

## PER3 유전자다형성과 일중선호도의 연관성

### Association Study between *Per3* Gene Polymorphism and Diurnal Preference

강승걸<sup>1</sup> · 최태영<sup>1</sup> · 윤호경<sup>2</sup> · 박영민<sup>3</sup> · 김 린<sup>2</sup> · 이현정<sup>2</sup>

Seung-Gul Kang,<sup>1</sup> TaeYoung Choi,<sup>1</sup> Ho-Kyoung Yoon,<sup>2</sup> Young-Min Park,<sup>3</sup> Leen Kim,<sup>2</sup> Heon-Jeong Lee<sup>2</sup>

#### ■ ABSTRACT

**Objective:** Diurnal preference is an attribute reflecting whether people are alert and preferring to be active either early or late in the day. It also referred to as chronotype or morningness-eveningness trait. The PER3 genes have been known to influence diurnal preference. In this study, we have investigated the associations between the PER3 gene polymorphisms and diurnal preference in a healthy young population, controlling for the social and environmental confounding factors.

**Methods:** The participants in this experiment included 299 unrelated medical college students (M=191, F=108), with a mean age of 22.9 years. Diurnal preference was measured by a single administration of the 13-item Composite Scale for Morningness (CSM). Genotyping of the PER3 VNTR (rs57875989) was performed using polymerase chain reaction. A two-tailed alpha of 0.05 was chosen.

**Results:** The mean  $\pm$ SD score on the CSM scale for all subjects was  $31.90 \pm 6.39$ . There was no significant difference in total CSM score between gender groups, although females showed a trend towards higher morningness score. Although PER3 5R/5R showed the tendency towards high CSM scores, there were no significant differences on CSM scores among genotypes and allele status of PER3 VNTR (rs57875989).

**Conclusions:** We could not confirm that the PER3 VNTR is associated with diurnal preference in a Korean healthy young population. The future studies need to investigate the association between diurnal preference and other polymorphisms of PER3 gene in larger sample of Korean young healthy population. **Sleep Medicine and Psychophysiology 2011 ; 18(1) : 35-39**

**Key words:** Diurnal preference · Polymorphism · PER3 · Morningness.

35

## 서 론

일중선호도(diurnal preference, chronotype)는 개인이 어느 시간대에 각성도가 높고 활동적인지를 나타내는 성향으로 아침형(morningness type), 중간형(intermediate type)과 저녁형(eveningness type)으로 분류된다. 아침형은 이른 시각에 각성도가 높고 활기가 있는데 반하여 저녁형은 늦은 저녁시각에 각성도가 높고 잠자리에 늦게 가려는 양상을 보인다. 이는 내인성 일주기리듬과 연관되어있다고 생각

되며 최근의 유전연구의 결과들은 특정한 분자적 기전이 일중리듬을 조절한다는 결과를 보였다.

인간의 일중선호도에 대한 과거의 유전연구들을 보면, CLOCK 유전자의 3111C/T 단일염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)이 일중선호도에 영향을 준다고 보고되었다(Katzenberg 등 1998). 이 발견은 이후 다른 연구진들에 의해 다시 연구되어 Mishima 등은 동일한 결과를 보고하였으나(Mishima 등 2005), Robilliard 등(2002)은 연관이 없음을 보고하여 상반된 결론을 내렸다. Lee 등(2007)도 일중선호도와 CLOCK 유전자와 G protein  $\beta 3$  subunit 유

Received: May 2, 2011 / Revised: May 19, 2011 / Accepted: June 1, 2011

본 연구는 대한신경정신의학회 연구재단의 지원으로 이루어졌음.

<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, Catholic University of Daegu School of Medicine, Daegu, Korea

<sup>2</sup>고려대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

<sup>3</sup>인제대학교 의과대학 정신과학교실 Department of Psychiatry, Inje University College of Medicine, Goyang, Korea

**Corresponding author: Heon-Jeong Lee**, Department of Psychiatry, Korea University College of Medicine, Anamdong 5-ga, Seongbuk-gu, Seoul 136-705, Korea

Tel: 02) 920-6721 · Fax: 02) 929-7679 · E-mail: leehjeong@korea.ac.kr

전자(rs5443)간의 연관을 연구하였으며, CLOCK 유전자와 일중선호도간의 유의한 연관을 발견하지는 못하였으나 두 유전자간의 상호작용이 일중선호도에 영향을 줄을 밝혔다. 이후 PER1와 PER2 유전자의 다형성이 극단적인 일중선호도와 연관된다는 연구결과들이 보고되었다(Carpen 등 2005 ; Carpen 등 2006).

PER3의 variable number of tandem repeats(VNTR) SNP(rs57875989)도 일중선호도와 연관된 것으로 보고되어 왔다. 4회 반복 대립유전자(PER3 4R)가 저녁형과 수면위상 지연증후군(delayed sleep phase syndrome, DSPS)과 연관을 보인 반면, 5회 반복 대립유전자(PER3 5R)는 아침형과 연관이 있었다(Archer 등 2003 ; Ellis 등 2009). Jones 등은 보다 대규모의 피험자들을 대상으로 연구하였는데 특히 18에서 30세 사이의 젊은 연령에서 이 연관이 가장 강하게 나타났다(Jones 등 2007). 한 브라질 연구에서는 이 연관에 대해 유의한 결과를 보였으나 수면위상지연증후군 집단에서 PER 5R의 빈도가 높아서 기존 연구들과 반대의 방향성을 보였다(Pereira 등 2005). 비록, 그들은 위도가 차이를 설명할 수 있다고 주장하였지만 이처럼 PER3 VNTR 유전자와 일중선호도간의 연관성은 결론지어지지 않았다.

일중선호도는 연령, 성별, 환경요인에 의해서 영향을 받기 때문에, 본 연구는 한 의과대학생들로 구성된 상대적으로 단일한 집단을 주의 깊게 선정하였다. 그들은 대부분 유사한 연령대에 있으며 같은 의과대학에서 같은 규칙적인 환경과 일정을 공유하고 있었다. 게다가 한국인들은 상대적으로 인종적으로 동일하며 적은 인구층화의 문제를 가지고 있어 유전 연구의 대상으로 장점을 지닌다.

우리는 과거의 연구결과에 따라 일중선호도에 대한 후보유전자로서 잠재적 기능성 유전자인 PER3의 VNTR SNP(rs-57875989)를 선정하였고, 환경적 요인이 동질적인 집단에서 연합연구를 시행하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

이 실험에서 참가자들은 299명(남자=191명, 여자=108명)의 고려대학교 의과대학 학생이었으며, 평균연령은 22.9세(SD=2.14, 연령범위=18~32세)로 모든 참가자들은 자원자들이었다. 연구참여자들 중 다수는 이전에 발표된 연구에 포함되었다(Lee 등 2007 ; Lee 등 2011). 모든 참여자들은 정신과 의사들에 의해서 비구조화된 임상면담을 받았고, 물질남용이나 주요정신질환들(예 : 정신분열병 또는 기분장애)의 가족력과 주요 내과적 질환이나 정신과적 질환을 가지고

있는 자원자들은 연구에서 제외되었다. 315명이 임상면담에 참여하였고 16명은 내과적 또는 정신과적인 문제로 배제되었다. 연구 프로토콜은 고려대학교의 윤리위원회에 의해서 승인 받았으며 모든 연구참가자들은 본 연구의 목적과 과정에 대해 설명들은 후 연구참여 전에 동의서에 서명하였다.

### 2. 유전자형 분석

QIAamp Blood Kit(Qiagen, Germany)를 사용하여 백혈구에서 유전자 DNA를 추출하였으며, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 통하여 PER3 VNTR(rs-57875989)에 대한 유전자형 분석을 하였다. 시발체(primer)는 Benedetti 등이 기술하였던 것과 동일하게 하였으며(Benedetti 등 2008), PER3 VNTR의 대립유전자가 이형접합체(heterozygote)인지 동형접합체(homozygote)인지를 보기 위해서 agarose gel 전기영동기법이 사용되었다.

### 3. 일중선호도 평가

일중선호도는 Smith 등이 기술한 13문항으로 구성된 Composite Scale for Morningness(CSM)를 설문지로 평가하여 측정하였다(Smith 등 1989). CSM은 Horne과 Östberg가 개발한 Morningness-Eveningness Questionnaire만큼 신뢰성과 타당성이 갖춰진 것으로 평가되며 길이는 더 짧다(Greenwood 등 1994). Randler와 Diaz-Morales이 대규모의 대학생들에서 세가지 하위척도로 분류하였으며 '아침형(morningness : 1, 3, 6, 8, 10, 11번 항목)', '활동계획(activity plan : 2, 7, 9, 13번 항목)', '아침의 각성도(morning alertness : 4, 5, 12번 항목)'로 명명하였다(Randler 등 2007). 13개 항목들 중에, 3가지 항목은 5점 척도이며 나머지 10가지 항목들은 4점 척도로 평가하여 총점은 13에서 55점이다. 점수가 높을수록 아침형임을 나타내고 낮을수록 저녁형임을 나타낸다. 자원자들은 한국어판 CSM 설문지로 평가되었으며 이 척도의 신뢰도는 윤진상 등에 의해서 입증된 바 있다(Yoon 등 1997).

### 4. 통계분석

유전자형과 대립유전자가 CSM 평균점수와 세가지 하위척도들(아침형, 활동계획, 아침의 각성도)에 미치는 영향을 보기 위하여 성별을 공변인(covariate)으로 설정하여 analyses of covariance(ANCOVAs)를 사용하여 분석하였다. 양측 점정으로 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였고 통계 프로그램은 SPSS for Windows를 이용하였다.

## 결 과

대상자들의 CSM 점수는  $31.90 \pm 6.39$  (평균  $\pm$  표준편차)였다. 여성이 다소 아침형 점수가 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(남성 :  $31.40 \pm 6.02$ , 여성 :  $32.80 \pm 6.93$ ;  $t=1.83$ ,  $p=0.069$ ). PER3 유전자의 세가지 유전자형(4R/4R, 4R/5R, 5R/5R)의 분포는 Hardy-Weinberg 평형을 벗어나지 않았으며 피험자군에서 PER3 VNTR의 소수 대립형질 빈도는 상대적으로 낮아서 12.9%였다.

표 1은 PER3 세가지 유전자형들에서 총 CSM 점수와 세가지 하위척도 점수들을 비교하고 있다. 또한, 유전자형에 따른 비교 외에도 과거 연구들의 결과에 기초하여 대립유전자에 따른 비교도 시행하였다. 성별을 공변인으로 설정하여 ANCOVAs를 시행한 결과 PER3 5R/5R가 다소 높은 CSM 점수의 경향성을 보였으나, PER3 VNTR(rs57875989)의 유전자형( $p=0.31$ )과 대립유전자( $p=0.13$ )에 따른 CSM 점수의 유의한 차이는 없었다.

## 고 찰

PER3 VNTR과 일중선호도에 대한 과거 연구로는 PER3 5R이 아침형과 연관된다는 결과와 PER3 4R이 저녁형과 수면위상지연증후군과 유의하게 연관된다는 연구결과가 있다(Archer 등 2003; Ellis 등 2009). 이 연구결과는 1,590명의 대규모 연구에서도 다시 재현되었고, 이 연관은 18세에서 30세 사이에서 가장 강하게 나타났다(Jones 등 2007). 본 연구는 비록 과거 연구들에서 나타난 연관을 재현하지는 못하였으나, PER3 5R/5R에서 높은 CSM점수의 경향성을 보이고 있다. 본 연구자들은 과거 연구와의 불일치가 한국인 집단에서 낮은 5R 대립유전자 빈도 때문일 것으로 추정한다.

PER3는 인종간 다른 대립유전자 빈도를 보이는데, 4R의 대립유전자 빈도가 백인들에서는 주로 0.5~0.7 정도인데 반하여 아시아인들에서는 0.8~0.9로 차이가 크다(Nadkarni 등 2005). 과거 연구들에서 아침형의 경향을 보인 5R/5R 유전자형의 빈도가 10% 정도였던 것에 비하여 본 연구에서는 2%로 매우 드물었다. PER3 VNTR의 빈도는 인종마다 달라서 파푸아뉴기니아의 어떤 집단에서는 유전자형의 빈도가 정반대로 나타나는 경우도 있다(Ciarleglio 등 2008).

과거 연구들에 따르면 PER3 VNTR 유전자형 중에 특히 5R/5R이 4R/4R에 비하여 멜라토닌, 코티솔 등의 호르몬과 수면-각성시각과의 연관성이 강하였으며(Archer 등 2008), 수면박탈에 대한 반응에서도 인지기능장애와 수행기능의 감퇴가 보다 두드러졌고(Viola 등 2007), 수면박탈 후 fMRI로 측정된 뇌의 반응도 보다 저하되어 있었다(Vandewalle 등 2009). 이는 PER3 5R/5R 유전자형에서 수면박탈시에 수면 압력(sleep pressure)가 크다는 의미로서 이 유전자가 일주기리듬 외에도 수면항상성기전(sleep homeostatic mechanism)에 중요한 역할을 가질 가능성이 있다.

PER3 VNTR(rs57875989)외에 다른 SNP들과 일중선호도와의 연관성에 대해서도 보고되고 있다. Johansson 등은 PER3 647 Val/Gly이 계절성기분장애에서 일중선호도와 연관되어 있다고 보고하였다(Johansson 등 2003), 최근 Archer 등은 PER3 유전자의 프로모터(promoter) 영역을 연구하여 새로운 SNP들(G-320T, C-319A, G-294A, -318 1/2 VNTR)을 제시하였다(Archer 등 2010). 이 유전자들의 다형성과 아침형-저녁형, 수면위상지연증후군과의 연관을 분석한 결과 -320T와 -319A 대립유전자가 수면위상지연증후군과 연관되어 있었다. 이 연구의 haplotype 분석결과에서도 TA2G 조합이 수면위상지연증후군에서 보다 흔한 결과를 보였다(Archer 등 2010). 또한, 일중선호도는 PER3 유전자 외에도 CLOCK, PER1, PER2 유전자 등이 관여하며 기존

**Table 1.** The CSM scores in subject groups classified by PER3 polymorphisms

	CSM score				
	Morningness	Morning alertness	Activity planning	Total	
4R/4R (n=228)	15.63 $\pm$ 3.57	7.36 $\pm$ 1.74	8.88 $\pm$ 2.35	31.86 $\pm$ 6.44	
4R/5R (n=65)	15.54 $\pm$ 3.20	7.31 $\pm$ 1.88	8.82 $\pm$ 2.28	31.66 $\pm$ 6.17	
5R/5R (n=6)	18.00 $\pm$ 3.85	8.50 $\pm$ 1.87	9.50 $\pm$ 1.64	36.00 $\pm$ 6.39	
PER3 VNTR (rs57875989)	F	1.32	1.18	0.17	1.17
	P	0.27	0.31	0.85	0.31
4R carrier (n=283)	15.61 $\pm$ 3.48	7.34 $\pm$ 1.77	8.87 $\pm$ 2.33	31.82 $\pm$ 6.37	
4R non-carrier (n=6)	18.00 $\pm$ 3.85	8.50 $\pm$ 1.87	9.50 $\pm$ 1.64	36.00 $\pm$ 6.39	
	F	2.64	2.34	0.32	2.32
	P	0.11	0.13	0.57	0.13

The values are means $\pm$ SD. ANCOVA with sex as a covariate, CSM : Composite Scale for Morningness

동물연구에 따르면 PER3는 PER1과 PER2이 없이는 독립적으로 일주기리듬성을 발생시키에는 부족하다는 결과가 있었다(Bae 등 2001).

본 연구결과를 해석할 때에 제한점은 다음과 같다. 첫째, 유전연구로서는 대상자수가 많지 않고 한국인의 특성상 소수대립형질의 빈도가 낮아서 기존 연구결과와 다른 결론이 나왔을 가능성이 있다. 둘째, 본 연구의 대상자들은 건강한 젊은 대학생들로서 극단적인 아침형이나 저녁형을 대상으로 하지 않았다. 향후 보다 대규모의 피험자들을 대상으로 다른 PER3 유전자의 SNP들(G-320T, C-319A, G-294A, -318 1/2 VNTR)까지 분석을 확대한다면 PER3 유전자와 일중선호도에 대한 보다 포괄적이고 폭넓은 이해가 가능할 것이다.

## 요 약

**목적** : 일중선호도는 하루 중 어느 시간대에 각성도가 높고 활기찬 지에 대한 경향으로 아침형-저녁형이라고도 알려져 있다. PER3 유전자는 일중선호도에 영향을 주는 것으로 알려져 왔다. 본 연구에서 우리는 젊고 건강한 피험자들에서 환경과 혼란요인들을 통제하고 PER3 유전자 다형성과 일중선호도간에 연관을 연구하였다.

38

**방법** : 연구에 참여한 대상자는 299명의 의과대학생들(남자 299, 여자 191명)이며 평균연령은 22.9세였다. 일중선호도는 13개 문항의 Composite Scale for Morningness (CSM)로 측정하였다. PER3 VNTR(rs57875989)의 유전자형분석은 중합효소연쇄반응법을 사용하여 이루어졌다. 양측검정으로 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

**결과** : 전체 대상자에 대한 CSM 점수는  $31.90 \pm 6.39$  (평균  $\pm$  표준편차)였다. 남녀간에 CSM 총점에 유의한 차이는 없었다. PER3 5R/5R에서 CSM 점수가 높은 경향을 보였으나, PER3 VNTR(rs57875989) 유전자형과 대립유전자에 따른 CSM 점수의 유의한 차이는 없었다.

**결론** : 본 연구는 젊은 건강한 한국인에서 PER3 VNTR과 일중선호도간의 연관을 입증하지 못했다. 향후 보다 대규모의 피험자들을 대상으로 PER3의 여러 유전자들에 대해 다형성과 일중선호도간의 연관에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

**중심 단어** : 일중선호도 · 유전자다형성 · PER3 · 아침형.

## REFERENCES

Archer SN, Robilliard DL, Skene DJ, Smits M, Williams A, Arendt J, et al. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and ex-

treame diurnal preference. *Sleep* 2003;26:413-415

Archer SN, Viola AU, Kyriakopoulou V, von SM, Dijk DJ. Inter-individual differences in habitual sleep timing and entrained phase of endogenous circadian rhythms of BMAL1, PER2 and PER3 mRNA in human leukocytes. *Sleep* 2008;31:608-617

Archer SN, Carpen JD, Gibson M, Lim GH, Johnston JD, Skene DJ, et al. Polymorphism in the PER3 promoter associates with diurnal preference and delayed sleep phase disorder. *Sleep* 2010;33:695-701

Bae K, Jin X, Maywood ES, Hastings MH, Reppert SM, Weaver DR. Differential functions of mPer1, mPer2, and mPer3 in the SCN circadian clock. *Neuron* 2001;30:525-536

Benedetti F, Dall'aspezia S, Colombo C, Pirovano A, Marino E, Smeraldi E. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 influences age at onset of bipolar disorder. *Neurosci Lett* 2008;445:184-184

Carpen JD, Archer SN, Skene DJ, Smits M, von Schantz M. A single-nucleotide polymorphism in the 5'-untranslated region of the hPER2 gene is associated with diurnal preference. *J Sleep Res* 2005;14:293-297

Carpen JD, von Schantz M, Smits M, Skene DJ, Archer SN. A silent polymorphism in the PER1 gene associates with extreme diurnal preference in humans. *J Hum Genet* 2006;51:1122-1125

Ciarleglio CM, Ryckman KK, Servick SV, Hida A, Robbins S, Wells N, et al. Genetic differences in human circadian clock genes among worldwide populations. *J Biol Rhythms* 2008;23:330-340

Ellis J, von Schantz M, Jones KH, Archer SN. Association between specific diurnal preference questionnaire items and PER3 VNTR genotype. *Chronobiol Int* 2009;26:464-473

Greenwood KM. Long-term stability and psychometric properties of the Composite Scale of Morningness. *Ergonomics* 1994;37:377-383

Johansson C, Willeit M, Smedh C, Ekholm J, Paunio T, Kieseppä T, et al. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:734-739

Jones KHS, Ellis J, von Schantz M, Skene DJ, Dijk DJ, Archer SN. Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities. *J Sleep Res* 2007;16:12-16

Katzenberg D, Young T, Finn L, Lin L, King DP, Takahashi JS, et al. A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep* 1998;21:569-576

Lee HJ, Paik JW, Kang SG, Lim SW, Kim L. Allelic Variants Interaction of CLOCK Gene and G-Protein  $\beta 3$  Subunit Gene with Diurnal Preference. *Chronobiol Int* 2007;24:589-597

Lee HJ, Kim L, Kang SG, Yoon HK, Choi JE, Park YM, et al. PER2 variation is associated with diurnal preference in a Korean young population. *Behav Genet* 2011;41:273-277

Mishima K, Tozawa T, Satoh K, Saitoh H, Mishima Y. The 3111T/C polymorphism of hClock is associated with evening preference and delayed sleep timing in a Japanese population sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;133B:101-104

Nadkarni NA, Weale ME, von Schantz M, Thomas MG. Evolution of a length polymorphism in the human PER3 gene, a component of the circadian system. *J Biol Rhythms* 2005;20:490-499

Pereira DS, Tufik S, Louzada FM, Benedito-Silva AA, Lopez AR, Lemos NA, et al. Association of the length polymorphism in the human Per3 gene with the delayed sleep-phase syndrome:

- does latitude have an influence upon it? *Sleep* 2005;28:29-32
- Randler C, Diaz-Morales JF. Morningness in German and Spanish students: A comparative study. *Eur J Person* 2007;21:419-427
- Robilliard DL, Archer SN, Arendt J, Lockley SW, Hack LM, English J, et al. The 3111 Clock gene polymorphism is not associated with sleep and circadian rhythmicity in phenotypically characterized human subjects. *J Sleep Res* 2002;11:305-312
- Smith CS, Reilly C, Midkiff K. Evaluation of three circadian rhythm questionnaires with suggestions for an improved measure of morningness. *J Appl Psychol* 1989;74:728-738
- Vandewalle G, Archer SN, Wuillaume C, Balteau E, Degueldre C, Luxen A, et al. Functional MRI assessed brain responses during an executive task depend on interaction of sleep homeostasis, circadian phase, and PER3 genotype. *J Neurosci* 2009; 29:7948-7956
- Viola AU, Archer SN, James LM, Groeger JA, Lo JC, Skene DJ, et al. PER3 polymorphism predicts sleep structure and waking performance. *Curr Biol* 2007;17:613-618
- Yoon JS, Shin SM, Kook SH, Lee HY. A preliminary study on the Korean translation of Composite Scale (KtCS) to measure morningness: eveningness. *J Korean Neuropsychiatr Assoc* 1997;36:122-134