는 MCI군에서 16.8%, 대조군이 17.4%로 두 군에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다($\chi^2 = 0.031$, df = 1, p = 0.859)(표 1).

교육수준을 보정한 MCI군에 대한 교차비는 CHAT A allele이 있는 경우 1.59(95% 신뢰구간 = 1.02-2.48,

Table 1. Demographic and clinical characteristics and distributions of choline acetyltransferase (CHAT) and apolipoprotein E(APOE) polymorphisms

	Overall (n = 447)		χ^2 test or t-test p-value
	MCI (n = 149)	Controls (n = 298)	
Age, Mean (SD)	71.3 (4.9)	71.4 (4.9)	0.881
Male, %	39.6	39.6	
Education, Mean (SD)	6.1 (5.2)	8.2 (5.4)	< 0.001
MMSE-KC, Mean (SD)	22.2 (4.0)	25.3 (3.1)	< 0.001
CHAT			
Genotype			
G/G, n (%)	101 (67.8)	230 (77.2)	0.102
G/A, n (%)	45 (30.2)	64 (21.5)	
A/A, n (%)	3 (2.0)	4 (1.3)	
Allele			
G, n (%)	247 (83.0)	524 (87.9)	0.039
A, n (%)	51 (17.0)	72 (12.1)	
APOE			
$\epsilon 4(-)$, n (%)	124 (83.2)	246 (82.6)	0.859
$\epsilon 4(+)$, n (%)	25 (16.8)	52 (17.4)	

p = 0.042)로, MCI군이 CHAT A allele을 가질 확률이 대조군에 비해 1.59배 높았으며 이는 통계적으로 유의하였다(표 2).

3. CHAT와 APOE의 상호작용

로지스틱 회귀분석에서 CHAT와 APOE의 상호작용은 통계적으로 유의하지 않았으며($\chi^2 = 1.849$, df = 1, p = 0.174) GMDR 분석에서도 CHAT-APOE 상호작용은 통계적으로 유의하지 않았다(Testing balanced accuracy = 0.540, p = 0.055) (표 3).

고 찰

CHAT 2384G > A 유전자 다형성과 알츠하이머병과의 연관성은 논란이 되어 왔다. Mubumbila 등³⁾이 CHAT A allele이 알츠하이머병의 위험성과 관련이 있다는 보고를 하였으나 프랑스와 독일 등 코카시안을 대상으로 한 후속 연구에서는 알츠하이머병과 연관성이 없었다.²⁴⁻²⁸⁾ 하지만 우리나라에서 진행된 CHAT와 알츠하이머병과 관련성을 조사한 두 연구는 모두 CHAT가 알츠하이머병의 위험성과 관련이 있으며⁴⁾⁵⁾ 특히 APOE $\epsilon 4$ allele과의 상호작용으로 알츠하이머병의 위험성을 높인다고 보고를 하였다.⁴⁾ 이런 일관되지 않은 연구 결과는 연구

대상자의 인종, 알츠하이머병 진단 아형의 다양성, 그리고 확인되지 않은 연구대상자 특성의 차이로 인한 결과일 수 있다. 특히 연구 대상자수가 충분하지 않은 경우, 통계적 유의성을 얻지 못했을 가능성도 있는데 MCI를 대상으로 한 Tang 등¹³⁾의 연구는 연구 대상자수가 97명으로 CHAT 유전자다형성과 MCI 간의 연관성은 없었으나 MCI 이튼 발병과는 상관이 있다고 보고하였다. 알츠하이머병은 나이와 성별에 따라 그 위험률이 달라지므로¹⁾²¹⁾ 본 연구에서 나이와 성별을 동일하게 통제한 후, 학력수준을 공변량으로 처리하여 MCI군과 대조군을 비교한 점은 이전 MCI와 CHAT 관련 연구¹³⁾에 비해 장점이 있다고 할 것이다.

유전자의 전사를 조절하는 부위인 exon 1의 3-와 +4에 위치한 염기는 전사 효율을 결정하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.²⁹⁾ 따라서 CHAT 2384G가 CHAT 2384A로 변이가 일어나면 CHAT 유전자 전사 효율이 감소될 가능성이 있다.⁴⁾¹³⁾ ChAT가 아세틸콜린을 합성하는 rate-limiting enzyme이 아닌란 점과³⁰⁾ 또, ChAT 활성도가 90%까지 떨어질 때까지 정상인에서의 아세틸콜린 합성은 적절한 수준으로 유지될 수 있다는 점을 고려하면³¹⁾ 정상노인에게서는 CHAT의 전사 효율성 저하가 아세틸콜린 신경전달에 큰 영향을 주지 않을 수도 있다. 하지만 알츠하이머병과 같이 콜린성 신경전달이 감소되

Table 2. Odds ratios (OR) for mild cognitive impairment in choline acetyltransferase (CHAT) and apolipoprotein E (APOE) polymorphisms*

	Genotype	OR [†]	95% CI	p-value
CHAT A allele	A(-)	1.00	Reference group	
	A(+)	1.58	1.02-2.48	0.042
APOE ε4 allele	ε4(-)	1.00	Reference group	
	ε4(+)	0.971	0.57-1.66	0.915

* : education, the CHAT genotype, and the APOE ε4 allele are computed, † : Adjusted OR

Table 3. Prediction accuracy and empirical p values of choline acetyltransferase polymorphism (CHAT), apolipoprotein E polymorphism (APOE), and the CHAT-APOE gene pair

Model	Prediction by the SNP of CHAT and APOE Gene		Prediction by CHAT-APOE Interaction model	
	Testing Balanced Accuracy	p-value*	Testing Balanced Accuracy	p-value*
CHAT	0.538	0.055	0.540	0.055
APOE	0.449	0.999		

* : p-value from sign test

어 있는 상황이라면 CHAT의 전사 효율성의 변화는 ChAT 활성도에 결정적 역할을 할 수 있으며, 특히 MCI에서 보이는 ChAT 활성도의 보상성 상향 조절 (compensatory up-regulation)에도 결정적 영향을 미칠 수 있을 것이다. 본 연구에서는 CHAT A allele이 있는 경우 MCI위험을 1.6배 높이는 것으로 확인되었으며 이는 CHAT가 알츠하이머병 뿐만 아니라 MCI의 진단 및 MCI에서 치매로의 전환을 예측하는 또 다른 후보 유전자가 될 수 있는 가능성을 시사한다고 하겠다.

CHAT와 APOE의 상호 연관성을 지지하는 연구결과는 이전부터 꾸준히 제시되어왔다. 알츠하이머병에서 해마와 측두엽의 ChAT 활성도는 APOE ε4 allele 수가 많을수록 저하된다는 보고가 있다.³²⁾ 또한 초기 알츠하이머병에서 지연회상 점수와 재인 점수는 피질의 ChAT의 농도 수준과 역상관계가 있다고 하는데,³²⁾ APOE ε4 allele이 있는 경우 이런 현상은 더 심해진다고 한다.³³⁾ 따라서 CHAT와 APOE ε4 allele 서로 상호작용하여 알츠하이머병의 위험성을 증가시킨다는 Kim 등⁴⁾의 보고는 이런 이전 연구결과를 지지하는 소견이다. 하지만 Ahn Jo 등⁵⁾은 알츠하이머병에 대한 CHAT AA 유전자의 위험성은 APOE ε4가 없는 군에서만 유의하며 로지스틱 회귀분석에서 두 유전자의 상호작용은 통계적으로 유의하지 않다는 결과를 보고하였다.⁵⁾ 이런 상반되는 결과는 통계 검정력의 부족으로 인한 결과일 가능성이 있다. Kim 등⁴⁾ 역시 전통적인 통계방법인 로지스틱 회귀분석으로

는 알츠하이머병에 대한 두 유전자의 상호작용을 확인 할 수 없었으나 Stochastic Search Variable Selection (이하 SSVS) 분석을 추가적으로 한 결과 통계적으로 유의한 상호작용을 확인할 수 있었던 것은 통계 검정력의 차이로 인한 제 2종 오류의 가능성을 시사하는 소견이다.

하지만 MCI를 대상으로 분석한 본 연구에서는 알츠하이머병의 전단계로 간주되고 있는 MCI의 발현에 APOE 유전자가 미치는 영향이 통계적으로 유의하지 않았다. 특히, 전통적인 로지스틱 회귀분석뿐만 아니라 최근에 개발된 비모수적 통계방법으로서, 유전자의 주효과(main effect)가 미미한 경우에 유전자 사이의 상호작용을 민감하게 확인할 수 있다고 알려진 GMDR 방법²²⁾²³⁾을 이용해서도 통계적 유의성을 확인하지 못하였다. 이런 점은 MCI의 발현에 CHAT A allele이 기여하고 있지만 APOE 유전자는 그 CHAT의 기여도에 미치는 영향이 유의하지 않다는 것을 의미한다. 이런 결과는 MCI의 진단체계의 불안정성으로 인해 MCI 대상자에 치매의 전단계 뿐만 아니라 정상인과 인지기능을 유발할 수 있는 다른 질환을 가진 대상자가 다수 포함되어 있어서 생긴 결과일 수 있다. 또 다른 가능성은 본 연구의 대상자가 지역사회에서 임의 추출된 표본으로서 MCI 대상자 중 APOE ε4 allele을 가지고 있는 대상자가 지나치게 적게 포함되어 생긴 표본추출 편향(sampling bias)으로 인한 결과일 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 첫째, APOE ε4/ε4의 유전

자형을 가지면서 동시에 CHAT AA를 가진 대상자가 없어서 그 집단의 MCI 발현에 대한 교차비는 구할 수가 없었으며 또한 $\epsilon 4$ 의 개수별로 위험도를 분석을 할 수 없었다는 점이다. 둘째, 비록 Hardy-Weinberg 평형은 만족한다 하더라도 본 연구의 APOE $\epsilon 4$ allele의 발현 빈도(MCI : 8.4%, 대조군 : 8.9%)가 이전 한국인의 연구(알츠하이머병 : 22.3%, 정상군 : 9.1%)²¹⁾에 비해 적다는 점을 고려하면 위에서 언급하였듯이 표본추출 편향(sampling bias)의 가능성을 전혀 배제할 수 없다. 마지막으로 본 연구의 결과는 다른 인종이나 인구에는 일반화하기 어렵다. 따라서 다양한 인종과 인구집단에서 많은 수의 MCI군을 대상으로 추가 연구가 필요할 것이다. 또한 치매와 관련된 MCI의 병태생리를 이해하기 위해서 CHAT 유전자 다형성과의 MCI 아형, 발병시점 및 치매 전환율과의 연관성에 대한 전향적 후속 연구가 필요할 것이다.

중심 단어 : Choline acetyltransferase · 아포지단백 E · 유전자 다형성 · 유전자 상호작용 · 경도인지손상.

■ The authors have no financial conflicts of interest.

참고문헌

- Kim KW, Park JH, Kim MH, Kim MD, Kim BJ, Kim SG, et al. A nationwide survey on the prevalence of dementia and mild cognitive impairment (MCI) in South Korea. *J Alzheimers Dis* (in press).
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999;56:303-308.
- Mubumbila V, Sutter A, Ptok U, Heun R, Quirin-Stricker C. Identification of a single nucleotide polymorphism in the choline acetyltransferase gene associated with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2002;333:9-12.
- Kim KW, Suh YJ, Park WY, Jhoo JH, Lee DY, Youn JC, et al. Choline acetyltransferase G +4 A polymorphism confers a risk for Alzheimer's disease in concert with Apolipoprotein E epsilon4. *Neurosci Lett* 2004;366:182-186.
- Ahn Jo S, Ahn K, Kim JH, Kang BH, Kim E, Jo I, et al. ApoE-epsilon 4-dependent association of the choline acetyltransferase gene polymorphisms (2384G>A and 1882G>A) with Alzheimer's disease. *Clin Chim Acta* 2006;368:179-182.
- Davies P, Maloney AJ. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 1976;2:1403.
- Perry EK, Perry RH, Blessed G, Tomlinson BE. Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet* 1977;1:189.
- Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Bergmann K, Gibson PH, Perry RH. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br Med J* 1978;2:1457-1459.
- Davies P. Neurotransmitter-related enzymes in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain Res* 1979;171:319-327.
- Wilcock GK, Esiri MM, Bowen DM, Smith CC. Alzheimer's disease. Correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities. *J Neurol Sci* 1982;57:407-417.
- Bierer LM, Haroutunian V, Gabriel S, Knott PJ, Carlin LS, Purohit DP, et al. Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. *J Neurochem* 1995;64:749-760.
- DeKosky ST, Ikonovic MD, Styren SD, Beckett L, Wisniewski S, Bennett DA, et al. Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 2002;51:145-155.
- Tang M, Rao D, Ma C, Guo Y, Han H, Ling K, et al. Evaluation of choline acetyltransferase gene polymorphism (2384 G/A) in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008;26:9-14.
- Park JH, Lim S, Lim JY, Han MK, Yoon IY, Kim JM, et al. An overview of the Korean longitudinal study on health and aging. *Psychiatry Invest* 2007;4:84-95.
- Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* 2004;256:183-194.
- Lee JH, Lee KU, Lee DY, Kim KW, Jhoo JH, Kim JH, et al. Development of the Korean version of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease Assessment Packet (CERAD-K) : clinical and neuropsychological assessment batteries. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 2002;57:P47-P53.
- Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.) : the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* 1998;59 Suppl 20:22-33; quiz 34-57.
- Yoo SW, Kim YS, Noh JS, Oh KS, Kim CH, Nam KK, et al. Validity of Korean Version of the Mini-international Neuropsychiatric interview. *Anxiety Mood* 2006;2:50-55.
- Ruff RM, Light RH, Parker SB, Levin HS. Benton Controlled Oral Word Association Test: reliability and updated norms. *Arch Clin Neuropsychol* 1996;11:329-338.
- Wechsler D. Wechsler Adult Intelligence Scale-administration and scoring manual. 3rd ed. San Antonio, TX: The

- Psychological Corporation;1997.
21. Kim KW, Jhoo JH, Lee KU, Lee DY, Lee JH, Youn JY, et al. Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease in Koreans. *Neurosci Lett* 1999;277:145-148.
 22. Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, et al. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *Am J Hum Genet* 2001;69:138-147.
 23. Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene-gene and gene-environment interactions. *Bioinformatics* 2003;19:376-382.
 24. Harold D, Peirce T, Moskvina V, Myers A, Jones S, Hollingworth P, et al. Sequence variation in the CHAT locus shows no association with late-onset Alzheimer's disease. *Hum Genet* 2003;113:258-267.
 25. Schwarz S, Eisele T, Diehl J, Müller U, Förstl H, Kurz A, et al. Lack of association between a single nucleotide polymorphism within the choline acetyltransferase gene and patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2003;343:167-170.
 26. Cook LJ, Ho LW, Wang L, Terrenoire E, Brayne C, Evans JG, et al. Candidate gene association studies of genes involved in neuronal cholinergic transmission in Alzheimer's disease suggests choline acetyltransferase as a candidate deserving further study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;132:5-8.
 27. Ozturk A, DeKosky ST, Kamboh MI. Genetic variation in the choline acetyltransferase (CHAT) gene may be associated with the risk of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2006;27:1440-1444.
 28. Grunblatt E, Zehetmayer S, Bartl J, Löffler C, Wichart I, Rainer MK, et al. Genetic risk factors and markers for Alzheimer's disease and/or depression in the VITA study. *J Psychiatr Res* 2009;43:298-308.
 29. Kozak M. Recognition of AUG and alternative initiator codons is augmented by G in position +4 but is not generally affected by the nucleotides in positions +5 and +6. *EMBO J* 1997;16:2482-2492.
 30. Cohen EL, Wurtman RJ. Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci* 1975;16:1095-1102.
 31. Haubrich DR, Chippendale TJ. Regulation of acetylcholine synthesis in nervous tissue. *Life Sci* 1977;20:1465-1478.
 32. Baskin DS, Browning JL, Pirozzolo FJ, Korporaal S, Baskin JA, Appel SH. Brain choline acetyltransferase and mental function in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999;56:1121-1123.
 33. Kim JM, Shin IS, Yoon JS. Apolipoprotein E among Korean Alzheimer's disease patients in community-dwelling and hospitalized elderly samples. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002;13:119-124.