

# 한국인에서 조현병과 Cannabinoid Receptor 1 유전자의 삼핵산 반복서열의 연합에 대한 연구

순천향대학교 의과대학 서울병원 정신건강의학교실,<sup>1</sup> (주)에스엔피 제네틱스 유전역학부,<sup>2</sup> 삼성의료원 삼성유전체연구소 유전체의학연구실,<sup>3</sup> 서강대학교 생명공학과,<sup>4</sup> 한림대학교 의과대학 강남성심병원 정신건강의학교실<sup>5</sup>

김지원<sup>1</sup> · 노양호<sup>1</sup> · 김민재<sup>1</sup> · 김채리<sup>1</sup> · 박병래<sup>2</sup> · 배준설<sup>3</sup>  
신형두<sup>4</sup> · 최인근<sup>5</sup> · 한상우<sup>1</sup> · 황재욱<sup>1</sup> · 우성일<sup>1</sup>

## Association Analysis between (AAT)<sub>n</sub> Repeats in the Cannabinoid Receptor 1 Gene and Schizophrenia in a Korean Population

Ji-Won Kim, MD,<sup>1</sup> Yang-Ho Roh, MD,<sup>1</sup> Min-Jea Kim, MD,<sup>1</sup> Chea-Ri Kim, MD,<sup>1</sup>  
Byung-Lae Park, PhD,<sup>2</sup> Joon Seol Bae, PhD,<sup>3</sup> Hyoung Doo Shin, PhD,<sup>4</sup> Ihn-Geun Choi, MD,<sup>5</sup>  
Sang-Woo Han, MD,<sup>1</sup> Jaek Hwang, MD,<sup>1</sup> Sung-Il Woo, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry, Soonchunhyang University Seoul Hospital, College of Medicine, Soonchunhyang University, Seoul, Korea

<sup>2</sup>Department of Genetic Epidemiology, SNP Genetics, Inc., Seoul, Korea

<sup>3</sup>Laboratory of Translational Genomics, Samsung Genome Institute, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

<sup>4</sup>Department of Life Science, Sogang University, Seoul, Korea

<sup>5</sup>Department of Neuropsychiatry, Kangnam Sacred Heart Hospital, Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

**Objectives** Previous studies suggest that the cannabinoid receptor 1 (*CNR1*) gene could be an important candidate gene for schizophrenia. According to linkage studies, this gene is located on chromosome 6q14–q15, which is known to harbor the schizophrenia susceptibility locus (locus 5, SCZ5, OMIM 803175). The pharmacological agent delta-9-tetrahydrocannabinol ( $\Delta$ -9-THC) seems to elicit the symptoms of schizophrenia. The association between *CNR1* polymorphisms and schizophrenia is actively being investigated, and some studies have linked the AAT-trinucleotide repeats in *CNR1* to the onset of schizophrenia. In this study, we have investigated the association between the AAT-trinucleotide repeats in *CNR1* and schizophrenia by studying schizophrenia patients and healthy individuals from Korea.

**Methods** DNA was extracted from the blood samples of 394 control subjects and 337 patients diagnosed with schizophrenia (as per the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition criteria). After polymerase chain reaction amplification, a logistic regression analysis, with age and gender as the covariates, was performed to study the variations in the AAT-repeat polymorphisms between the two groups.

**Results** In total, 8 types of trinucleotide repeats were identified, each containing 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, and 15 repeats, respectively. (AAT)<sub>13</sub> allele was most frequently observed, with a frequency of 33.6% and 31.6% in the patient and control groups, respectively. The frequency of the other repeat alleles in the patient group (in the decreasing order) was as follows: (AAT)<sub>13</sub> 33.6%, (AAT)<sub>14</sub> 21.6%, (AAT)<sub>12</sub> 18.5%, and (AAT)<sub>7</sub> 11.1%. The frequency of the repeat alleles in the control group (in the decreasing order) was as follows: (AAT)<sub>13</sub> 31.6%, (AAT)<sub>14</sub> 24.5%, (AAT)<sub>12</sub> 17.2%, and (AAT)<sub>7</sub> 11.6%. However, there were no significant differences in the AAT-repeat polymorphisms of the *CNR1* gene between the patient group and the control group.

**Conclusions** Although our study revealed no significant association of the AAT-repeat polymorphism of the *CNR1* gene with schizophrenia, it will serve as a good reference for future studies designed to examine the cannabinoid hypothesis of schizophrenia.

**Key Words** Schizophrenia · Cannabinoid receptor 1 gene · AAT repeats polymorphism.

Received: June 12, 2014 / Revised: July 7, 2014 / Accepted: July 24, 2014

Address for correspondence: Sung-Il Woo, MD

Department of Psychiatry, Soonchunhyang University Seoul Hospital, College of Medicine, Soonchunhyang University, 59 Daesagwan-ro, Yongsan-gu, Seoul 140-743, Korea

Tel: +82-2-709-9230, Fax: +82-2-794-9414, E-mail: siwoo@schmc.ac.kr

## 서론

조현병은 대개 늦은 청소년기 혹은 초기 성인기에 발병하며 망상이나 환각, 연상의 이완, 부적절하거나 둔마된 정동, 그리고 지각의 왜곡과 같은 정신병적 증상을 나타낸다. 이 질병은 만성적이고 심각한 정신질환이며 평생 유병률은 전 세계적으로 1%이다. 조현병 환자의 행동은 심각하게 손상되며, 사회적으로 부정적인 결과를 낳는다.<sup>1)</sup>

지금까지, 조현병의 원인에 대해 고전적인 도파민 가설, N-Methyl-D-aspartic acid 수용체 가설, 그리고 최근의 신경 발달학 가설 등 여러 가지 가설들이 제안되었다. 그 중에서 '카나비노이드(cannabinoid) 가설'은 대마초 사용자들의 임상적인 증상들로부터 추론되었고, 조현병의 약물학적 원인들 중의 하나로 발전되어 왔다.<sup>2)</sup>

대마초는 활성구성물인 delta-9-tetrahydrocannabinol(이하 Δ-9-THC)을 포함하여 약 70개의 카나비노이드를 함유하고 있고, 대마초에 포함된 Δ-9-THC의 함량에 따라 다양한 정신과적인 효과를 보인다. 대마초에 함유되어 있는 다른 구성물인 cannabidiol은 항불안 효과와 항정신병적인 효과를 보여 Δ-9-THC의 부작용을 상쇄시킨다고 알려져 있다. 대마초에서 Δ-9-THC의 포함된 양이 다양한 것처럼, cannabidiol이 포함된 양도 다양하다. 그러므로 대마초 사용의 효과가 Δ-9-THC와 상관이 있고 cannabidiol이 Δ-9-THC의 부작용을 상쇄시키는 역할을 한다면, Δ-9-THC와 cannabidiol이 포함된 양의 비율이 대마초 사용 효과에 중요한 영향을 줄 것으로 예측할 수 있으며, 이는 실험적으로 증명되었다.<sup>3)</sup>

Δ-9-THC는 γ-aminobutyric acid(이하 GABA) 신경전달계를 억제하고, 도파민 신경전달계를 증가시켜 조현병의 신경생물학과 관련된 중변연계(mesolimbic system)와 흑질-선조계(nigrostriatal systems)를 활성화함이 밝혀졌고, 이러한 경로로 대마초 사용이 조현병을 유발하는 데 직접적인 영향을 끼친다고 해석할 수 있다.<sup>4)</sup>

건강한 실험군을 대상으로 투여된 Δ-9-THC는 의심증, 피해 및 과대 사고, 개념적 혼동, 분열적 사고, 감각지각의 변화를 포함한 조현병의 양성 증상을 유발한다. 또한 Δ-9-THC는 감정둔마, 대인 관계와 자발성의 감소, 정신운동성 지체, 감정적 위축을 포함한 조현병의 음성 증상과 비슷한 효과를 유발한다. 무동기 증후군(amotivation syndrome)은 조현병의 음성 증상과 비슷한데 만성 대마초 중독자에서 무관심, 무동기, 사회적 위축, 흥미의 감소, 무기력, 기억력, 집중력, 판단장애, 직업적 어려움이 나타나는 것이다.<sup>5)</sup>

이러한 조현병의 양성 증상과 음성 증상 외에도, 건강한 실험군에 Δ-9-THC를 투여한 후 단어 목록의 즉시 회상과 지

연 회상(30분)을 실시한 결과 용량 의존적인 기능 저하가 나타났고 언어적 회상에서 오류의 수가 증가하는 인지적 결핍이 관찰되었다.<sup>3)</sup>

최근에 Henquet 등<sup>6)</sup>은 건강한 실험군, 조현병 환자, 조현병 환자의 일차 친족에서 Δ-9-THC 흡입이 언어적 학습과 회상, 집중력의 지속, 선택적 집중, 정신운동성 속도를 손상시킨다고 발표하였다. Henquet 등<sup>7)</sup>과 Ranganathan과 D'Souza<sup>8)</sup>의 보고에 따르면, 인간에서 대마초 사용은 학습, 단기 기억, 작업 기억, 실행 기능, 추상 능력, 판단, 집중력과 관련하여 용량에 관계 있는 급성 효과를 보였는데 이는 다른 연구들과도 일관된 결과이다. Δ-9-THC에 의한 가장 큰 인지적 결핍은 언어적 기억으로, 조현병 환자에서도 가장 큰 인지적 결핍을 보이는 부분이다.<sup>3)</sup>

이와 같이 건강한 실험군에서 나타난 결과뿐 아니라, 조현병 환자를 대상으로 이중 맹검, 무작위 배정 방식으로 시행된 약리학적 연구에서 나타난 Δ-9-THC의 효과는 다음과 같다. 안정적인 용량의 항정신병 약물을 복용하여 임상적으로 안정된 상태의 환자에게 투여한 결과, Δ-9-THC는 일시적으로 양성 및 음성 증상, 감각 지각적 변화, 인지적 결핍, 약물 부작용을 악화시켰다. 조현병 환자는 Δ-9-THC의 효과에 더욱 민감하여 환자의 전형적인 증상과 비슷하게 명백히 양성 증상을 증가시킨다.

대조군과 비교하여 조현병 환자는 Δ-9-THC와 관계된 학습 장애에 더욱 취약하여, Δ-9-THC 5 mg을 투여 받은 조현병 환자는 단어의 즉시 회상을 전혀 하지 못하였다. 이러한 Δ-9-THC의 효과는 항정신병약물을 복용하지 않는 경우의 조현병 환자에서 더욱 클 것으로 예측된다.<sup>3)</sup>

이렇게 외인성 대마초(예를 들어, 마리화나)의 과도한 사용 혹은 내인성 카나비노이드인 anandamide의 증가로 인한 카나비노이드 시스템의 신호 강화는 조현병을 촉발하는 뇌의 카나비노이드 수용체에 의해 매개된다.<sup>2)</sup> 1988년, 뇌에 카나비노이드의 특정한 결합부위가 있다는 것이 밝혀졌고, 이는 G protein과 결합하는 중추 카나비노이드 수용체 혹은 cannabinoid 1 receptor(이하 CB1 수용체)라고 명명되었다.<sup>2)</sup> CB1 수용체는 주로 전두엽, 해마, 기저핵, 전측 대상회(anterior cingulate), 소뇌 등에 분포하는데 이는 조현병의 추정 신경회로를 증폭하는 뇌 영역이며 Δ-9-THC는 CB1 수용체의 효능제로 작용한다.<sup>1)</sup> 472개의 아미노산과 7개의 소수성 막관통(transmembrane) 영역으로 구성된 CB1 단백질은 풍부한 Gi/Go-연관 수용체(Gi/Go-coupled receptor)로 해마, 선조체, 대뇌피질과 같은 뇌의 특정 영역에 존재한다. 이러한 영역은 조현병과 연관되어 있고, 물질사용장애와 관련된 보상과 기억 처리에도 중요하다.<sup>9)10)</sup> 선조체의 CB1 수용체가 Gi-연관 D2 수용체

와 같은 뉴런으로 밝혀졌기 때문에, 항정신성 약물의 보상 효과에 중요한 뇌 회로에서 도파민의 조절이 연관되어 있을 가능성이 있다.<sup>4)</sup>

카나비노이드의 주된 효과는 CBI 전 시냅스 활성화를 통하여 도파민, GABA, 글루타메이트와 같은 신경전달물질 방출을 조절하는 것이다. 카나비노이드는 중변연계(mesolimbic system)의 도파민 뉴런의 활성을 유발하고,<sup>11)</sup> 선조체(striatum)에서 도파민 방출을 유발한다.<sup>12)</sup> 또한 해마와 신피질(neocortex)의 CBI 수용체를 활성화시켜 추상세포(pyramidal cell)의 활성을 탈억제(disinhibition)하며 GABA 방출을 감소시키고,<sup>13)</sup> 여러 뇌 영역의 시냅스에서 글루타메이트 방출을 감소시킴으로써 조현병 환자의 양성, 음성, 인지적 증상을 유발한다.<sup>14)</sup>

Cannabinoid receptor 1(이하 *CNR1*) 유전자는 6q14~q15에 위치해 있으며 1992년 Matsuda 등<sup>15)</sup>에 의해 구조가 밝혀졌다. 6q14~q15 부위는 Cao 등<sup>16)</sup>이 2개의 독립적인 가계도를 이용하여 밝혀내어 조현병 유전자좌(locus) 5(SCZ5, OMIM 603175)로 명명한 조현병 감수성 유전자좌인 6q13~q26에 포함된다.<sup>2)</sup> *CNR1* 유전자좌에는 많은 단염기 다형성(single nucleotide polymorphisms)들과 3 prime-untranslated region(이하 3'-UTR)에 위치한 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복(trinucleotide repeats, 이하 TNR), 미소부소체(microsatellite) 등 유전자적 변이가 존재한다.<sup>17)18)</sup>

그 중에서 (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체는 알코올 중독 부모에서 소아기 attention-deficit hyperactivity disorder의 발생과도 연관성이 있다는 보고가 있으며,<sup>19)</sup> 다양한 약물의 사용과 연관되어 있음이 약물 남용과 *CNR1* 유전자 다형성과의 연관성에 대해 미국인을 대상으로 한 Comings 등<sup>20)</sup>의 연구에서 밝혀졌다. 또한 헤로인 남용과 *CNR1* 유전자 다형성과의 연관성을 알아보기 위해 중국인을 대상으로 한 Li 등<sup>21)</sup>의 연구가 있다.

더불어 조현병과 (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체 다형성과의 연관성에 대해 스페인 백인을 대상으로 한 Martínez-Gras 등<sup>4)</sup>의 연구, 일본인을 대상으로 한 Ujike 등<sup>22)</sup>의 연구, 중국인을 대상으로 한 Tsai 등<sup>23)</sup>의 연구, 코스타리카의 Chavarría-Siles 등<sup>24)</sup>의 연구들이 지속되어 왔다.

이러한 선행연구들에 따라 *CNR1* 유전자의 다형성과 조현병 감수성의 관련성을 검증할 필요성이 대두되고 있으나, 한국인을 대상으로 한 연구는 아직 없는 것으로 파악되었다. 이

에 우리는 한국인 조현병 환자군과 대조군을 대상으로 하여 두 군 사이에서 *CNR1* 유전자 다형성 중 하나인 (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체의 분포 차이가 나타나는지 조사해 보았다.

## 방 법

### 연구 대상

연구 대상은 2005년 1월부터 2011년 12월까지 4개 병원(진주정신병원, 순영병원, 하동 우리들병원, 계요병원)에 입원한 환자들 중 정신장애 진단 및 통계편람(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition, 이하 DSM-IV)에 의하여 조현병으로 진단된 337명의 환자들(남자 171명, 여자 166명)과 정상인 대조군 394명(남자 223명, 여자 171명)을 연구 대상으로 하였다(Table 1). 정신지체, 기질적 뇌 질환, 약물 또는 알코올 의존, 신경과적 질환, 자가 면역 질환이 있는 환자는 제외하였다. 정상인 대조군은 한림대학교 한강성심병원과 서울대학교 건강증진센터에 근무하는 건강한 직원들이었고, 정상 대조군들 각각에 대해 현재 진행 중인 정신과적 질환이나 정신과적 질환의 과거력이 있는지 확인하기 위해 정신건강의학과 의사에 의하여 Structured Clinical Interview for the DSM-Non-Patient edition을 이용한 면담을 시행하였으며, 정신과적 질환이 발견된 경우 정상 대조군에서 제외하였다. 이들 대상군은 모두 연구에 동의하였고, 연구계획은 각각의 병원들과 순천향대학교병원 임상실험 윤리위원회의 심의를 통과하였다.

### 시료 혈액에서 Genomic DNA 추출

환자들과 대조군의 혈액을 뽑아 ethylenediaminetetraacetic acid(이하 EDTA)로 바로 처리하여 응고를 방지한 후, 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 buffy coat를 채취하였다. 여기에 용해 완충액(10 mM Tris-HCl, 0.1M EDTA, 0.5% sodium dodecyl sulfate, pH 8.0)을 첨가한 후, 37°C로 1시간 동안 배양하고 proteinase K를 150 µg/mL의 농도로 첨가하여 50°C에서 4시간 동안 반응한 후 genomic DNA를 추출하였다. DNA는 phenol chloroform 방법으로 정제하고 에탄올을 이용하여 침전시킨 후 Tris-EDTA buffer(TE buffer, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 완충액(10 mM Tris-HCl,

**Table 1.** Demographic profile of patients with schizophrenia (SZ) and normal controls (NC)

	SZ	NC	p-value
n	337	394	
Age (year, mean ± SD)	43.99 ± 9.38	54.60 ± 9.28	<0.0001
Sex (M/F)	171 (57%)/166 (43%)	223 (51%)/171 (49%)	0.114

Age analysis was performed using the Student's t-test and gender analysis was performed using the chi-square test

1 mM EDTA, pH 8.0)에 용해하여 4°C에서 보관 사용하였다.

*CNR1* 대립유전자 빈도를 결정하기 위해 게놈 DNA는 표준화된 방법에 따라 채혈된 백혈구를 통해 추출되었다. Polymerase chain reaction 증폭을 위해 형광표지자인 2'-chloro-7'-phenyl-1,4-dichloro-6-carboxyfluorescein으로 표지된 forward primer인 5' GCTGCTTCTGTAAACCCCTGC 3'와 reverse primer 5' TCCCACCTATGAGTGAGAACAT 3'를 사용하였다. PCR 증폭 반응은 ABI 9700 thermal cycler(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하였으며, touch down 조건하에서 증폭을 수행하였다. Touch down 증폭 조건은 다음과 같다. 우선 94°C 10분 반응하여 DNA 가닥을 변성시킨 후, 94°C 30초~65°C 30초~72°C 30초로 5 cycle 증폭시키고 94°C 30초~65°C 30초~72°C 30초를 시작으로 elongation 온도를 0.5°C씩 낮추면서 55°C까지 총 21 cycle 증폭한 후, 94°C 30초~55°C 30초~72°C 30초로 15 cycle 증폭한다. 증폭된 시료는 ABI Prism GeneScan 3.5.1(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 통해 forward primer에 표지된 표지자의 형광 정도를 측정하고, 측정된 data를 Genotyper 3.6 software(Appelied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 repeat의 위치 및 수를 분석하였다.

***CNR1* 유전자의 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복 다형성의 분석**

우리의 대상군에서 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15번의 삼핵산 반복(trinucleotide repetition)이 있는 8개의 대립유전자를 발견하였다. 가장 짧은 대립유전자로 AAT 반복이 7개 있는 것, 가장 긴 대립유전자로 AAT 반복이 15개 있는 것을 확인할 수 있었다.

**통계분석**

통계분석을 위해 Statistical Analysis System(이하 SAS) 프로그램(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하였으며, 유의수준은 p-value 0.05 이하로 하였다. 조현병 환자군

과 정상인 대조군에 대한 *CNR1* 유전자 (AAT)<sub>n</sub>의 삼핵산 반복 대립 유전자형(allele)의 빈도에 대한 판별력과 연관성을 확인하기 위하여 로지스틱 회귀분석(logistic regression analysis)을 실시하였다. 나이와 성별을 공변수로 하여 분석하였고, 이를 통해 교차비(odds ratio)와 95% 신뢰구간 및 상응하는 p-value를 측정하였다.

**결 과**

**연구 대상자의 인구학적 변인**

조현병 환자군의 나이는 평균과 표준편차는 43.99 ± 9.38 세(나이 분포 범위 : 23~76세)이고, 정상인 대조군은 54.60 ± 9.28세(나이 분포 범위 : 28~80세)였다. 조현병 환자군과 정상인 대조군의 비율은 46:54였고, 조현병 환자군(남자 57% vs. 여자 43%)과 정상인 대조군(남자 51% vs. 여자 49%)에서 모두 남성이 여성에 비해 많은 수가 모집되었다.

두 군 간에 나이에서 유의한 차이(p < 0.0001)를 보였으나 본 연구에서 확인하고자 하는 대립 유전자의 빈도는 DNA에 존재하여 나이와의 연관성이 없으므로 연구 결과에 영향을 미치지 않는 것으로 보았다.

**조현병 환자군과 대조군을 비교한 *CNR1* (AAT)<sub>n</sub> 대립유전자의 분포 및 분석**

Table 2에 환자군과 대조군의 대립유전자 빈도 분포를 기술하였다. 대조군에서 가장 빈도가 많은 반복수는 (AAT)<sub>13</sub> 31.6%이고, (AAT)<sub>14</sub> 24.5%, (AAT)<sub>12</sub> 17.2%, (AAT)<sub>7</sub> 11.6% 순이며, 조현병 환자군에서 가장 빈도가 많은 반복수는 (AAT)<sub>13</sub> 33.6%이고, (AAT)<sub>14</sub> 21.6%, (AAT)<sub>12</sub> 18.5%, (AAT)<sub>7</sub> 11.1% 순이다. 총 대립유전자는 8종류였고, (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복수는 7~8번, 10~15번 사이였으며, 가장 흔한 것은 조현병 환자군과 대조군 모두 (AAT)<sub>13</sub>이다(Table 3).

본 연구에서는 한국인에서 *CNR1* 유전자의 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵

**Table 2.** Allele frequencies of AAT-repeat polymorphism in subjects with schizophrenia (SZ) and normal controls (NC)

NOR	Total	SZ	NC	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
7	209 (11.3%)	120 (11.1%)	89 (11.6%)	1.15 (0.83-1.61)	0.41		
8	2 (0.1%)	2 (0.2%)	0 (0.0%)	-	-		
10	140 (7.6%)	77 (7.1%)	63 (8.2%)	1.25 (0.84-1.86)	0.27		
11	75 (4.1%)	44 (4.1%)	31 (4.0%)	0.81 (0.48-1.37)	0.43	0.99	0.83
12	332 (18.0%)	200 (18.5%)	132 (17.2%)	0.99 (0.76-1.31)	0.96	(0.93-1.06)	
13	606 (32.8%)	363 (33.6%)	243 (31.6%)	0.85 (0.97-1.06)	0.14		
14	422 (22.8%)	234 (21.6%)	188 (24.5%)	1.17 (0.91-1.50)	0.22		
15	64 (3.5%)	42 (3.9%)	22 (2.9%)	0.74 (0.41-1.34)	0.32		

Logistic regression analysis was used to calculate the OR (95% CI) controlling for age (continuous value) and gender (male = 0, female = 1). NOR : numbers of (AAT)<sub>n</sub> repeats, CI : confidence interval, OR : odds ratio

**Table 3.** Most common AAT-repeat polymorphism alleles in subjects with schizophrenia (SZ) and normal controls (NC)

NOR	SZ	NC	OR (95% CI)	p
13	363 (33.6%)	243 (31.6%)	1	
14	234 (21.6%)	188 (24.5%)	0.80 (0.60–1.06)	0.12
12	200 (18.5%)	132 (17.2%)	0.94 (0.80–1.10)	0.44
7	120 (11.1%)	89 (11.6%)	0.92 (0.81–1.04)	0.19
10	77 (7.1%)	63 (8.2%)	0.92 (0.83–1.02)	0.13
11	44 (4.1%)	31 (4.0%)	1.02 (0.91–1.40)	0.72
15	42 (3.9%)	22 (2.9%)	1.03 (0.93–1.14)	0.59
8	2 (0.2%)	0 (0.0%)	–	–

Logistic regression analysis was performed to calculate the OR (95% CI) controlling for age (continuous value) and gender (male = 0, female = 1). NOR : numbers of (AAT)n repeats, CI : confidence interval, OR : odds ratio

산 반복수에 대한 대립인자 분포가 조현병 환자와 정상인 대조군 사이에 차이가 있는지를 조사하였으나 유의미한 차이를 나타내지는 않았다(Global p-value = 0.83)(Table 3).

### 고 찰

조현병의 원인에 대한 지난 수 십년간의 연구에도 불구하고 아직 명백하게 주도적인 원인이 밝혀졌다고는 보기 어렵다. 그러한 노력의 일환으로 제시된 ‘카나비노이드 가설’은 대마초 사용자들의 임상적인 증상들로부터 추론되었고, 특히 Δ-9-THC를 건강한 실험군과 조현병 환자들에게 실험적으로 투여한 경우 조현병과 유사한 양성 증상, 음성 증상, 인지기능 장애를 나타낸다는 점에서 지지를 받고 있다.<sup>3)</sup> 또한 Δ-9-THC가 GABA 신경전달계를 억제하고, 도파민 신경전달계를 증가시켜 조현병의 신경생물학과 관련된 중변연계(mesolimbic system), 흑질선조계(nigrostriatal system)를 활성화한다는 보고들<sup>6)</sup>도 카나비노이드와 조현병 발병 관계를 지지하는 증거들이다.

하지만 이러한 약물학적, 생물학적 근거에도 불구하고 CNR1 유전자 혹은 근처 유전자에 나타나는 유전자 다형성이 조현병과 관련이 있는지에 대해서는 상반된 근거들이 존재한다. CNR1 유전자좌에는 많은 단염기 다형성들과 3’-UTR에 있는 (AAT)n 미소부소체 등의 유전자적 변이가 나타나는데, 그 중 특히 조현병과 CNR1 유전자의 (AAT)n 삼핵산 반복 다형성에 대한 선행 연구들에서도 일관된 결과가 제시된 것은 아니다.

지난 20년간 삼핵산 반복(TNR)과 그에 연관된 신경학적 질병들이 널리 연구되었으며, 이러한 DNA 반복 연장은 세포의 복제, 복구, 재조합과 전사의 기전에 영향을 주어 유전자 발현의 정도와 그것이 암호화하고 있는 RNA 또는 단백질을 변형시켜 선택적인 세포 독성을 유발함이 밝혀졌다. 예를 들면 헌팅턴병(Huntington disease)과 척수뇌실조증(spinocerebellar

ataxias)은 (CAG)n, 눈인두근육위축증(oculopharyngeal muscular dystrophy)은 (GCG)n, 근육긴장퇴행위축(myotonic Type 1)은 (CTG)n, 그리고 취약 X 증후군(Fragile X-Associated Tremor Ataxia Syndrome)은 (CGG)n 등 각각의 삼핵산 반복에 의한 질병임이 이미 확인되었다.<sup>25)</sup>

조현병의 경우에도 카나비노이드 가설과 관련하여 CNR1 유전자의 (AAT)n 미소부소체 다형성과 연관성에 대한 기존 연구로 일본인을 대상으로 한 Ujike 등<sup>22)</sup>의 연구, 중국인을 대상으로 한 Tsai 등<sup>23)</sup>의 연구 스페인 백인을 대상으로 한 Martínez-Gras 등<sup>4)</sup>의 연구, 코스타리카의 Chavarria-Siles 등<sup>24)</sup>의 연구 등이 시행되었다.

본 연구에서 한국인에서 나타난 CNR1 유전자의 (AAT)n 미소부소체 다형성의 반복수에 의한 대립인자 분포는 미국 캘리포니아에서 실시된 약물 중독자들에서 나타난 결과<sup>20)</sup>와 유사하게 나타난 점이 있다(Table 4). 본 연구에서 환자군과 대조군 모두에서 (AAT)<sub>13</sub>이 가장 많았고, Comings 등<sup>20)</sup>의 보고에서도 동일하게 (AAT)<sub>13</sub>이 36.4%로 가장 많은 빈도를 보였기 때문이다. Comings 등<sup>20)</sup>에서 대립유전자 반복의 분포는 9번 반복, 12~19번 반복을 보이는 10종류의 대립유전자가 밝혀져 본 연구와는 차이점이 있었으며, 한국인에서는 (AAT)n의 반복수가 7개, 8개, 10개인 microsatellite가 있으나 미국인에서는 없었고, 미국인에서는 반복수가 16개, 17개, 18개, 19개인 microsatellite가 있으나 한국인에서는 없었다. 일본인<sup>22)</sup>과 중국인<sup>21)</sup>의 경우는 (AAT)n의 반복수가 15개인 대립 유전자의 빈도가 가장 많았고, (AAT)n의 반복수가 16개인 대립 유전자의 빈도가 두 번째로 많은 점이 동일했으며 그 외 반복수에 따른 대립 유전자의 빈도 분포도 서로 비슷하여 본 연구에서 조사된 한국인의 분포와는 차이를 보였다(Table 4).

연구들 간의 유전적 다형성 비교에서 본 연구의 한국인은 아시아계(일본인<sup>22)</sup>과 중국인<sup>21)</sup>의 분포와는 차이를 보였고, 오히려 스페인<sup>4)</sup>의 분포와 유사하다는 특이점에 대해서는 더 연구해 보아야 할 부분으로 생각된다(Table 4).

**Table 4.** Allele frequencies of the polymorphisms in subjects with a history of drug abuse, subjects with SZ, and NC. Comparison of 4 studies

Group (%)	Numbers of AAT repeats												
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Korean													
SZ (n = 337)	11.1	0.2		7.1	4.1	18.5	33.6	21.6	3.9				
NC (n = 394)	12	0		8.2	4	17.2	31.6	24.5	2.9				
Comings <sup>20)</sup>													
ATU (n = 92)			2.7			0	31.7	4.8	10.8	25.3	22	2.2	0.5
NC (n = 114)			2.6			0.9	36.4	3.5	11.8	18.4	25	1.3	0
Chinese <sup>21)</sup>													
HA (n = 750)			10.3			6.4	3.3	14.5	41.1	20.4	3.9	0	0.1
NC (n = 396)			10.1			5.3	4.8	13.6	40.4	22.2	3.3	0.3	0
Japanese <sup>22)</sup>													
SZ (A) (n = 242)			9.9*	0.4		5.8	0.4	18.6	33.9	27.7	3.3*	0	
SZ (H) (n = 128)			10.9*	0		7	0.8	21.1	35.9	22.7	1.6*	0	
SZ (P) (n = 110)			9.1	0		3.6		15.5	31.8	34.5	5.5	0	
NC (n = 296)			5.1	0		5.7	1.4	16.9	34.8	28.7	7.1	0.3	
Spanish <sup>4)</sup>													
SZ (n = 113)	2.7		0.9	23.5*	3.1	18.6	25.2	24.8	1.3				
NC (n = 111)	1.8		0.9	32.9*	2.7	14.4	18	27	2.3				

Data are expressed as a percentage (%). \* : p < 0.05. SZ : schizophrenia, NC : normal control, ATU : addiction treatment unit, HA : heroin abuse, SZ (A) : all SZ, SZ (H) : hebephrenic type SZ, SZ (P) : paranoid type SZ

본 연구에서는 한국인에서 *CNR1* 유전자의 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복수에 대한 대립인자 분포가 조현병 환자와 대조군 사이에 차이가 있는지를 조사하였으나 유의미한 차이를 나타내지는 않았다(Global p-value = 0.83). 이는 기존의 연구들<sup>4)22-24)</sup>과 일치되는 부분으로 위 삼핵산 반복이 조현병의 발병에 영향을 주지는 않는다는 것을 의미하지만, 카나비노이드 가설 자체를 부인한다고 볼 수는 없을 것이다. 왜냐하면 위 삼핵산 반복이 CB1 수용체의 기능에 큰 변화를 초래한다는 분자생물학적인 근거는 아직 없으며, 삼핵산 반복이 병의 결정적인 요인으로 입증된 경우들<sup>25)</sup>과 다를 수 있기 때문이다.

선행 연구들 중 전체 조현병 군과는 연관성이 나타나지 않았으나 조현병의 파과형과 연관이 있다는 결과가 나타난 두 연구<sup>22)24)</sup>를 자세히 살펴볼 필요가 있다. Ujike 등<sup>22)</sup>의 연구에서는, DSM-IV의 진단기준 대신 International Classification of Diseases(이하 ICD)-10 분류상 진단기준으로 진단된 파과형(hebephrenic type) 조현병을 대상으로 유의미한 통계적 의미를 보고하였다. Ujike 등<sup>22)</sup>이 그들의 연구에서 사용한 ICD-10에 의하면, “파과형 조현병은 두드러진 음성 증상, 예를 들면 정동 둔마, 지리멸렬한 사고, 인격의 황폐화 등으로 특징된다”고 한다. ‘인격의 황폐화’는 ICD-10 분류에서 특별히 설명되지는 않았지만 아마도 두드러진 음성 증상과 와해된 행동 및 의사소통기술을 가진 사람이라는 맥락으로 표현되어 이를 파과형 조현병이라는 것을 의미한다고 볼 수 있다. 이 연

구에서 조현병의 파과형군은 *CNR1* 유전자와 강한 연관관계를 보였는데, (AAT)<sub>n</sub>의 반복수가 9개인 allele은 파과형 조현병의 위험인자였으며, 17개인 allele은 강한 역위험인자로, 파과형 조현병의 감수성에 대해 방어적인 요소였다. 이 연구는 (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체의 다형성이 조현병 전체와는 유의미한 연합이 나타나지 않았지만, 조현병의 파과형 아형에서 편집형 아형과 다르게 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복 다형성과 유의한 연관성을 나타냈다는 결과를 처음 보고한 것이다. (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체는 *CNR1* 암호 영역의 16 kb 가량의 아래 부위에 위치한다. 만약 이 반복 다형성이 *CNR1* 유전자의 전사 효능 증가요소(enhancer)로 작용을 한다면, 이 연구는 조현병의 카나비노이드 가설에 매우 의미 있는 결과를 나타낸다. 그렇지 않다면, 이 연구 결과는 *CNR1* 유전자의 (AAT)<sub>n</sub> 미소부소체와 가까운 위치에 있는 다른 유전자와 조현병이 연관이 있음을 나타낸다. 조현병의 카나비노이드 가설에 대한 연구의 중요성을 확실하게 하기 위하여 *CNR1* 유전자의 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복수의 특정한 숫자를 포함한 대립 유전자와 *CNR1* 유전자의 전사율과의 관계가 향후 연구되어야 할 것이다.<sup>22)</sup>

그런데 코스타리카에서 실시된 Chavarría-Siles 등<sup>24)</sup>의 연구에서는 DSM-IV의 진단기준으로 내려진 조현병 혹은 파과형 조현병과 *CNR1*의 (AAT)<sub>n</sub> 삼핵산 반복수 사이에 유의미한 통계적인 증거는 나타나지 않았다. 대신 환자의 생애 특성에 관한 프로파일들, 즉 양성 증상, Schneiderian 증상, 우울,

조증, 음성 증상, 와해된 증상 등 각각의 증상군의 차원을 후향적 평가에 근거하여 종합하는 수치에 의한 lifetime dimensions of psychosis(이하 LDPS) 점수상 LDPS-파괴형 특성을 보인 군은 CNR1 유전자의 (AAT)n 반복 다형성과 눈에 띄는 연관성이 있었다(multi-allelic p-value = 0.0282). 독립적으로 allele 8은 이 특징과 연관이 있는 양성 증거를 보여주었고(bi-allelic p-value = 0.0100, Z = 2.573) allele 4는 이 특징과 음성 연관이 있는 경향을 보여주었다(bi-allelic p-value = 0.0606, Z = 1.876).<sup>24)</sup>

단, 이들의 연구에서 allele 8이나 4가 어떤 반복수를 가진 allele인지 밝히지 않고 있어 저자들의 연구나 기타 다른 연구들과의 비교는 어려운 아쉬움이 있고, LDPS 점수상 파괴형 특성을 보인 군을 새로 설정했다는 점이 해석상의 주의를 요한다. 이러한 2가지 선행 연구<sup>22)24)</sup> 외에는 조현병 자체와 (AAT)n 삼핵산 반복 다형성에 대한 연구가 유의미한 결과를 보인 연구는 현재까지 없다.

본 연구의 제한점은 첫째로 비교적 크지 않은 환자와 대조군의 샘플 크기로 인해 통계학적인 제한점이 있을 수 있다는 점이다.

둘째로는 연구 대상을 선정하면서 조현병 진단시 아형 구분을 하지 않았기에 상기 연구들과의 연관성을 살펴보지 못하였다. 하지만 최근 개정된 DSM-5에서 조현병의 아형 구분이 진단기준상 사라진 변화를 보면 파괴형 아형이 생물학적인 근거가 타당하고 향후 중요한 아형군으로 분류될 수 없다는 의미로 파악된다. 최근 조현병이 분명 이형적(heterogenous) 증상군이라는 시각이 존재하는데, 향후 아형을 나눈다면 생물학적인 근거가 명확한 개념에 의해 분류될 가능성도 있을 것이다.

결론적으로 본 연구에서는 한국인에서 CNR1 유전자의 (AAT)n 삼핵산 반복수에 대한 대립인자 분포가 조현병 환자와 대조군 사이에 차이가 있는지를 조사하였으나 유의미한 차이를 나타내지는 않았다(Global p-value = 0.83). 이는 기존의 연구들<sup>4)22-24)</sup>과 일치되는 부분으로 (AAT)n 삼핵산 반복이 조현병의 발병에 영향을 주지는 않는다는 것을 의미하지만, 카나비노이드 가설 자체를 부인한다고 볼 수는 없을 것이다. 조현병의 카나비노이드 가설에 대한 연구의 중요성을 확실히 하기 위하여, CNR1 유전자의 (AAT)n 삼핵산 반복수의 특정한 숫자를 포함한 대립유전자와 CNR1 유전자의 전사율과의 관계가 향후 연구되어야 할 것이다.

저자들의 연구는 국내에서는 처음으로 조현병 자체와 (AAT)n 삼핵산 반복 다형성에 대한 조사를 시행한 것으로, 조현병과 CNR1 다형성과의 연합을 발견하지는 못하였다. 파괴형 등의 아형구분에 대한 조사를 실시하지 않았다는 제한점이 있으나

향후의 카나비노이드 가설의 검증과 (AAT)n 삼핵산 반복 다형성에 대한 연구에 유용한 자료가 될 것으로 기대한다.

**중심 단어:** 조현병 · Cannabinoid receptor 1 유전자 · AAT 반복 다형성.

**Acknowledgments**

본 논문은 보건복지부와 보건산업진흥원의 연구비(A101023) 지원에 의하여 이루어졌음.

**Conflicts of interest**

The authors have no financial conflicts of interest.

**REFERENCES**

- 1) Karayiorgou M, Gogos JA. A turning point in schizophrenia genetics. *Neuron* 1997;19:967-979.
- 2) Ujike H, Morita Y. New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: cannabinoid receptors and schizophrenia. *J Pharmacol Sci* 2004;96:376-381.
- 3) Sewell RA, Ranganathan M, D'Souza DC. Cannabinoids and psychosis. *Int Rev Psychiatry* 2009;21:152-162.
- 4) Martínez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodríguez-Jiménez R, Jiménez-Arriero MA, Pérez-Hernández E, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene, CNR1: association with schizophrenia in a Spanish population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2006; 256:437-441.
- 5) Liskow B. Marihuana deterioration. *JAMA* 1970;214:1709.
- 6) Henquet C, Rosa A, Krabbendam L, Papiol S, Fanañas L, Drukker M, et al. An experimental study of catechol-o-methyltransferase Val158Met moderation of delta-9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31:2748-2757.
- 7) Henquet C, Di Forti M, Morrison P, Kuepper R, Murray RM. Gene-environment interplay between cannabis and psychosis. *Schizophr Bull* 2008;34:1111-1121.
- 8) Ranganathan M, D'Souza DC. The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. *Psychopharmacology (Berl)* 2006;188: 425-444.
- 9) Gardner EL. Cannabinoid interaction with brain reward systems. The neurobiological basis of cannabinoid abuse. In: Murphy L, Bartke A, editors. *Marijuana/Cannabinoids: Neurobiology and Neurophysiology*. Boca Raton, FL: CRC Press;1992. p.275-335.
- 10) Pazos MR, Núñez E, Benito C, Tolón RM, Romero J. Functional neuroanatomy of the endocannabinoid system. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;81:239-247.
- 11) Gardner EL. Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;81:263-284.
- 12) Bossong MG, van Berckel BN, Boellaard R, Zuurman L, Schuit RC, Windhorst AD, et al. Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:759-766.
- 13) Eggan SM, Lewis DA. Immunocytochemical distribution of the cannabinoid CB1 receptor in the primate neocortex: a regional and laminar analysis. *Cereb Cortex* 2007;17:175-191.
- 14) Auclair N, Otani S, Soubrie P, Crepel F. Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 2000;83:3287-3293.
- 15) Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561-564.
- 16) Cao Q, Martinez M, Zhang J, Sanders AR, Badner JA, Cravchik A,

- et al. Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics* 1997;43:1-8.
- 17) **Gadzicki D, Müller-Vahl K, Stuhmann M.** A frequent polymorphism in the coding exon of the human cannabinoid receptor (CNR1) gene. *Mol Cell Probes* 1999;13:321-323.
  - 18) **Dawson E.** Identification of a polymorphic triplet repeat marker for the brain cannabinoid receptor gene: use in linkage and association studies. *Psychiat Genet* 1995;5:S50.
  - 19) **Ponce G, Hoenicke J, Rubio G, Ampuero I, Jiménez-Arriero MA, Rodríguez-Jiménez R, et al.** Association between cannabinoid receptor gene (CNR1) and childhood attention deficit/hyperactivity disorder in Spanish male alcoholic patients. *Mol Psychiatry* 2003;8:466-467.
  - 20) **Comings DE, Muhleman D, Gade R, Johnson P, Verde R, Saucier G, et al.** Cannabinoid receptor gene (CNR1): association with i.v. drug use. *Mol Psychiatry* 1997;2:161-168.
  - 21) **Li T, Liu X, Zhu ZH, Zhao J, Hu X, Ball DM, et al.** No association between (AAT)<sub>n</sub> repeats in the cannabinoid receptor gene (CNR1) and heroin abuse in a Chinese population. *Mol Psychiatry* 2000;5:128-130.
  - 22) **Ujike H, Takaki M, Nakata K, Tanaka Y, Takeda T, Kodama M, et al.** CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2002;7:515-518.
  - 23) **Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ.** Association study of a cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism and schizophrenia. *Psychiatr Genet* 2000;10:149-151.
  - 24) **Chavarría-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, Wals-Bass C, Quezada P, Dassori A, et al.** Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008;147:279-284.
  - 25) **Almeida B, Fernandes S, Abreu IA, Macedo-Ribeiro S.** Trinucleotide repeats: a structural perspective. *Front Neurol* 2013;4:1-24.