

신경질환의 원인유전자 발견



김종원
성균관대 삼성서울병원 진단검사의학과
E-mail:kimjw@skku.edu

1. 서론

신경질환의 원인유전자를 발견하는 것은 여러 가지 어려움이 따른다. 신경조직세포의 배양이나, 획득이 매우 어렵고, 동물 모델의 획득도 쉬운 일은 아니기 때문이다. 그럼에도 사람 신경조직에서 2,000개 이상 유전자가 발현을 하는 것으로 알려져 있으므로 아직도 많은 원인유전자와 질환의 관계가 밝혀져야 할 분야이다.

현재까지 원인유전자가 분리된 대부분의 신경 질환이 환자의 검체를 이용하여 분리가 된 것은 상대적으로 신경질환에서 환자의 검체를 이용한 유전적 분석이 효과적이라는 증거이다.

2. 환자를 이용한 원인유전자 분석 (Association analysis vs Linkage analysis)

환자와 환자 가족들을 대상으로 한 유전 분석은 관련분석(association analysis)와 연관분석(linkage analysis)이 있다. 국내에서 두 분석에 대한 번역용어가 현재 통일되어 있지 않고, association과 linkage 단어의 번역에 혼란이 있는 것이 현재의 사정이다. 필자는 이 자리를 빌어 association은 관련, linkage는 연관으로 통일할 것을 제안하는 바이다.

관련분석은 특정 대립유전자(allele)의 발생빈도와 질환의 관련성을 환자군과 대조군으로 나누어 빈도를 비교하는 방법이고, 연관분석은 한 가족 내에서 특정 유전자(locus)와 표현형의 유전 상태의 연관성을 분석하는 것이다.

연관분석은 1981년 David Bostein 이 연관분석이 사람에게서 가능하다는 것을 실험적으로 증명할 이래, James Gusella 가 1983년 Huntington Disease의 원인 유전자가 4번 염색체에 있다는 것을 연관분석을 통해 증명하면서 연관분석은 광범위하게 사용되기 시작하였다.¹ 그 이후 원인유전자가 규명된 대부분의 유전 질환 특히 신경유전질환에서 사용된 분석방법이 연관분석이라는 것은 이 방법이 원인유전자를 규명하는 데, 매우 효과적이라는 것을 보여주는 증거이며, 현재도 꾸준히 연관분석을 통한 새로운 원인유전자 분리가 보고되고 있다.

이 두 가지 방법은 상호 보완적인 측면을 보이는 데, 원인 유전자의 유전적 영향과 원인 대립유전자의 빈도에 따라서 관련분석과 연관분석의 상호 작용을 검토해볼 수 있다. (Fig 1.) 만약 원인 대립유전자의 빈도가 높고, 유전자가 질환에 미치는 효과도 크다면 관련분석이 유리하고, 원인 대립유전자의 빈도가 낮으나, 유전자가 질환에 미치는 효과가 크다면, 연관분석이 유리하다.²

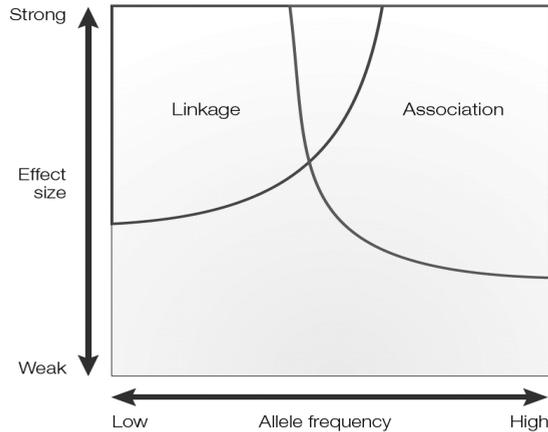


그림 1. 유전좌의 성격에 따른 관련분석과 연관분석의 비교)

신경질환에서도 이 두 가지 방법을 모두 사용하게 되는데, 신경유전 질환의 성격에 따라 분석방법을 선택적으로 정할 수 있다.

특정유전 질환에서 유전적 이질성(genetic heterogeneity)을 생각해볼 수 있는데, 유전적 이질성은 하나 이상의 원인 유전자가 관련하는 유전좌 이질성 (locus heterogeneity)와 한 유전자 내에서 원인 대립유전자가 다양한 대립유전자 이질성 (allelic heterogeneity)가 있다. 이중 allelic heterogeneity가 큰 경우, 즉, 질병의 원인유전자에서 돌연변이가 다양한 경우, 관련분석은 원인유전자를 찾기 어려워진다. 그러므로 최근에 많은 연구가 진행되고 있는 전장 관련분석 (genome wide association study)이 질병의 원인유전자 발견에 중요한 기여를 하고 있는 것도 사실이지만, 이 방법이 모든 유전자를 찾아 줄 것으로 기대하는 것도 곤란하다.

유전좌 이질성이 크고, 해당 유전좌 돌연변이의 유전 효과가 크다면, 이때는 연관분석이 매우 효과적일 수 있다.

3. 유전적 분석 과정

특정 질환이 유전적 원인을 가지고 있다는 것을 의심하는 단계부터 원인유전자의 돌연변이를 발견하는 과정은 다음과 같은 단계를 거친다.

1) 재발 위험도 평가

가족내의 발병빈도가 일반 인구집단보다 높은가?

2) 유전 상속도(heritability)

표현형이 유전하는 효과가 확인되는가?

3) 분리분석 (segregation analysis)

유전 양상이 특정 유전 양상으로 나타나는가? 상염색체 열성/우성 등으로 나타나는가?

4) 연관분석

한 가족 내에서 유전자가 표현형과 같이 유전하는가?

5) 연관불균형 및 관련분석(linkage disequilibrium and association analysis)

특정 대립유전자가 질병의 발생과 관련이 있는가?

정신과 질환을 포함한 신경계를 침범하는 질환에서 유전적 분석과정에 대한 검토는 필요하다. 다만 이미 많은 질환에서 원인유전자를 아직 발견하지는 못하였어도, 1, 2단계에 대한 기본 연구들이 많이 되어 있으므로 대개 3단계 이후부터 연구를 하게 된다.

이들 각 단계에 대한 상세한 설명은 이 글의 범위를 벗어 나므로 생략하기로 한다.

4. 연관분석의 원리

특정 염색체에서 두 개 유전좌(locus) 사이가 매우 가깝다면 마치 같은 단위로 같이 후대에 유전될 가능성이 높을 것이다. 이때 연관은 유전자가 놓여 있는 위치, 즉 유전좌 (locus)에 대한 물리적 위치가 가깝다는 뜻이며, 그 유전자가 있는 내용물 즉, 대립유전자(allele)는 아니다. 그러므로 연관 분석은 환자와 가족을 대상으로 하며, 연관된 유전좌 안에 대한 대립유전자의 종류에는 상관이 없다.

개체는 감수분열 (meiosis)에서 교차 (cross over)가 일어난다. 교차가 일어나서 재조합 (recombination)이 일어난 대상물은 다음 세대 개체에 전달이 된다. 두 유전자 사이에 유전자 재조합이 일어나는 확률은 유전 거리 (genetic distance)에 비례하지는 않는다. 유전적 거리는 재조합 비율로부터 계산할 수 있는데, 이에 대한 인간의 두 유전자 사이에 유전적 거리 (genetic distance)와 물리적 거리 (physical distance)는 차이가 난다. 유전적 거리의 단위는 centi Morgan을 사용하는데, 1 cM은 1%의 재조합이 일어나는 유전적 거리를 의미한다. 이는 감수분열의 사례를 분석하여 거리를 정한다. 물리적 거리는 핵산의 염기서열의 수를 의미하는데, 유전적 거리와 물리적 거리는 항상 일치하지 않는다.

유전적 거리와 물리적 거리의 비율을 분석해보면, 남자와 여자에 따라, 염색체의 종류와 각 염색체 내에서도 위치에 따라 달라진다. 일반적으로 1 megabase pair는 1 cM으로 간주하지만, 22번 염색체에서는 1 megabase pair가 거의 2 cM으로 까지 변한다. 인간 유전체 사업의 첫 단계의 성과가 유전자 전체의 유전적 거리의 지도 작성을 완성하는 것이었다. 이것의 목적은 인간 염색체 전체에 걸친 연관분석의 정확성을 높이기 위한 것이었다.³

5. 연관분석을 이용한 돌연변이 발견: 가족성 알츠하이머 병의 돌연변이 발견사례

알츠하이머병 치매 중 일부는(약 5%이내의 환자) 단일유전자의 결함으로 발생한다. 현재까지 알려진 단일유전자에 의한 가족성 알츠하이머 병의 원인 유전자는 PS-1, PS-2, APP, ApoE 유전자이다.

그림 2는 36세에 알츠하이머병 치매로 진단된 한국인 환자의 가계도이다.⁴ 알츠하이머병 치매는 다인자 질환이지만 그림 2와

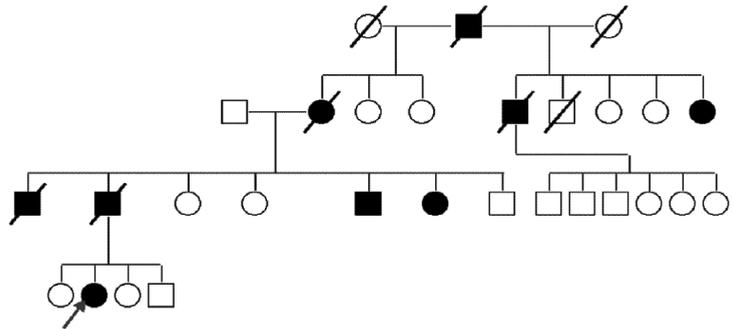


그림 2. 알츠하이머병 환자의 가계도

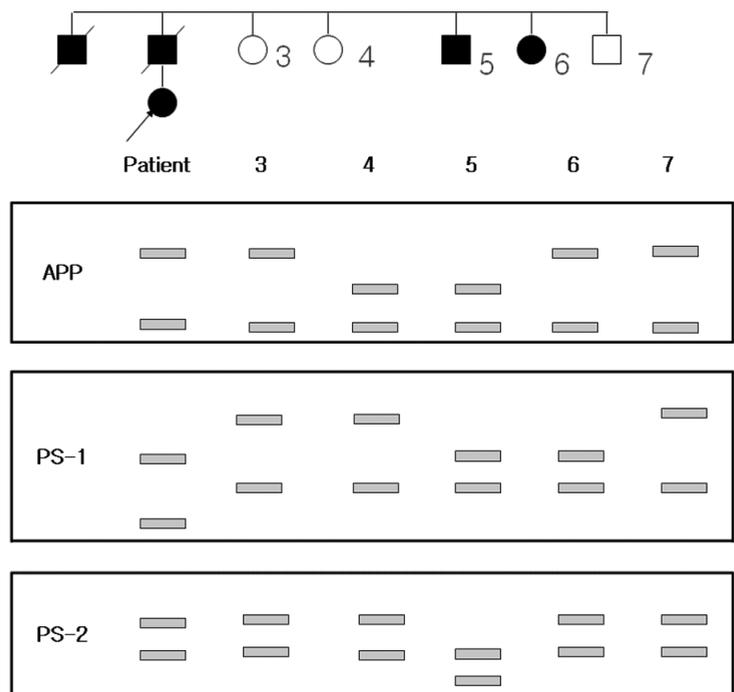


그림 3. 가족성 알츠하이머 병 유전자 APP, PS-1, PS-2 유전자의 linked marker의 gel band의 모식도. 위 그림 2의 가계에서 대상자에 대해 linked microsatellite marker를 분석한 결과이다.

같은 가계도가 확인될 경우에는 매 세대마다 환자가 있고, 전체 가계 구성원중 환자들이 남남이 같이 환자로 나타나고, 매 세대의 환자가 약 반수 정도되므로 전형적인 상염색체 우성으로 진단할 수 있다. 그러므로 이 경우에는 알츠하이머병 치매 환자라도 단일 유전자에 의한 질환에 준한 연관분석과 결합유전자의 돌연변이 분석을 수행할 수 있다. 그림 3과 같이 환자와 5, 6이 이환된 환자의 결과이며, 상염색체 우성으로 유전하는 결과를 감안할 때, PS-1 유전자의 linked marker가 환자로 발현하는 상태와 일치한다. 이 환자 가계는 PS-1 유전자에서 His163Arg 돌연변이가 발견되었다. 이와 같이 복합질환에서 원인유전자가 여러 개 이고, 대가계의 검체가 확보될 수 있다면, 연관 분석을 통해 원인유전자를 먼저 좁히고, 해당 유전자에 대한 돌연변이 분석을 수행하면 유용한 결과를 얻을 수 있다.

6. 연관분석의 계산

연관분석은 두 개 유전자 사이가 아무 연관이 없다면, 재조합이 일어날 확률은 일어나거나 일어나지 않을 사건의 확률이 같을 것이다. 그러므로 0.5이다. 만약 두 개 유전자 사이가 가깝다면, 재조합이 일어날 확률은 0.5보다 낮아질 것이다. 그림 4에서 A,a는 질환유전자의 상태 (A는 정상, a는 환자)를 나타내고, B,b는 질환유전자 근처의 표지자의 유전형이다. 이 가계도에서는 a 상태 즉 질환이 있는 상태에서는 표지자의 유전형이 b 이다. 그리고, A로 표현되는 정상 상태의 표지자 유전형은 B이다. 그런데 질환유전자와 표지자 사이에 재조합이 일어나면, a 상태에서 표지자가 B 유전형으로 나타나고, A 상태에서 표지자가 b 유전형으로 나타난다. 질환유전자와 표지자 사이에 거리가 가까울수록 환자 가계내에서 ab나 AB 조합이 많아지고, aB, Ab의 조합은 적어질 것이다. 이를 계산하면, 질환유전자와 표지자 사이에 거리를 알 수 있고, 즉 질환 유전자의 존재 유무를 파악할 수 있을 것이다. 이를 독립일 확률 대비, 실제 관찰된 가계내의 확률로 표현하게 되는 되는데, 이 단위를 LOD(logarithm of odd ratio)로 표현하게 된다. 일반적으로 LOD 점수가 3이상

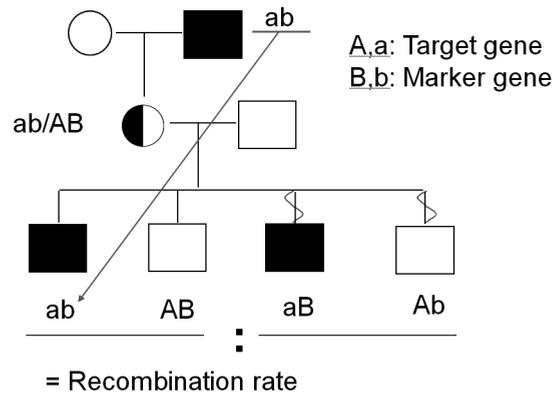


그림 4. X 염색체 연관 유전 가계도

이면, 연관이 확실(definite)하다고 하고, 점수가 2에서 3이면, 연관이 의심(suggestive)된다고 하며, 0이면 중립, -2 이하이면 확실하게 연관이 일어나지 않았다고 평가한다.

7. 연관분석을 통한 새로운 질환의 발견: CMTX5의 사례

필자의 유전 클리닉으로 방문한 환자의 병력 청취상, 환자는 출생 시부터 난청 (prelingual deafness) 와 10살 이후로 진행되는 시력 손상, 진행성 말초 신경병증이 있었다. 이 환자의 가계도는 그림 5와 같다.

가계도의 분석에서 이 환자는 모두 남자이고, 모계를 통해 연결되어 있으므로, 전형적인 성염색체 열성 유전을 보이는 환자 가계이다. 환자 가계에서 X 염색체 유전양상을 보이므로, 연관 분석은 성염색체 표지자만 이용하면 된다. 연관분석의 1차 표지자 사용 결과 최대 LOD 점수는 2.4가 나왔고, fine mapping을 통한 유전자 분석 결과 최대 LOD 점수는 4.9가 나왔다. 그리고, 성염색체의 Xq21.3 지역에 유전자가 존재함을 확인하였다. 이는 이전까지 이 영역에 비슷한 질환의 유전자가 존재하지 않음을 확인하였고, 이 질환을 유전성 말초신경병증에서 새로운 아형인 CMTX5 (Charcot-Marie-Tooth Disease X type 5)로

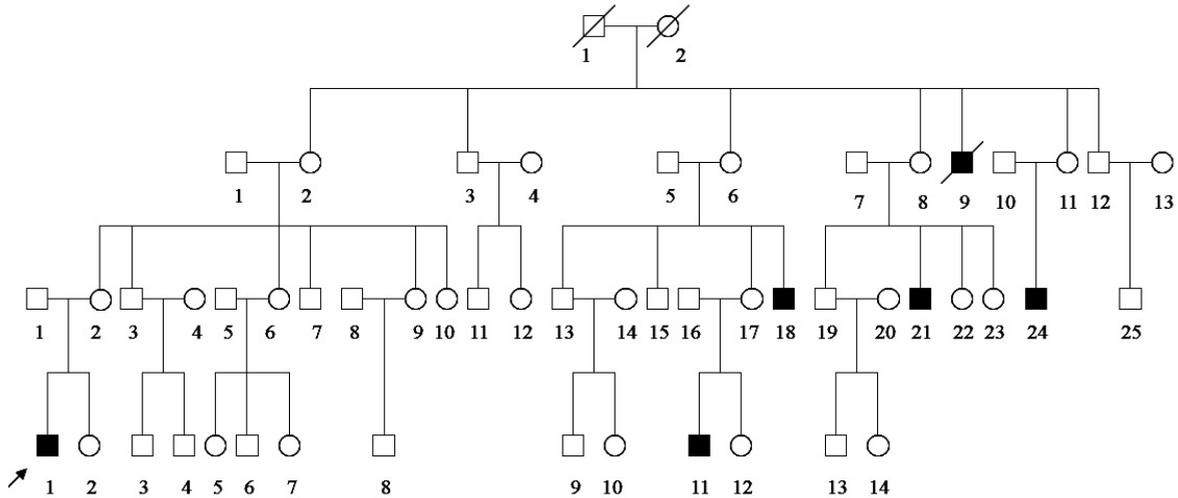


그림 5. 난청, 시력손상, 말초 신경병증 환자의 가계도

명명하였다.⁵

원인유전자의 발견은 Xq21.3 지역의 후보유전자를 선택하여 후보 유전자의 염기서열 분석결과 PRPS1 유전자에서 Met115Thr 돌연변이를 발견하여 원인유전자가 PRPS1임을 확인하였다.⁶ PRPS1 (Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase 1)은 핵산의 합성 단계에서 ribose 5 phosphate를 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate로 만드는 데 기여하는 효소이다. 이 효소의 돌연변이가 신경계에 선택적으로 증상을 일으키는 지에 대해서는 아직까지 알려진 바가 없다.

유전성 말초신경병 (hereditary peripheral neuropathy; Charcot-Marie-Tooth Disease)는 말초신경에 주로 장애를 초래하는 유전성 질환을 말한다. 이 질환에서 원인유전자를 밝히는 것은 현재 연관분석을 통해서 이루어지고 있다. 본 연구와 같이 여러 유전자에 의한 복합질환이라고 하더라도, 개별 유전자 단독으로 단일 유전자 질환을 초래한다면, 한 가계를 대상으로 원인유전자 분석을 할 수 있다는 것을 보여주는 사례가 된다. 여러 가계보다 하나의 대가계가 연관분석에서는 유리하다.

8. 연관분석을 통한 복합질환의 원인유전자 분석

우울증이나, 정신분열병 등은 단일 유전자의 작용에 의하기 보다는 여러 유전자와 환경의 복합적인 상호 작용에 의해 질환이 발생하는 것으로 추정되고 있다. 이 경우에 전체적인 연구 대상 가족들의 유전양상도 일정하지 않지만, 개별 가족들의 유전 양상도 멘델 유전방식을 따르지 않는다. 그러므로 유전양상에 대한 사전 정의를 하기 어려우므로 비모수분석 (nonparametric analysis)에 의한, 즉 모형에 독립적인 (model free) 방법을 사용하게 된다. 비모수 분석방법은 유전양상을 미리 정해서 분석하는 모수 분석방법보다 분석력은 떨어지지만, 유전양상을 미리 정의하지 않으므로, 복합질환에서는 분석에 유리하다. 이 경우에는 LOD 점수와 유사한 NPL 점수를 사용한다.

최근에는 이에 대한 원인 분석을 SNP를 이용하여 적용할 수 있다. SNP를 이용하는 것은 microsatellite를 이용하는 것보다 단시간 내에 자동화된 장비를 이용하여 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 필자의 실험실에서는 SNP를 이용한 한국인 정신분열병 환자의 연관분석에서 정신분열병의 원인

유전자들이 2번 염색체 2q24.3 지역과 6번 염색체 6p27, 3번 염색체 3p24, 18번 염색체 18q22.3 에 존재할 가능성을 제시하였다.⁷

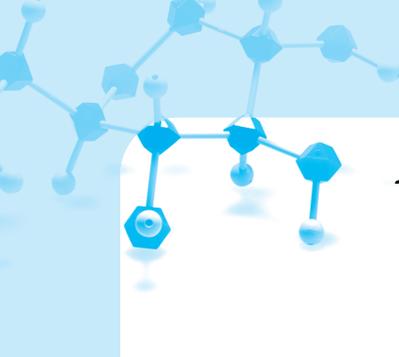
9. 연관분석, 관련분석, 그리고 미래

개별 유전자의 영향이 크지 않다면, 복합질환에서 원인유전자를 찾을 가능성은 매우 작으나, 만약 대립유전자 이질성 (allelic heterogeneity)가 크다면, 연관분석이 원인유전자를 찾을 가능성이 크다. 1980년 말에 이미 연관분석을 통한 복합질환의 원인유전자 분석의 한계를 예측하는 의견들이 제시되었고, 관련분석이 그 대안이 될 것으로 기대가 되었다.⁸ 그러나, 전장 관련분석 (genome-wide association study)가 처음 기대에 못 미치는 결과를 보여주는 것은 관련분석도 복합유전질환에서 한계점을 가지고 있다는 것을 암시한다.

한국의 상황에 연관분석과 관련분석을 적용해보면, 현재 국내에서 의의는 구미와는 달라진다. 전술한 바와 같이 1980년 후반부터 시작된 연관분석은 많은 질환에서 원인유전자 발견에 기여했다. 국내에서는 현재 CMTX5 한 질환뿐이다. 그렇지만 2009년 9월 현재 질환과 관련이 되어 규명이 된 유전자는 아직도 3000개가 되지 않는다. 사람의 유전자를 약 30000 여 개 정도로 추산하면, 아직도 10%정도만이 질환과 관련한 의의를 밝혀내고 있다. 아직도 많은 유전자들이 질병과 관련성이 정확하게 규명되지 않은 상태이므로, 이들을 연관분석을 통해 새로운 질환이나 유전자를 찾아 낼 가능성은 매우 높을 것으로 생각된다.

【참고문헌】

- Gusella, J. F.; Wexler, N. S.; Conneally, P. M.; Naylor, S. L.; Anderson, M. A.; Tanzi, R. E.; Watkins, P. C.; Ottina, K.; Wallace, M. R.; Sakaguchi, A. Y.; Young, A. B.; Shoulson, I.; Bonilla, E.; Martin, J. B. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature* 306: 234-238, 1983.
- Ardlie KG, Kruglyak L, Seielstad M. Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet.* 2002 Apr;3(4):299-309.
- Murray JC, Buetow KH, Weber JL, Ludwigsen S, Scherpbier-Heddema T, Manion F, Quillen J, Sheffield VC, Sunden S, Duyk GM, et al. A comprehensive human linkage map with centimorgan density. Cooperative Human Linkage Center (CHLC). *Science.* 1994 Sep 30;265(5181):2049-54.
- Kyung Sue Hong, S. Peter Kim, Duk Lyul Na, Jae Gyenong Kim, Yeon-Lim Suh, Sang Eun Kim, Jong-Won Kim. Clinical and genetic analysis of a pedigree of a 36-year-old familial Alzheimer's disease patient. *Biol Psychiatr.* 42(12):1172-1176, 1997.
- Kim, H.-J.; Hong, S. H.; Ki, C.-S.; Kim, B.-J.; Shim, J.-S.; Cho, S.-H.; Park, J.-H.; Kim, J.-W. A novel locus for X-linked recessive CMT with deafness and optic neuropathy maps to Xq21.32-q24. *Neurology* 64: 1964-1967, 2005.
- Kim, H.-J.; Sohn, K.-M.; Shy, M. E.; Krajewski, K. M.; Hwang, M.; Park, J.-H.; Jang, S.-Y.; Won, H.-H.; Choi, B.-O.; Hong, S. H.; Kim, B.-J.; Suh, Y.-L.; Ki, C.-S.; Lee, S.-Y.; Kim, S.-H.; Kim, J.-W. Mutations in PRPS1, which encodes the phosphoribosyl pyrophosphate synthetase enzyme critical for nucleotide biosynthesis, cause hereditary peripheral neuropathy with hearing loss and optic neuropathy (CMT5X). *Am. J. Hum. Genet.* 81: 552-558, 2007
- Hong KS, Won HH, Cho EY, Jeun HO, Cho SS, Lee YS, Park DY, Jang YL, Choi KS, Lee D, Kim MJ, Kim S, Han WS, Kim JW. Genome-widely significant evidence of linkage of schizophrenia to chromosomes 2p24.3 and 6q27 in an SNP-Based analysis of Korean families. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2009 Jul 5;150B(5):647-52.
- Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science.* 1996 Sep 13;273(5281):1516-7.



저 | 자 | 약 | 력

김종원

1988-1990	서울대학교 진단검사의학과, 석사
1989-1991	서강대학교 정보처리학, 석사
1991-1993	서울대학교 진단검사의학과, 박사
1992-1993	충북대학교 의과대학, 조교수
1992-1994	신시내티의대 Dept of Human Genetics, Post-Doc
1997-2000	성균관대학교 의과대학, 조교수
2000-2006	성균관대학교 의과대학, 부교수
2006-현재	성균관대학교 의과대학, 교수
2008-현재	삼성서울병원진단검사의학과, 과장
2009-현재	삼성생명과학연구소 유전체연구센터, 센터장