



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2016년도 2월
석사학위논문

고령 한국인 코호트 기반
알츠하이머성 치매 연관
유전자변이 분석 연구

조선대학교 대학원

생명과학과

김 나 현

고령 한국인 코호트 기반
알츠하이머성 치매 연관
유전자변이 분석 연구

Association analysis of genetic variants
with Alzheimer's disease in the Korean elderly

2016 년 2월 25일

조선대학교 대학원

생명과학과

김 나 현

고령 한국인 코호트 기반
알츠하이머성 치매 연관
유전자변이 분석 연구

지도교수 이건호

이 논문을 이학석사학위 신청 논문으로 제출함

2015 년 10월

조선대학교 대학원

생명과학과

김 나 현

김나현의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 윤성명 (인)

위원 조선대학교 교수 이건호 (인)

위원 조선대학교 교수 최규영 (인)

2015 년 11월

조선대학교 대학원

차 례

차례	i
표 차례	ii
그림 차례	iv
Abstract	v
국문 초록	vii
I. 서론	1
1. 알츠하이머병	1
2. 유전자변이	2
2.1. 단일 염기 다형성	2
2.2. SNP 분류	5
3. 전장 유전체 연관성 분석	7
3.1. 알츠하이머병에 관한 기존 GWAS 연구	9
4. 인지기능	12
5. 연구 목적	12
II. 연구 방법	13
1. 연구 대상	13
2. 인지기능 검사	13
2.1. 신경심리 검사	13
3. SNP 유전형 분석	16
3.1. 검체	16
3.2. 유전체 분석	16
4. 통계 분석	19

III. 연구 결과	20
1. 인구학적 특성	20
2. 알츠하이머병과 SNPs 연관성 분석	23
2.1. 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석	23
2.2. 발병요인 보정한 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석	27
3. 알츠하이머병 연관 SNPs과 인지기능의 연관성 분석	30
3.1. rs4848905와 인지기능의 연관성 분석(Additive model)	30
3.2. rs4848905와 인지기능의 연관성 분석(Dominant model).....	33
3.3. rs75609651와 인지기능의 연관성 분석(Additive model)	36
IV. 고 찰	39
V. 참고문헌.....	44

표 차 례

표 1. dbSNP database 현황	4
표 2. 알츠하이머병 관련 GWAS 연구	10
표 3. GWAS 연구를 통해 밝혀진 알츠하이머병 연관 SNPs	11
표 4. 서울신경심리검사 (SNSB)의 구성	15
표 5. 각 집단의 인구사회학적 특징	21
표 6. 각 집단의 ApoE 유형	22
표 7. 알츠하이머병 특이 고위험 SNP의 genotype 빈도와 ORs	25
표 8. 알츠하이머 발병요인 보정한 특이 연관 SNP의 genotype 빈도와 ORs	28
표 9. rs4848905의 additive model에 따른 인지기능의 연관성 분석	31
표 10. rs4848905의 dominant model에 따른 에 따른 인지기능의 연관성 분석	34
표 11. rs75609651의 dominant model에 에 따른 인지기능의 연관성 분석	37

그림 차례

그림 1. 위치에 따른 SNP 분류	6
그림 2. 전장 유전체 연관분석	8
그림 3. SNP 염기서열 분석	18
그림 4. Additive model에서 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석.....	26
그림 5. Additive model에서 발병요인을 보정하여 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석	29
그림 6. rs4848905의 additive model에서 인지기능과 연관성 분석.....	32
그림 7. rs4848905의 dominant model에서 인지기능과 연관성 분석.....	35
그림 8. rs75609651의 dominant model에서 인지기능과 연관성 분석.....	38

Abstract

Association analysis of genetic variants with Alzheimer's disease in the Korean elderly

Na Hyeon Kim

Advisor : Prof. Kun Ho Lee, Ph.D.

Department of life science,

Graduate School of Chosun University

Alzheimer's disease (AD) is an irreversible, progressive, multifactorial neurodegenerative disease that deteriorates cognition, memory and thinking skills. As the aging population in the world increases, the early diagnosis of AD is becoming essential. Genes associated with AD can be found through Genome Wide Association Study (GWAS) with a large cohort. Although there are several kinds of GWAS studies for AD with the Caucasian population, the studies for Asians, in particular Koreans are not sufficient. In this study, I identified several high-risk single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with AD in Korean population. Subsequently, I investigated the correlations between cognitive functions and the high-risk SNPs for AD in Korean population.

This cohort study was designed with residents aged over 50 years and under 91 years in Gwangju city. 568 subjects were divided into the normal control group and the AD patient group. The SNP genotypings for these subject were

performed by ligation-based assay using DNA extracted from the blood. For the association study, I analyzed the correlation of each SNP for Alzheimer's disease by logistic regression models using Additive genetic model after adjustment of the age, sex, ApoE ϵ 4. As a result, the highly AD-associated SNPs were rs4848905 (CNTNAP5) and rs75605691 (VPS13A-AS1). In addition, I performed the correlation analysis between these AD high-risk SNPs and the neuropsychological test scores in normal control group. Surprisingly, these two SNPs (rs4848905 and rs75605691) showed the strong correlations with COWAT neuropsychological assessments.

These results suggest that the AD-risk genetic factors may cause the cognitive changes in the normal state. In the present study, I found the significantly AD associated SNPs in Korean population. However, a further study is necessary to validate the results of this study by using a different cohort. Taken together, the genetic variants identified in this study can serve as the potential diagnostic markers in the early diagnosis of Alzheimer's disease.

국문 초록

고령 한국인 코호트 기반 알츠하이머성 치매 연관 유전자변이 분석 연구

알츠하이머병은 진행적인 뇌세포의 퇴화로 치매증상을 야기하며, 기억력 및 여러 인지기능의 이상으로 인해 일상생활 기능을 상실하게 된다. 고령화 사회로 인한 노인의 증가는 알츠하이머병 환자의 증가를 동반한다. 이러한 알츠하이머병은 완치할 수 있는 방법이 없고, 치료 및 관리 비용 또한 많이 들기 때문에 조기진단을 통하여 증상을 늦추는 것이 중요하다. 현재 조기진단 방법을 개발하는 기술의 하나로써 알츠하이머병과 유전자의 연관성 연구가 GWAS 연구를 통해 시행되고 있다. 그러나 대부분 서양인을 대상으로 한 연구이며 한국인을 대상으로 한 연구는 부족하다. 그렇기 때문에 한국인 노인을 대상으로 알츠하이머병 위험 유전자 변이를 찾고자 한다.

본 연구는 GWAS를 통하여 한국인을 대상으로 알츠하이머병 고위험 유전자 변이를 발굴하기 위해, 인지적 정상인과 알츠하이머병 환자의 유전형을 통계적 기법으로 비교 분석하였다. 고령 한국인 568명(50-91세)의 대상자를 신경심리검사, MRI검사, 전문의 진료상담에 기반하여 정상군(n=357)과 알츠하이머병 환자군(n=211)으로 구분하였다. 혈액 기반 DNA를 사용하여 GWAS에 필요한 SNP genotyping을 실시하여 각 대상자의 유전형을 분석하였다. 알츠하이머병과 각 유전형의 연관관계를 통계적 기법으로 분석하여 알츠하이머병 발병에 유의미한 SNP를 규명하였다. 또한, 알츠하이머병 특이 고위험 유전인자와 인지적 정상인의

인지기능과의 연관성을 확인하기 위하여 신경심리검사를 시행하여 분석하였다.

알츠하이머 발병에 영향을 미치는 것으로 알려진 환경적 요인과 유전적 요인 등을 보정하여 분석 하였을 때 2개의 SNPs이 알츠하이머병과 유의한 결과를 보였 으며, additive genetic model에서 CNTNAP5의 rs4848905 ($p < 1.07 \times 10^{-6}$) 과 VPS13A-AS1의 rs75605691 ($p < 2.09 \times 10^{-6}$) 이다. 이러한 SNPs을 이용하여 인지 기능과 연관성 분석을 한 결과, additive genetic model에서 CNTNAP5의 rs4848905과 dominant genetic model에서 VPS13A-AS1의 rs75605691을 모두 신경심리검사의 전두엽/집행기능 영역(Frontal/Executive functions domain) 의 Controlled Oral Word Association Test (COWAT)에서 연관성을 보였다.

본 연구는 한국인을 대상으로 하여 전장 유전체 연관 분석을 통해 알츠하이머 병에 연관성을 보인 SNP를 발견하였다. 이 결과를 통해 밝혀진 알츠하이머병 연관 요인은 정상 상태의 인지기능에 변화를 일으킬 수 있을 것이라 사료된다.

본 연구를 통해 밝혀진 SNPs가 알츠하이머 발병을 예측할 수 있는 유전적 지표로서 활용 가능성을 제시할 수 있다. 향후 유의한 연관성 결과를 나타낸 유전자 변이에 대해 재연성 연구를 통한 검증이 필요하며 이를 통해 선별된 유의한 유전자 변이의 생체 내에서의 기능 규명을 위한 분자생물학적 연구가 필요하다고 사료 된다.

I. 서론

1. 알츠하이머병

알츠하이머병(Alzheimer's disease; AD)은 치매를 일으키는 가장 흔한 퇴행성 뇌질환으로, 1907년 독일의 정신과 의사인 알로이스 알츠하이머병(Alois Alzheimer) 박사에 의해 최초로 보고되었다. 알츠하이머병은 서서히 발병하여 점진적으로 진행되는 것이 특징이다 [1, 2]. 초기에는 기억력에서 문제를 보이다가 병이 진행되면서 언어기능이나 판단력 등 다른 여러 인지기능의 이상을 동반하게 되며, 결국에는 모든 일상 생활 기능을 상실하게 된다 [1, 2]. 알츠하이머병은 뇌조직 검사에서 아밀로이드 베타 단백질 침착 및 신경섬유다발(neurofibrillary tangle)등 특징적인 병변이 관찰되며, 신경세포 소실로 인해 뇌위축 소견이 보인다 [3, 4]. 아밀로이드 베타는 주로 기억과 학습을 담당하는 뇌의 측두엽과 두정엽에 쌓이는데, 이곳 피질은 기억, 언어 등의 인지 기능에 필수적이므로 이들 물질이 쌓이면 인지기능의 이상증상을 보이게 된다 [5]. 알츠하이머병은 연령이 높을수록 [6], 학력이 낮을수록 [7], 직계 가족 중에 알츠하이머병 환자가 있는 경우 그리고 ApoE 유전자형 중 $\epsilon 4$ 형을 가질 경우 등이 위험요소로 작용한다. 또한 알츠하이머병의 발병은 여성이 알츠하이머병의 발병률이 남성에 비해 1.5~2.5배 높다고 연구되었다 [8]. 이러한 유전적 요인과 환경적 요인 등이 복합적으로 작용하여 사람마다 병의 발생 빈도가 달라진다. ApoE 유전자형은 $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ 의 세 가지 대립형질을 가지며, 특히 ApoE $\epsilon 4$ 유전형은 ApoE의 다른 유전형에 비해 아밀로이드 베타 단백질 분해 능력이 떨어져 알츠하이머병의 유발에 역할을 하는 것으로 알려졌다 [9, 10].

알츠하이머병의 진단은 병력 조사, 신체검사, 신경학적 검사, 정신상태 검사,

뇌영상 촬영(Magnetic Resonance Imaging; MRI) 및 전문의 진찰에 의하여 이루어진다. 현재까지 알츠하이머병을 완치 할 수 있는 방법은 알려져 있지 않다.

2. 유전자변이

인간은 99.9%의 동일한 유전적 염기서열을 가지나, 0.1%의 개인 간 차이를 보이며 이를 유전자변이(genetic variant)라 한다. 유전자변이는 인구집단 또는 개인 사이의 대립유전자 차이를 나타내며, DNA 염기서열의 특정한 부위에 삽입(insertion)되거나 결손(deletion) 등에 의하여 변화 또는 차이가 난다 [10]. 유전자 변이 종류에는 단일 염기 다형성(Single nucleotide polymorphism; SNP)와 구조변이(Structural variation; SV) [11] 등이 있다. 최근 연구를 통해 유전자 변이들이 표현형(phenotype)의 변화, 질병에 대한 민감성, 그리고 치료 약제에 대한 반응의 차이 등 개인 간의 차이를 결정짓는다고 알려졌으며, 특히 질환 발생과 진행과정에 관여하는 변이들을 질환연관 유전자변이(Disease-associated genetic variants)라고 한다 [11]. 또한 유전자변이의 빈도는 질병에 연관성 있다고 알려져 있다 [12].

2.1. 단일 염기 다형성

DNA 염기서열에서 하나의 염기서열(A, T, G, C)의 차이를 보이는 유전적 변화 또는 변이를 단일 염기 다형성(Single Nucleotide polymorphism; SNP)이라 하며, 인간 유전자변이형의 약 90% 를 차지하고 있다. 인구집단에서 1% 이상의 빈도로 발생하는 위치를 SNP 라고 하며, 5% 이상의 빈도로 존재하는 경우 common polymorphism 이라고 하며, 1~5% 인 경우 rare polymorphism으로 분류한다

[13]. 2개의 대립유전자형(bi-allele)을 가진 SNP를 표시할 때는 대립유전자형의 빈도가 낮은 것(minor allele)을 기준으로 표시한다. 빈도가 낮은 대립유전자형의 빈도(minor allele frequency; MAF)는 SNP의 유전적 다양성을 표현하는 표준 지표로 사용되고 있다.

현재 거의 모든 SNP 정보는 NCBI(national center for biotechnology information)의 dbSNP에 database(현재 build 144, Jun 2015)가 구축되어있다. 새롭게 발견된 SNP가 dbSNP에 제출되면 submitted SNPs #(ss#)을 부여 받으며, 유전체에서 정확한 위치 정보를 확인하여 reference SNPs #(rs#)을 다시 부여 받는다 (표 1). 이렇게 밝혀진 SNP는 유전적인 개인차를 알아내는 유력한 단서가 될 수 있다.

SNP 연구는 특정 질병의 후보 유전자(candidate gene regions)에 관한 연구에서 유전형과 표현형의 차이에 대한 기능적 연관성에 관한 연구에 이르기까지 다양하게 진행되고 있으며, 단일 위치(locus)에서 전장 유전체(genome-wide level)에 이르기까지 연구의 영역이 확장되고 있다. 현재 질병으로 나타내어지는 SNP 와 표현형의 연관성 분석(association study) 연구가 진행되고 있으며 [14], 이러한 SNP 연구는 새로운 질병 관련 유전자를 발견하는 데 많은 기여를 할 것으로 생각된다.

표 1. dbSNP database 현황

dbSNP statistics for Human (build 144, Jun 2015)	
Number of submissions (ss#'s)	505,875,709
Number of refSNP Clusters (rs#'s)	149,735,377
Number of validated (rs#'s)	97,535,033
Number of (rs#'s) in gene	85,591,044
Number of (ss#'s) with frequency	45,812,686

2.2. SNP 분류

SNP은 유전체 상에 존재하는 위치에 따라 종류가 구분되고, 표현형에도 영향을 미칠 수 있다. 유전자의 프로모터에 존재하여 유전자 발현을 조절하는 기능이 있는 SNP은 regulatory SNP 또는 rSNP이라 하고 유전자의 intron에 위치한 SNP은 intronic SNP 또는 iSNP, 유전자와 유전자 사이에 존재하는 SNP은 genomic SNP 또는 gSNP이라고 한다. 그리고 유전자를 코딩하는 엑손 부위에 존재하는 SNP은 coding SNP 또는 cSNP이라고 하며 아미노산의 서열을 변경시키는 유무에 따라 아미노산 변화 없는 synonymous SNP(sSNP)과 아미노산 서열을 바꾸는 nonsynonymous SNP(nsSNP)으로 구분하고 있다. 이 가운데 유전자의 기능 변화에 직접적으로 관여하는 것은 유전자의 발현을 조절할 수 있는 rSNP과 아미노산의 서열을 변경할 수 있는 nsSNP이 표현형의 변화를 초래할 수 있는 기능적 SNP일 가능성이 매우 높다 (그림 1).

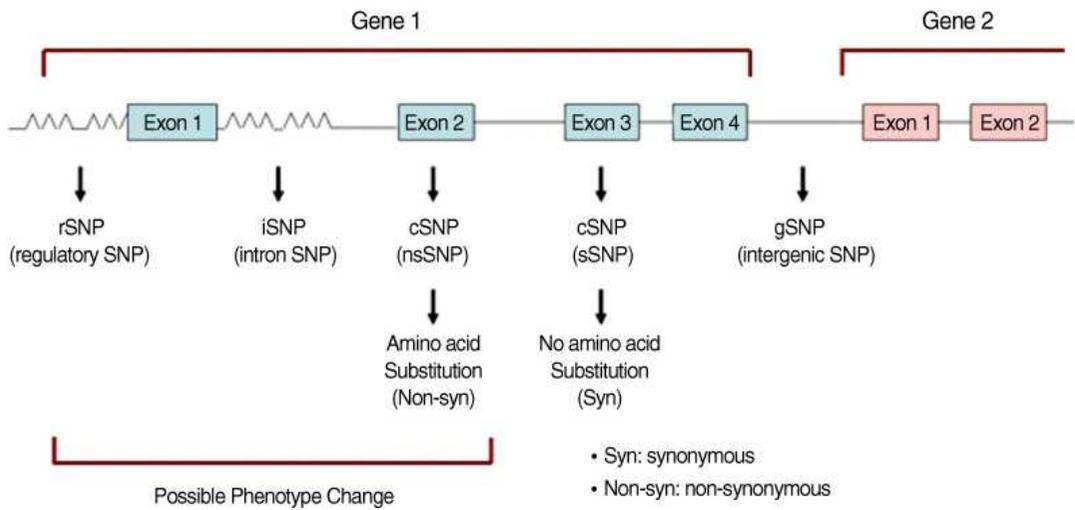


그림 1. 위치에 따른 SNP 분류

3. 전장 유전체 연관성 분석

전장 유전체 연관성 분석(Genome Wide Association Study; GWAS)이란 복합 질환에 대한 질병 감수성 유전자(disease susceptibility gene)를 찾기 위한 강력한 방법이다 [15]. GWAS는 전체 유전체 또는 특정 유전체 영역에 대하여 일정한 간격을 두고 유전변이형 마커(tagSNP)를 선별하여 질병 연관성 연구를 수행하는 방법이다. 질병과 연관된 유전 마커(tagSNP)를 찾은 후에 다시 원인 유전자 및 SNP을 추가적으로 발굴하는 방법이다.

GWAS는 SNP genotyping 을 수행한 후, 질병군과 정상군의 집단(case-control cohorts)에서 SNP allele 빈도를 비교하여 SNP 와 질병의 연관성을 규명한다 (그림 2). 연관성 연구는 전체 집단에서 일반적으로 많이 발생하는 질병은 집단 내에 높은 빈도로 존재하는 유전형에 의해 결정된다는 가설 (common disease-common variant theory)을 전제로 하여 이루어지는 연구 방법이다. 따라서 이 방법을 사용하기 위해서는 특정 빈도 이상의 유전마커(MAF>5%)를 이용하여 질병 연관성 연구를 수행하게 된다.

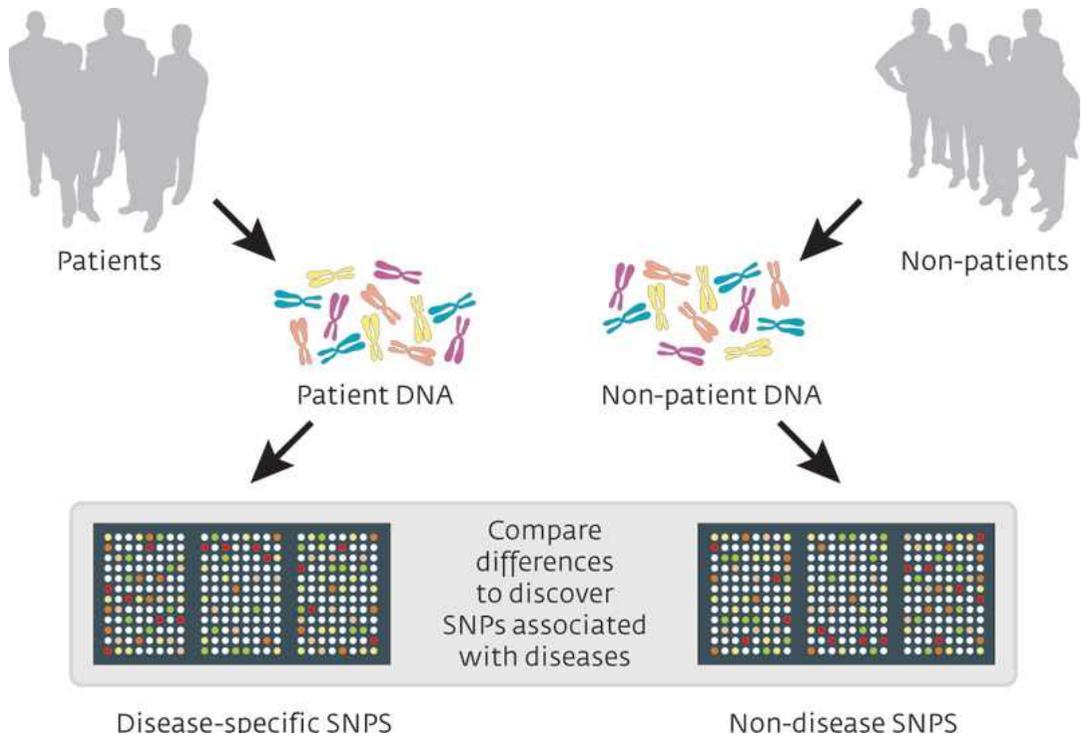


그림 2. 전장 유전체 연관분석

3.1. 알츠하이머병에 관한 기존 GWAS 연구

현재 GWAS를 이용하여 알츠하이머병에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 유전자 염기서열 분석기술 발달로 대용량 GWAS 연구가 가능해짐에 따라 ApoE 유전자 외에 알츠하이머성 치매병리와 관련된 유전자를 찾는 연구가 진행되어 왔다 (표 2). 이를 통하여 SOL1, CLU, PICALM, CR1, BIN1 등의 유전자에서 SNP이 알츠하이머발병과 관련 있음이 보고되었다 (표 3). 이러한 유전자의 기능과 알츠하이머병과의 연관성을 규명하는 연구도 현재 진행되고 있다.

표 2. 알츠하이머병 관련 GWAS 연구

Title	Author	Journal
GWAS of Cerebrospinal Fluid Tau Levels Identifies Risk Variants for Alzheimer's Disease	Cruchaga, Carlos, et al.	Neuron (2013)
Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease	Lambert, Jean-Charles, et al.	Nature Genetics (2013)
Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease	Naj, Adam C., et al.	Nature Genetics (2011)
Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease	Hollingworth, Paul, et al.	Nature Genetics (2011)
Association analysis of 528 intra-genic SNPs in a region of chromosome 10 linked to late onset Alzheimer's disease	Morgan, A. R., et al.	Neuropsychiatric Genetics (2008)
Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease	Seshadri, Sudha, et al.	Jama (2004)
Association of ABCA1 with late-onset Alzheimer's disease is not observed in a case-control study	Li, Yonghong, et al.	Neuroscience Letters (2004)

표 3. GWAS 연구를 통해 밝혀진 알츠하이머병 연관 SNPs

SNP ID	Nearest gene	Location	Control MAF	Odds ratio
rs429358	APOE	Exon 4	0.13	3.69
rs11136000	CLU	Intron 3	0.41	0.88
rs3818361	CR1	Intron 34	0.20	1.17
rs3851179	PICALM	88.5 kb 5'	0.37	0.88
rs744373	BIN1	29.7 kb 5'	0.27	1.17
rs3764650	ABCA7	Intron 13	0.06	1.23
rs610932	MS4A6A	3' UTR	0.43	0.90
rs11767557	EPHA1	3.2 kb 5'	0.21	0.89
rs3865444	CD33	373 bp 5'	0.32	0.89
rs9349407	CD2AP	Intron 1	0.29	1.12
rs75932628	TREM2	Exon 2	0.002	5.05

4. 인지기능

인지기능은 지식을 얻고 조직하며 사용하는 과정으로 원인과 결과의 관계 및 자신과 환경을 이해하는 것을 의미한다 [16]. 인지기능은 일상적이지 않은 환경에서 감각의 수용과 운동 반응을 선택하고, 처리·조절하는 상위 인지기능과 주의, 언어, 시공간, 기억과 같은 하위 인지기능을 조절하는 관리기능으로 나눌 수 있다 [17]. 인지기능은 본인의 기억력에 대한 주관적 인식과 여러 검사 방법을 이용하여 측정 가능하다.

5. 연구 목적

기존의 알츠하이머병의 GWAS 연구는 대부분 서양인을 대상으로 시행되었다. 하지만 이러한 연구는 한국인을 대상으로 한 연구는 부족한 상황이다. 본 연구에서는 GWAS를 통하여 한국인을 대상으로 알츠하이머병에 유의한 위험인자를 발굴하고자 한다. 또한, 알츠하이머병 특이 고위험 유전인자와 인지적 기능의 관련성 분석을 목적으로 한다.

- 1) GWAS를 이용하여 환자-대조군 분석으로 알츠하이머병과 연관 있는 SNP 과 유전자를 발굴한다.
- 2) SNP와 알츠하이머병의 관련성을 성별, 연령, APOE 4ε 개수 등을 보정하여 분석한다.
- 3) 알츠하이머병 연관 SNPs과 인지기능의 관련성을 분석한다.

II. 연구 방법

1. 연구대상

본 연구는 2010년도 10월 2일부터 2015년도 3월 24일까지 광주지역에서 만 50세에서 만 91세 노인을 대상으로 코호트를 구축하였다. 568명을 신체계측(신장, 체중, 혈압 등)과 혈액검사(중성지방, 콜레스테롤, 공복 혈당 등)를 실시하였고, 서울 신경 심리검사와 MRI뇌영상, 전문의 진찰에 따라 정상군과 알츠하이머병 환자군을 구분하였다. 이에 따라 211명의 알츠하이머병 환자군과 357명의 정상 대조군으로 나뉘었고, 남성은 224명 여성은 344명으로 이루어져 있다.

2. 인지기능 검사

모집군 568명을 대상으로 인지기능을 검사 하는 방법인 신경심리 검사를 실시하였다. 이를 통해 정상 대조군과 알츠하이머병 환자군의 선별 시 참고 자료로 활용 하였다.

2.1. 신경심리 검사

신경심리검사는 후천적이거나 선천적인 뇌손상 환자뿐 아니라 정신장애자, 정상인과 노인의 인지기능평가, 더 나아가 정인지체, 학습장애, 행동장애에 대한 감별 및 진단하는 검사이다. 신경심리검사는 본질적으로 뇌와 행동과의 관계를 다루고 뇌손상이나 신경병리적 조건에 따른 인지기능 및 행동적 변화를 측정하는 것이므로 적절한 평가를 위해서는 신경해부학, 신경병리학, 행동의 신경학적 기본원리에

대한 지식이 있어야 한다. 신경심리검사의 한국판으로는 서울신경 심리검사(Seoul Neuropsychological Screening Battery; SNSB)가 있다 (표 4).

SNSB의 장점으로서는 첫째, 학력이 낮은 노인에게도 쉽게 실시할 수 있도록 비교적 검사 지시와 수행이 단순하고, 둘째, 어느 곳에서도 쉽게 실시할 수 있도록 기록용지와 펜 이외에는 다른 도구나 설비가 필요하지 않으며, 셋째, 국내에서 표준화 연구가 수행된 검사들(K-MMSE, K-Boston Naming Test, GDS, B-ADL, CDR)의 세 가지 기준에 의해 선정되었다 [18].

SNSB는 개인검사로 실시하며, 환자의 상태와 조건에 따라서 다소 차이가 있으나 검사에 소요되는 전체 시간은 1시간 45분~2시간 정도이다. SNSB에 포함되어 있는 각 검사들은 인지 영역별로 순서대로 실시되는 것은 아니고, 다음과 같은 기준에 의해서 인지 영역에 관계없이 뒤섞여서 실시된다. 첫째, 한 검사에서 측정하고자 하는 인지 능력이 다른 검사에 의해서 방해받지 않도록 검사순서를 정하였다. 예를 들어, 언어적 기억력을 측정하는 노인용 서울언어학습검사(Seoul Verbal Learning Test-Elderly's version, SVLT-E)의 즉각회상 후 20분간의 지연시간 동안에는 언어적 기억력에 영향을 미칠 수 있는 언어적 검사들을 제외한 비언어적 검사들만이 실시되도록 검사 순서를 정하였다. 둘째, 피검자의 피로감이 검사에 미치는 영향을 가급적 배제하기 위해서 피로감의 영향을 많이 받는 검사는 앞쪽에, 피로감이 검사 수행에 상대적으로 영향을 덜 미친다고 판단된 검사들은 뒤쪽에 배치하였다.

표 4. 서울신경심리검사 (SNSB) 의 구성

Cognitive domain	SNSB
Attention	<ul style="list-style-type: none"> • Digit span test (DST): Forward / Backward • Letter cancellation
Language & Related functions	<ul style="list-style-type: none"> • Spontaneous speech / comprehension / Repetition • Korean-Boston Naming Test (K-BNT) • Reading / Writing • Finger naming / Right-Left Orientation / Calculation/ Body-Part Identification • Praxis Test : Buccofacial / Ideomotor
Visuospatial functions	<ul style="list-style-type: none"> • K-MMSE: Drawing • Rey Complex Figure Test (RCFT) : Copy
Memory	<ul style="list-style-type: none"> • K-MMSE : Registration & Recall • Seoul Verbal Learning Test-Elderly's version (SVLT-E) : Immediate & Delayed Recalls / Recognition • RCFT : Immediate & Delayed Recalls / Recognition
Frontal / Executive functions	<ul style="list-style-type: none"> • Contrasting Program / Go-No-Go • Fist-Edge-Palm / Alternating Hand Movement • Alternating Square & Triangle / Luria Loop • Controlled Oral Word Association Test (COWAT) : Semantic (Animal, Supermarket), Phonemic (giut, iung, siut) • Korean-Color Word Stroop Test (K-CWST)
Other indexes	<ul style="list-style-type: none"> • Korean-Mini Mental State Examination (K-MMSE) • Geriatric Depression Scale (GDS) • Barthel-Activities of Daily Living (Barthel-ADL) • Clinical Dementia Rating (CDR)

3. SNP 유전형 분석

3.1 검 체

검체는 8시간 공복 상태인 모집군의 정맥에서 채혈하였고, EDTA 시험관을 이용하여 응고를 방지하였다. 채취된 혈액은 혈장과 buffy coat를 분리하기 위해 온도를 4 °C로 유지하여 1차는 2,000 rpm에서 10분, 2차는 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하였다. 그 후, 혈장을 제거하고 남아있는 buffy coat를 이용하여 DNA 정제를 하였다. DNA 정제는 Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent and Kits (Invitrogen) 를 사용하였으며, 정제된 DNA는 농도가 10ng/μl 이상, 전체DNA 양이 200ng 인 샘플만 분석에 사용하였다.

3.2 유전체 분석

SNP 염기서열 분석은 수십만 개의 SNPs을 동시에 분석 할 수 있는 시스템인 Affymetrix Array 6.0를 이용하였다. 먼저 정제된 DNA를 증폭시킨 후 제한효소를 사용하여 genomic DNA를 절단하여 DNA 단편을 만들었다. 각 SNPs에 맞게 제작된 Chip에 DNA 단편을 결합시킨 후, 각각 다른 색을 가진 9mer의 probe가 각 단편에 상보적인 결합하게 된다. 이렇게 결합된 probe의 색은 신호를 나타내며, 이를 증폭시켜서 염기서열을 구분하였다 (그림 3). 이렇게 분석된 염기서열의 Quality control call rate (Dynamic Model algorithm)는 95% 이상을 나타내었고, X 염색체 상의 heterozygosity로 대상자 개개인의 성별을 정확하게 구별하였다. 유전체 분석은 Messiness per individual (Mind) > 95%, minor allele frequency (MAF) >

0.05, Hardy–Weinberg equilibrium, model, theorem (HWE) $< 1 \times 10^{-6}$ 등의 기준을 모두 통과한 SNP만 이용하여 진행하였다. 그 결과, 368585개의 SNPs이 통계분석에 사용하였다.

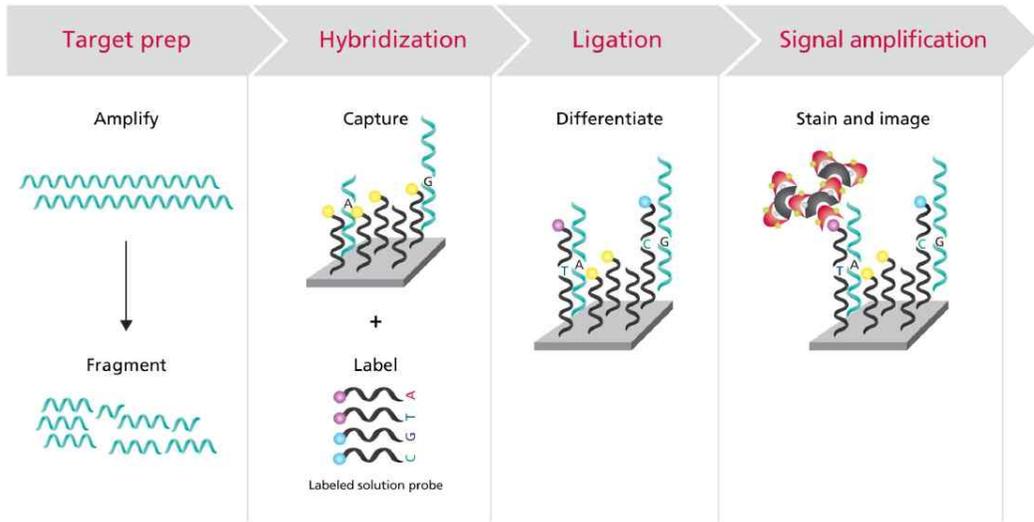


그림 3. SNP 염기서열 분석

4. 통계 분석

알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석은 유전모형(Genetic Model)중 additive model을 이용하여 분석하였다. 첫번째는 기초분석으로 연령, 성별, APOE ϵ 4 여부를 보정하지 않은 상태에서 단순 로지스틱 회귀모형(Simple Logistic Regression Model)으로 분석하였고, 두번째는 알츠하이머 발병에 영향을 줄 수 있는 요인인 연령, 성별, APOE ϵ 4 유무 등을 동시에 보정하여 다중 로지스틱 회귀모형(Multiple Logistic Regression Model)으로 분석하였고, 알츠하이머 발병에 대한 우도비(Odds Ratio, OR)와 95% 신뢰구간(Confidence Interval)을 계산하였다. 또한 알츠하이머병에 유의하다고 밝혀진 SNPs과 인지기능의 연관성 분석은 유전모형 중 additive model과 dominant model을 사용하여 정상인을 대상으로 분석하였다. 인지기능에 영향을 주는 요인 중 연령과 성별, 교육년수를 보정하여 공분산분석(Analysis of covariance; ANCOVA)을 시행하였고, 사후검정으로 낭망의 방법을 사용하였다. 자료의 통계분석은 PLINK ver. 2.05(Free Software Foundation, Inc, Boston, USA)와 SPSS 22.0(SPSS Inc., Chicago, IL)을 사용하였다.

III. 연구 결과

1. 인구사회학적 특성

연구 대상자는 총 568명으로 그 중 남자가 224명 (39.4%), 여자가 344명 (60.6%)이었고, 대상자의 평균 연령은 74.45 ± 2.4 세였다. 알츠하이머병 환자군과 정상 대조군으로 나누어 봤을 때 알츠하이머병 환자군은 211명 (37.15%), 정상 대조군은 357명 (62.85%)이었으며, 평균 연령은 각각 71.74 ± 3.80 세, 75.46 ± 7.20 세였다 (표 5). 알츠하이머병 환자군의 교육년수는 평균 7.89년, 정상 대조군의 교육년수는 평균 8.57년이다. 성별과 연령, ApoE 유형 (표 6), 교육년수 등은 이미 많은 연구를 통해 알츠하이머병에 영향을 미친다는 결과에 따라 보정을 위하여 수집하였다.

표 5. 각 집단의 인구사회학적 특징

		Alzheimer's disease	Normal	Total
Age		71.74(±7.20)	75.46(±3.46)	74.12(±5.478)
No. of subject	Total	211	357	586
	Male	87	137	224
	Female	124	220	344
Years of education		7.98(±5.38)	8.57(±4.77)	

표 6. 각 집단의 ApoE 유형

	AD				Normal			
	male	female		total	male	female		total
	N	N	%	N	N	N	%	N
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	0		0	0	1	100.0	1
$\epsilon 2/\epsilon 3$	7	8	53.3	15	17	27	61.4	44
$\epsilon 2/\epsilon 4$	1	3	75.0	4	0	2	100.0	2
$\epsilon 3/\epsilon 3$	42	60	58.8	102	97	148	60.4	245
$\epsilon 3/\epsilon 4$	27	43	61.4	70	20	36	64.3	56
$\epsilon 4/\epsilon 4$	9	6	40.0	15	0	1	100.0	1
$\epsilon 4-$	49	68	56.8	206	114	176	83.1	349
$\epsilon 4+$	37	52	43.2		20	39	16.9	

2. 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석

알츠하이머병과 SNPs의 연관성을 단순 로지스틱 회귀 분석을 사용하였다. 정상군과 알츠하이머병 환자군에서 SNPs 연관성을 비교 분석하였다. 또한 알츠하이머 발병요인을 보정하여 분석하였다.

2.1. Additive model에서 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석

알츠하이머병과 선별된 368585개의 SNPs의 연관성을 additive model을 이용하여 분석하였다. 그 결과, $p < 1 \times 10^{-5}$ 기준으로 8개의 SNPs인 rs429358, rs4420638, rs769449, rs75605691, rs519113, rs10051239, rs34342646, rs2075650 등이 알츠하이머병과 유의한 연관성이 나타났다. 염색체 19번에 위치한 rs429358은 알츠하이머 발병요인으로 잘 알려진 ApoE 유전자에서 rs7412와 함께 유전자형을 결정하는 SNP이다. rs429358은 알츠하이머병 환자군 211명 중 TT형, TC형, CC형이 각각 117명, 74명, 15명이었고, 정상 대조군은 각각 290명, 59명, 1명이었다. p-value는 7.92×10^{-12} , OR 값은 3.50이다. C형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, TT형일 때 보다 CC형일 때 3.5배 높은 높은 감수성이 나타났다. 염색체 19번에 위치한 또 다른 SNPs, rs4420638은 APOC1P1 유전자에 위치하며, p-value는 6.89×10^{-10} 이며, OR은 2.87이다. G형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, AA형일 때 보다 GG형일 때 알츠하이머 발병률이 2.87배 높은 감수성이 나타났다. rs769449는 ApoE 유전자에 위치하며, p-value는 3.12×10^{-8} 이며, OR은 3.12이다. A형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, GG형일 때 보다 AA형일

때 3.12배 높은 높은 감수성이 나타났다. rs519113과 rs34342646은 PVRL2 유전자에 위치하며 각각 p-value는 1.89×10^{-7} , 2.96×10^{-6} 이며 OR값은 2.20, 2.28이다. rs519113은 G형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, CC형일 때 보다 GG형일 때 2.2배 높은 높은 감수성이 나타났다. rs34342646은 A형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, GG형일 때 보다 AA형일 때 2.28배 높은 높은 감수성이 나타났다. rs2075650은 TOMM40 유전자에 위치하며 p-value는 4.21×10^{-6} 이며, OR은 2.23이다. G형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, AA형일 때 보다 GG형일 때 2.23배 높은 높은 감수성이 나타났다. 염색체 9번에 위치한 rs75605691은 VPS13A-AS1 유전자에 위치하며 p-value는 6.60×10^{-8} 이며, OR은 4.88이다. G형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, AA형일 때 보다 GG형일 때 4.88배 높은 높은 감수성이 나타났다. 염색체 5번에 위치한 rs10051239는 ERGIC1 유전자에 위치하며 p-value는 2.07×10^{-6} 이며, OR은 0.48이다. G형을 가진 개수에 따라 알츠하이머 발병률이 점차 증가하여, AA형일 때 보다 AA형일 때 0.48배 낮은 저항성이 나타났다 (표 7) (그림 4),

표 7. 알츠하이머병 특이 고위험 SNPs의 genotype 빈도와 ORs

No.	Chr	Gene	SNP ID	Position	Allele (M/m)	Number of genotypes						MAF	OR (CI 95%)	p-value
						Normal			AD					
						MM	Mm	mm	MM	Mm	mm			
1	19	ApoE	rs429358	45411941	T/C	290	59	1	117	74	15	0.148	3.50 (2.44-5.01)	7.92×10^{-12}
2	19	APOC1P1	rs4420638	45422946	A/G	283	71	3	118	77	15	0.162	2.87 (2.05-4.02)	6.89×10^{-10}
3	19	APOE	rs769449	45410002	G/A	301	52	0	136	64	8	0.118	3.12 (2.11-4.61)	1.01×10^{-8}
4	9	VPS13A-AS1	rs75605691	79707435	A/G	339	18	0	167	43	1	0.055	4.88 (2.74-8.68)	6.60×10^{-8}
5	19	PVRL2	rs519113	45376284	C/G	264	82	11	111	82	18	0.195	2.20 (1.63-2.97)	1.89×10^{-7}
6	5	ERGIC1	rs10051239	172348466	A/G	158	160	35	136	68	7	0.277	0.48 (0.36-0.65)	2.07×10^{-6}
7	19	PVRL2	rs34342646	45388130	G/A	286	68	3	133	69	9	0.142	2.28 (1.61-3.23)	2.96×10^{-6}
8	19	TOMM40	rs2075650	45395619	A/G	282	72	3	131	71	9	0.147	2.23 (1.58-3.15)	4.21×10^{-6}

M/m : Major allele / Minor allele , MAF : Minor Allele Frequency, OR : Odds Ratio

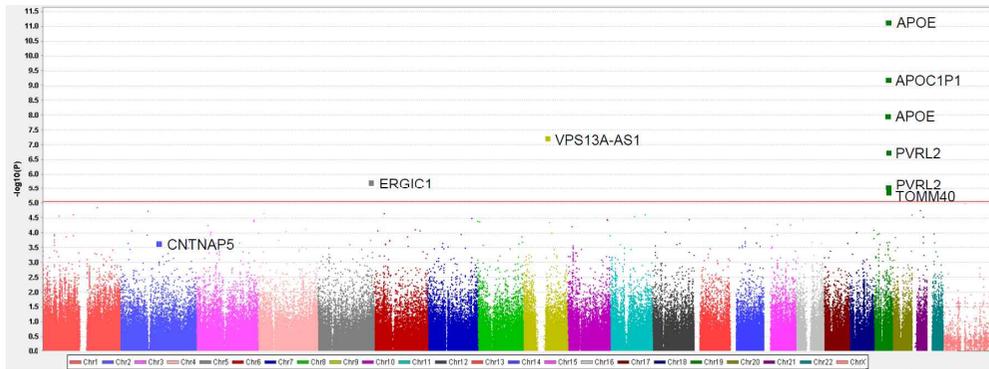


그림 4. Additive model에서 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석

알츠하이머병에 연관 있는 SNP의 p-value를 $-\log_{10}$ 값으로 치환하여 나타냈다. x축은 염색체, y축은 P값을 나타낸다. $P < 1 \times 10^{-5}$ 을 기준으로 알츠하이머병과 연관성 있는 SNP를 찾았다.

2.2. 발병요인을 보정한 알츠하이머병과 SNPs의 연관성 분석

알츠하이머병과 선별된 368585개의 SNPs의 연관성을 발병요인으로 알려진 성별과 연령, APOE ε4 등을 보정하여 additive model에서 분석하였다. 또한, 다중 검정시 발생하는 오류를 극복 할 수 있는 통계적 기법인 FDR을 시행하였다. 그 결과, FDR값이 0.05보다 작은 2개의 SNPs이 알츠하이머병과 유의한 연관성 나타났다. 염색체 2번에 위치한 rs4848905는 CNTNAP5 유전자에 위치하며, 알츠하이머병 환자군 211명 중 CC형, CT형, TT형이 각각 109명, 82명, 20명이었고, 정상 대조군은 각각 130명, 165명, 60명이었다. p-value는 1.07×10^{-6} 이며, OR값은 0.47이다. TT형을 가질 경우 CC형을 가질 때보다 알츠하이머 발병률이 0.47배 낮은 저항성이 나타났다. 염색체 9번에 위치한 rs75605691은 VPS13A-AS1 유전자에 위치하며, 알츠하이머병 환자군 211명 중 AA형, AG형, GG형이 각각 167명, 43명, 1명이었고, 정상 대조군은 각각 339명, 18명, 0명이었다. p-value는 2.09×10^{-6} 이며, OR은 4.55이다. GG형을 가질 경우 AA형을 가질 때보다 알츠하이머 발병률이 4.55배 높은 감수성이 나타났다 (표 8) (그림 5).

표 8. 알츠하이머 발병요인을 보정한 고위험 SNP의 genotype 빈도와 ORs

No.	Chr	Gene	SNP ID	Position	Allele (M/m)	Number of genotypes						MAF	OR (CI 95%)	p-value	FDR
						Normal			AD						
						MM	Mm	mm	MM	Mm	mm				
1	2	CNTNAP5	rs4848905	124754515	C/T	130	165	60	109	82	20	0.360	0.47 (0.35-0.63)	1.07×10 ⁻⁶	0.03
2	9	VPS13A-AS1	rs75605691	79707435	A/G	339	18	0	167	43	1	0.055	4.55 (2.43-8.50)	2.09×10 ⁻⁶	0.04

M/m : Major allele / Minor allele , MAF : Minor Allele Frequency, OR : Odds Ratio

FDR : False Discovery Rate

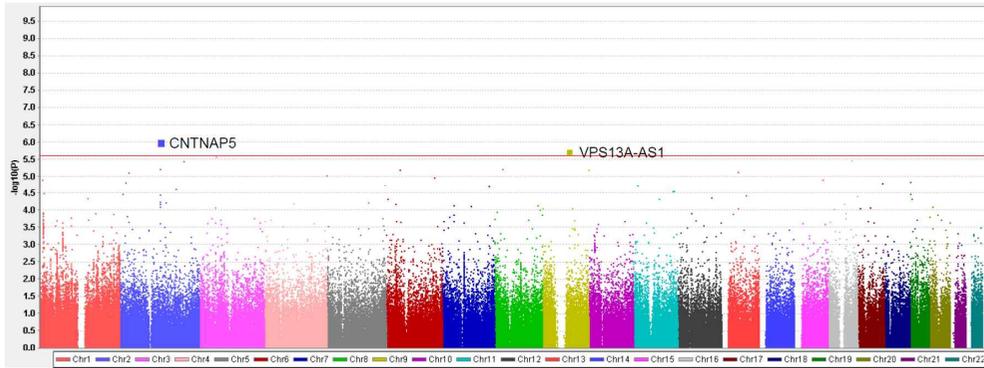


그림 5. Additive model에서 발병요인을 보정하여 알츠하이머병과 SNPs 연관성 분석

알츠하이머병에 연관 있는 SNP의 P값을 $-\log_{10}$ 값으로 치환하여 나타냈다. x축은 염색체, y축은 P값을 나타낸다. $FDR < 0.05$ 값을 기준으로 알츠하이머병에 연관성 있는 SNP를 찾았다.

3. 알츠하이머병 특이 고위험 SNPs과 인지기능의 연관성 분석

알츠하이머병 특이 고위험 SNPs과 정상 대조군 357명의 인지기능의 연관성을 분석하였다. 인지기능은 신경심리검사를 통해 측정되었으며, 그 중 기억력 영역 (Memory domain)과 전두엽/집행기능 영역(Frontal/Executive functions domain)을 연관성 분석에 이용하였다.

3.1. rs4848905와 인지기능의 연관성 분석

알츠하이머병 특이 고위험 SNP인 rs4848905와 정상 대조군 인지기능의 연관성을 additive model에서 분석하였다. rs4848905는 CC형 130명, CT형 165명, TT형 60명으로 나뉘며, 각 유형에 따라 집단으로 구성하여 신경심리검사 점수의 평균을 비교 분석하였다 (표 9). 그 결과, 전두엽/집행기능 영역 중 COWAT (Controlled Oral Word Association Test)의 supermarket 범주에 연관성을 보였으며, p-value는 0.01이다. CC형(15.01 ± 5.17)과 CT형(15.06 ± 5.06)을 가질 경우 보다 TT형(13.45 ± 4.52)을 가질 때 평균점수가 1.5점 정도 낮게 나왔다 (그림 6).

표 9. rs4848905의 additive model에 따른 인지기능의 연관성 분석

	CC		CT		TT		p-value
	Mean (SD)	N	Mean (SD)	N	Mean (SD)	N	
K-MMSE registration	2.98 (0.12)	130	2.95 (0.20)	165	2.98 (0.12)	60	0.35
K-MMSE recall	2.00 (0.89)	130	2.20 (0.83)	161	2.01 (0.89)	60	0.08
SVLT delayed recall	5.51 (2.43)	130	5.40 (1.93)	165	5.38 (2.25)	60	0.70
SVLT recognition score	20.50 (1.89)	128	20.32 (1.99)	164	19.96 (2.03)	60	0.16
RCFT immediate recall	12.31 (6.42)	127	12.92 (6.49)	161	13.35 (5.83)	60	0.79
RCFT delayed recall	12.68 (6.13)	125	12.88 (5.94)	161	13.31 (5.32)	60	0.98
Contrasting program	19.71 (0.95)	129	19.64 (1.24)	164	19.85 (0.44)	60	0.52
Go-No-Go	18.52 (3.31)	129	18.45 (3.01)	163	18.53 (2.86)	60	0.90
COWAT animal	13.71 (4.20)	130	14.18 (4.22)	165	13.75 (4.70)	60	0.29
COWAT supermarket	15.01 (5.17)^a	130	15.06 (5.06)^a	165	13.45 (4.52)^b	60	0.01*
COWAT giut	6.51 (3.69)	126	6.73 (3.95)	156	6.38 (3.83)	60	0.55
COWAT iung	6.44 (4.21)	125	6.76 (3.91)	156	6.88 (4.57)	60	0.88
COWAT siut	6.95 (4.35)	125	7.01 (4.17)	156	7.11 (4.39)	60	0.93
COWAT phonemic total score	19.96 (11.32)	125	20.51 (11.12)	156	20.38 (11.92)	60	0.90
Stroop test wordreading correct	108.07 (12.22)	118	108.10 (13.01)	152	105.46 (21.15)	58	0.38
Stroop test colorreading correct	74.46 (21.80)	120	78.25 (23.23)	153	75.75 (23.94)	57	0.48

*p < 0.05

a, b : Sidak의 동일 집단군

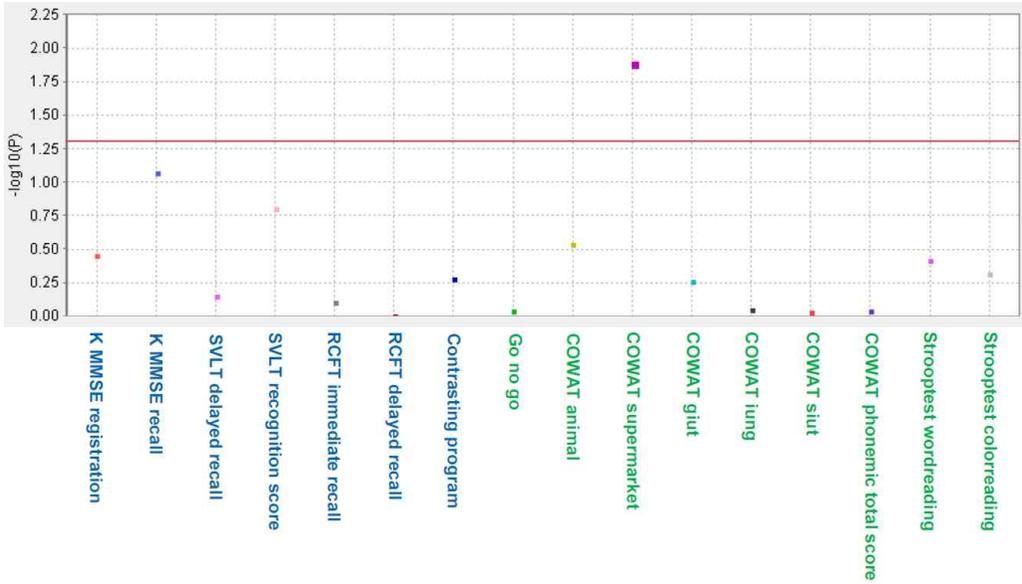


그림 6. rs4848905의 additive model에서 인지기능과 연관성 분석

rs4848905의 additive model에서 신경심리 검사 점수와 연관성 분석 결과를 $-\log_{10}$ 값으로 치환하여 나타냈다. x축은 신경심리 검사 항목, y축은 P값을 나타낸다. 통계적 유의수준($P < 0.05$)보다 작은 값은 신경심리 검사 항목과 SNP간의 연관성이 있다.

3.2. rs4848905와 인지기능의 연관성 분석 (Dominant model)

알츠하이머병에 연관성 있는 SNP인 rs4848905와 정상 대조군 인지기능의 연관성을 dominant model에서 분석하였다. rs4848905는 CC형과 CT형이 295명, TT형 60명으로 나뉘며, 각 유형에 따라 집단으로 구성하여 신경심리검사 점수의 평균을 비교 분석하였다 (표 10). 그 결과, 기억력 영역과 전두엽/집행기능 영역에서 연관성을 나타내지 않았다. 유전형에 따른 모든 검사 항목의 평균점수는 차이를 나타내지 않았다 (그림 7).

	CC		CT/TT		p-value
	Mean (SD)	N	Mean (SD)	N	
K-MMSE registration	2.98 (0.12)	130	2.96 (0.18)	225	0.29
K-MMSE recall	2.00 (0.89)	130	2.15 (0.85)	221	0.17
SVLT delayed recall	5.51 (2.43)	130	5.39 (2.01)	225	0.40
SVLT recognition score	20.50 (1.89)	128	20.22 (2.00)	224	0.14
RCFT immediate recall	12.31 (6.42)	127	13.34 (6.30)	221	0.49
RCFT delayed recall	12.68 (6.13)	125	13.00 (5.77)	221	0.82
Contrasting program	19.71 (0.95)	129	19.69 (1.09)	224	0.67
Go-No-Go	18.52 (3.31)	129	18.47 (2.96)	223	0.66
COWAT animal	13.71 (4.20)	130	14.07 (4.35)	225	0.68
COWAT supermarket	15.01 (5.17)	130	14.63 (4.96)	225	0.21
COWAT giut	6.51 (3.69)	126	6.63 (3.91)	216	0.80
COWAT iung	6.44 (4.21)	125	6.79 (4.09)	216	0.61
COWAT siut	6.95 (4.35)	125	7.04 (4.22)	216	0.74
COWAT phonemic total score	19.96 (11.32)	125	20.48 (11.32)	216	0.97
Stroop test wordreading correct	108.07 (12.22)	118	107.37 (15.68)	210	0.67
Stroop test colorreading correct	74.46 (21.80)	120	77.57 (23.39)	210	0.38

표 10. rs4848905의 dominant model에 따른 인지기능의 연관성 분석

p>0.05

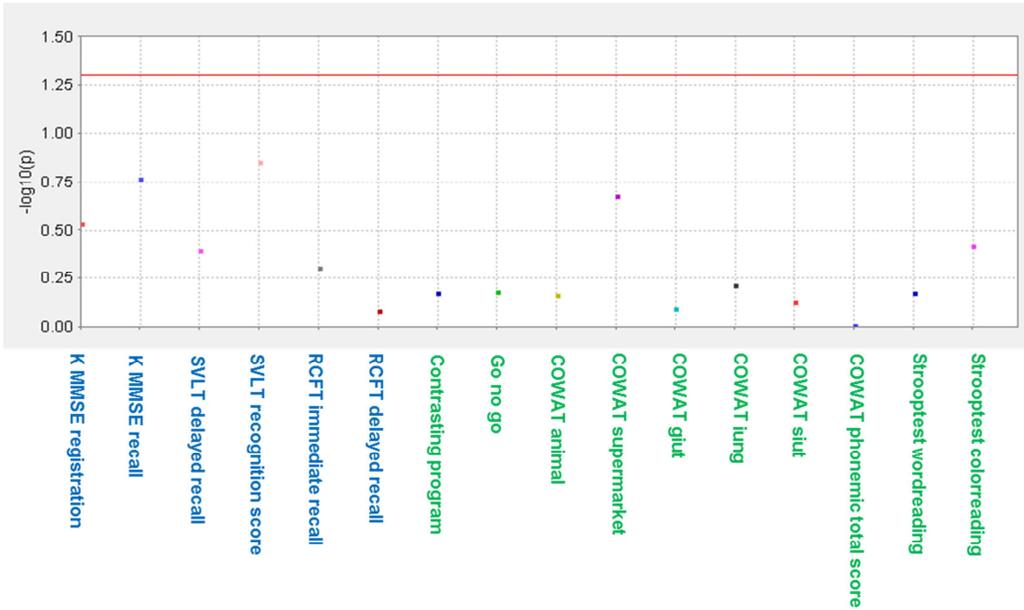


그림 7. rs4848905의 dominant model에서 신경심리검사 점수와 연관성 분석

rs4848905의 dominant model에서 신경심리 검사 점수와 연관성 분석 결과를 $-\log_{10}$ 값으로 치환하여 나타냈다. x축은 신경심리 검사 항목, y축은 p값을 나타낸다. 통계적 유의수준($P < 0.05$)보다 작은 값은 신경심리 검사 항목과 SNP간의 연관성이 있다.

3.3. rs75609651와 인지기능의 연관성 분석 (Dominant model)

알츠하이머병에 연관성 있는 SNP인 rs75609651와 정상 대조군 인지기능의 연관성을 dominant model에서 분석하였다. rs75609651는 AA형과 AG형이 339명, GG형 18명으로 나뉘었으며, 각 유형에 따라 집단으로 구성하여 신경심리검사 점수의 평균을 비교 분석하였다 (표 11). 그 결과, 전두엽/집행기능 영역 중 COWAT의 iung, suit, phonemic total score 평균점수에 연관성을 보였으며, p-value는 각각 0.02, 0.03, 0.02이다. COWAT iung은 AA형(6.59 ± 4.03)을 가질 경우 보다 AG/GG형(8.27 ± 5.65)을 가질 때 평균점수가 1.68점 높게 나왔다. COWAT suit은 AA형(6.93 ± 4.19)을 가질 경우 보다 AG/GG형(8.44 ± 5.34)을 가질 때 평균점수가 1.51점 높게 나왔다. COWAT phonemic total score는 AA형(20.08 ± 11.11)을 가질 경우 보다 AG/GG형(24.27 ± 14.26)을 가질 때 평균점수가 4.19점 높게 나왔다 (그림 8).

	AA		AG/GG		p-value
	Mean (SD)	N	Mean (SD)	N	
K-MMSE registration	2.97 (0.16)	339	3.00 (0.00)	18	0.48
K-MMSE recall	2.10 (0.86)	335	2.05 (0.99)	18	0.88
SVLT delayed recall	5.38 (2.19)	339	6.38 (1.53)	18	0.08
SVLT recognition score	20.32 (1.98)	336	20.38 (1.41)	18	0.84
RCFT immediate recall	12.73 (6.42)	332	13.36 (5.59)	18	0.55
RCFT delayed recall	12.87 (5.96)	330	13.19 (5.14)	18	0.66
Contrasting program	19.70 (1.05)	337	19.77 (0.73)	18	0.71
Go-No-Go	18.47 (3.14)	336	18.94 (1.76)	18	0.53
COWAT animal	1396 (4.32)	339	13.66 (3.72)	18	0.76
COWAT supermarket	14.76 (5.10)	339	15.05 (3.45)	18	0.93
COWAT giut	6.53 (3.80)	326	7.55 (4.17)	18	0.14
COWAT iung	6.59 (4.03)	325	8.27 (5.65)	18	0.02*
COWAT siut	6.93 (4.19)	325	8.44 (5.34)	18	0.03*
COWAT phonemic total score	20.08 (11.11)	325	24.27 (14.26)	18	0.02*
Stroop test wordreading correct	107.56 (14.78)	312	109.22 (7.19)	18	0.55
Stroop test colorreading correct	76.77 (23.16)	314	72.88 (16.32)	18	0.45

표 11. rs75609651의 dominant model에 에 따른 인지기능의 연관성 분석

*p < 0.05

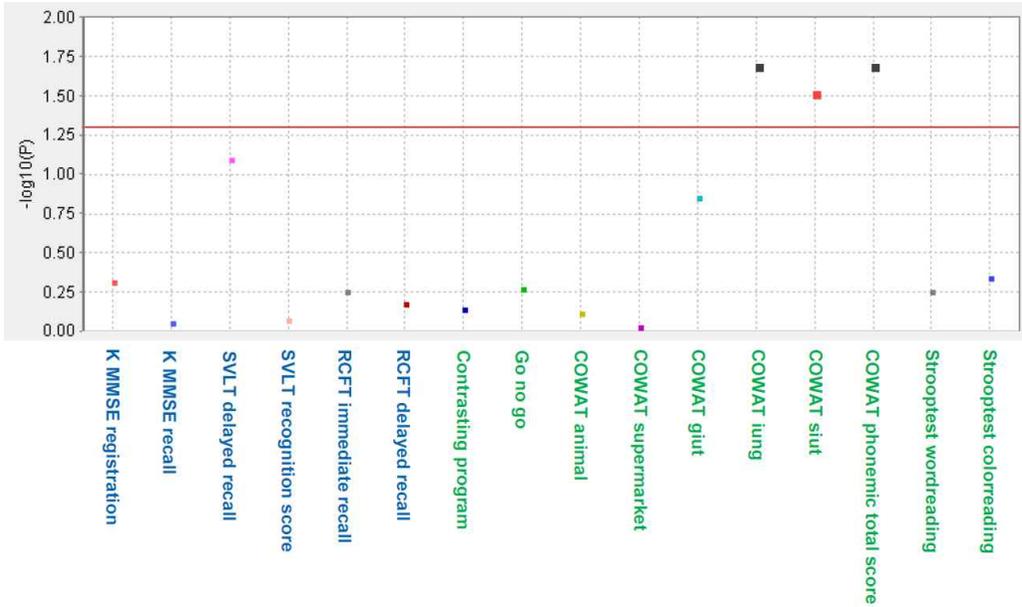


그림 8. rs75609651의 dominant model에서 신경심리검사 점수와 연관성 분석

rs75609651의 dominant model에서 신경심리 검사 점수와 연관성 분석 결과를 $-\log_{10}$ 값으로 치환하여 나타냈다. x축은 신경심리 검사 항목, y축은 p값을 나타낸다. 통계적 유의수준($P < 0.05$)보다 작은 값은 신경심리 검사 항목과 SNP간의 연관성이 있다.

IV. 고찰

알츠하이머병은 기억력 저하와 퇴행성 행동증상을 유발하는 신경장애이다. 또한, 뇌에 아밀로이드 베타의 축적으로 인한 신경세포의 사멸을 일으키는 병리학적 증상을 가진다. 고령화 사회로 인한 노인 인구의 증가는 그에 따른 노인성질환의 증가를 동반한다. 현재 알츠하이머병은 완치 할 수 있는 방법이 없으며, 알츠하이머병 진단 및 치료, 관리 등은 고비용으로 해가 지날수록 점차 증가하고 있다. 그렇기에 알츠하이머병이 발병하기 전에 미리 예측하여 조기진단을 해야 하며, 그에 따른 약물 치료 등을 통해 증상을 늦추는 것이 중요하다. 알츠하이머병을 조기에 진단하는 기술 개발에는 여러가지 방법들이 연구되고 있으며, 그 중 SNP를 이용한 방법도 있다. 알츠하이머병은 발생원인 및 발생기작에 관여하는 위험 유전인자가 매우 많고 복합적인 질병이기 때문에 특정한 SNP만을 연구하는 것 보다는 전장 유전체에 존재하는 SNP를 조사하는 것이 더욱 효과적이다. 전장 유전체 연관성 분석(GWAS)을 통해 알츠하이머병 연관 SNP를 발견하고, 이를 통해 알츠하이머병 발병을 예측하는데 효과적인 방향을 제시할 수 있다.

본 연구는 모집군 568명(남자 224명, 여자 344명)을 대상으로 하여 알츠하이머병환자군 211명과 정상 대조군 357명으로 나누어 GWAS 연구를 하였다. 368585개의 SNPs를 로지스틱 회귀분석을 통해 알츠하이머병과 SNPs의 연관성을 분석하였으며, 또한 알츠하이머병에 영향력이 있다고 이미 알려져 있는 환경적 요인과 유전적 요인인 성별과 연령, ApoE ϵ 4 등을 보정하여 분석하였다. ApoE는 현재까지 가장 많은 연구가 이루어진 유전자로 알츠하이머병 발병률을 높이는 가장 강력한 유전자로 알려져 있으며, ApoE의 유형 중 ϵ 4의 경우 알츠하이머병의 위험도를 증가시키는 것으로 보고되었다 [19]. ApoE ϵ 4는 신경섬유매듭(neurofibrillary

tangles)을 형성시켜 알츠하이머병을 유발시키는 것 외에도 [8, 9], 아밀로이드 베타 단백질과 결합하여 축적시키며, 신경세포의 손상 후 회복되는 과정에서 시냅스의 가소성을 촉진, 신경 독성, 타우 단백질의 인산화, 신경염증 반응을 일으키는 것으로 알려져 있다 [20]. 본 연구에서 368585개의 SNP를 분석한 결과, $p < 1 \times 10^{-5}$ 기준으로 8개의 SNPs인 rs429358, rs4420638, rs769449, rs75605691, rs519113, rs10051239, rs34342646, rs2075650 등이 알츠하이머병과 유의한 연관성을 보였다. 염색체 19번에 위치한 rs429358은 알츠하이머 발병요인으로 잘 알려진 ApoE 유전자에서 rs7412와 함께 유전자형을 결정하는 SNP이다. 알츠하이머병 환자군 211명 중 TT형, TC형, CC형이 각각 117명, 74명, 15명이었고, 정상 대조군은 각각 290명, 59명, 1명이었다. p-value는 7.92×10^{-12} , OR 값은 3.50 이다. 염색체 19번에 위치한 또 다른 SNPs, rs4420638는 APOC1P1 유전자에 위치하며, rs769449는 ApoE 유전자, rs519113과 rs34342646은 PVRL2 유전자, rs2075650은 TOMM40 유전자에 위치한다. 염색체 9번에 위치한 rs75605691은 VPS13A-AS1 유전자에 위치하며 p-value는 6.60×10^{-8} 이며, OR은 4.88이다. 염색체 5번에 위치한 rs10051239는 ERGIC1 유전자에 위치하며 p-value는 2.07×10^{-6} 이며, OR은 0.48이다. 8개의 SNP 중 6개의 SNP가 염색체 19번에 위치하며, 모두 알츠하이머병에 연관성을 나타냈다. 그러나 이것은 ApoE 유전자와 연관되어 있는 유전자에 속해 있는 SNP이기 때문에 알츠하이머병에 연관성을 나타냈다.

알츠하이머병과 선별된 368585개의 SNPs의 연관성을 발병요인으로 알려진 성별과 연령, ApoE ε4 등을 보정하여 additive model에서 분석하였을 때, 2개의 SNPs이 알츠하이머병과 유의한 연관성이 나타났다. 염색체 2번에 위치한 rs4848905는 CNTNAP5 유전자에 위치하고 p-value는 1.07×10^{-6} 이며, OR값은 0.47이다. 염색체 9번에 위치한 rs75605691은 VPS13A-AS1 유전자에 위치하고

p-value는 2.09×10^{-6} 이며, OR은 4.55이다.

rs4848905가 위치한 CNTNAP5 (Contactin Associated Protein-Like 5) 유전자는 neurexin family로 알려져 있다. 이러한 유전자들은 신경세포에서 세포부착 및 수용체로 작용하며, 중추신경계의 정확한 발달과 적절한 기능을 할 수 있게 하는 cell adhesion 및 세포간 상호작용에 관여한다. 관련된 질병으로는 난독증, 정신분열증, 자폐증 등이 있다. 현재 CNTNAP5 유전자와 알츠하이머병 관련한 논문은 없으나, 같은 family에 속해 있는 CNTNAP2 유전자가 알츠하이머병에 연관 있으며 [21], CNTNAP2 유전자의 SNP 또한 알츠하이머병의 연관성이 밝혀졌다 [22].

rs75605691는 VPS13A-AS1(Vacuolar protein sorting-associated protein 13A Antisense RNA 1) 유전자에 위치해 있다. VPS13A 유전자는 후기골지망(trans-Golgi network) 의 엔도솜(endosomes), 리소솜(lysosomes)과 원형질막(plasma membrane) 등 단백질 순환(protein cycling)의 제어에 관여한다고 알려져 있다. 관련 질병으로는 상염색체 열성 장애, 유극적혈구증가무도병 등이 있다. 현재 VPS13A 유전자와 알츠하이머병 관련한 연구는 없었다. 그러나 다른 뇌 질환인 유극적혈구증가무도병에 관련 있다는 연구가 보고 되어 있다.

다음으로, 알츠하이머병에 연관성을 나타낸 rs4848905와 rs75605691을 이용하여 정상 대조군의 인지기능에 연관성을 가지는 지에 대해 분석하였다. rs4848905는 additive model을 이용하여 분석 하였을 때, 전두엽/집행기능 영역(Frontal/Executive function domain) 중 COWAT (Controlled Oral Word Association Test)의 supermarket 평균점수 비교에서 p-value가 0.01로 연관성이 나타났으나, dominant model을 이용하여 분석하였을 때는 어떠한 검사에서도 연관성이 나타나지 않았다.

rs75605691는 additive model을 이용하여 분석하기에는 minor allele

homozygote의 빈도가 적절하지 않아서 분석을 할 수 없었다. Dominant model을 이용하여 분석 하였을 때는, 전두엽/집행기능 영역 중 COWAT의 iung, suit, phonemic total score 평균점수 비교에서 각각 p-value가 각각 0.02, 0.03, 0.02로 연관성이 나타났다.

2개의 SNPs 모두 전두엽/집행기능 영역 중 COWAT에서 연관성을 보였다. COWAT는 어휘목록과 의미기억에 있는 정보를 전략적으로 탐색하고 인출하는 능력을 알아보는 검사이다 [23]. 실시가 매우 간편하고 검사 시간이 짧으면서도 두뇌 손상에 민감하다는 이점을 지니고 있다 [24]. 또한, 알츠하이머성 치매가 초기 수준부터 미묘한 집행기능영역의 손상을 보인다는 연구 결과도 있다 [25].

총 368585개의 SNP 중 한국인의 알츠하이머병과 연관성이 있는 SNP로는 rs4848905 (CNTNAP5), rs75609651 (VPS13A-AS1)로 나타났으며, 기존의 GWAS 연구를 통해 알츠하이머병과 연관 있다고 밝혀진 rs429358 (ApoE) 또한 연관성을 확인 할 수 있었다. 그러나 SOL1, CLU, PICALM, CR1, BIN1 등의 유전자에 속한 SNP은 본 연구에서는 연관성을 나타내지 않았다. 이는 서양인과 한국인의 유전적 차이 때문에 다른 결과가 나왔을 것으로 여겨진다. 본 연구에서 제시한 SNP를 이용한 재연 연구 및 후보 유전자와의 연관성에 관한 연구가 계속적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구는 한국인의 알츠하이머병을 대상으로 한 GWAS 분석을 진행한 연구이다. GWAS 분석을 통해 밝혀진 유전자 및 SNP은 알츠하이머병의 유전적 요인을 규명할 뿐만 아니라, 이 유전자 및 SNP를 통해 진단기술의 개발과 개인의 위험 대립유전자(risk allele)의 보유를 파악함으로써 알츠하이머병의 예방, 진단 및 치료 등의 전반적인 영역에서 효과적으로 이용될 수 있을 것이라 기대 된다. 또한 향후 GWAS 분석으로 발굴된 또 다른 후보유전자들에 대한 전체 염기서열 분석을 수행

하여 알츠하이머병 관련 유전자 변이 발굴함으로써 알츠하이머 발병을 개인별 예측 프로그램 개발에 필요한 유전학적 자료로 활용하고자 한다.

V. 참고 문헌

[1] Burns A, Iliffe S (5 February 2009). "Alzheimer's disease".

[2] "Dementia Fact sheet N°362". World Health Organization. April 2012. Retrieved 28 November 2014.

[3] Hardy J, Allsop D. Amyloid Deposition as the Central Event in the Aetiology of Alzheimer's Disease. Trends in Pharmacological Sciences. 1991;12(10):383–88.

[4] Mudher A, Lovestone S. Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands?. Trends in Neurosciences. 2002;25(1):22–26.

[5] Wenk GL. Neuropathologic Changes in Alzheimer's Disease. The Journal of Clinical Psychiatry. 2003;64

[6] Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population (JAMA, 1995)

[7] Prevalence of Alzheimer's disease and other dementias in an elderly urban population Relationship with age, sex, and education. (Neurology, 1991)

[8] Prince JA, Zetterberg H, Andreasen N, Marcusson J, Blennow K, ApoE epsilon4 allele is associated with reduced cerebrospinal fluid levels of Abeta42. Neurology, 2004;62(11);2116-2118.

[9] Cedazo-Minquez A, Popescu BO, Blanco-Millan JM, Akterin S, Pei J-J, Winblad B, Cowburn RF, Apolipoprotein E and beta-amyloid (1-42) regulation of glycogen synthase kinase-3beta. *Journal of Neurochemistry*, 2003;87(5);1152-1164.

[10] Green, Eric D., Mark S. Guyer, and National Human Genome Research Institute. "Charting a course for genomic medicine from base pairs to bedside." *Nature* 470.7333 (2011): 204-213.

[11] Hindorff LA, MacArthur J (European Bioinformatics Institute), Morales J (European Bioinformatics Institute), Junkins HA, Hall PN, Klemm AK, and Manolio TA. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. Available at: www.genome.gov/gwastudies. Accessed [date of access].

[12] BUSH, William S.; MOORE, Jason H. Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8.12: e1002822.

[13] INTERNATIONAL HAPMAP 3 CONSORTIUM, et al. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature*, 2010, 467.7311: 52-58.

[14] LJ Engle, CL Simpson, JE Landers, Using high-throughput SNP technologies to study cancer. *Oncogene*, 2006;13;25(11):1594-1601.

[15] Manolio TA; Guttmacher, Alan E.; Manolio, Teri A. (July 2010). "Genomewide association studies and assessment of the risk of disease". *N. Engl. J. Med.* 363 (2): 166–76. doi:10.1056/NEJMra0905980. PMID 20647212.

[16] 추수경, 최희정, and 유장학. "일지역 여성노인의 우울과 인지기능의 관계에 대

한 연구." 동서간호학연구지 16.2 (2010): 131-137.

[17] 조영남, 정재훈, and 김홍근. "뇌졸중 환자의 인지기능 장애에 관한 연구." 대한 인지재활학회지 1.1 (2012): 37-50.

[18] 신준현, 치매진단: 신경심리검사. *Korean Journal of Family Medicine*, 2010;31:253-266.

[19] Green, Robert C., et al. "Disclosure of APOE genotype for risk of Alzheimer's disease." *New England Journal of Medicine* 361.3 (2009): 245-254.

[20] van Abel, Daan, et al. "Direct downregulation of CNTNAP2 by STOX1A is associated with Alzheimer's disease." *Journal of Alzheimer's Disease* 31.4 (2012): 793.

[21] Hirano, Atsushi, et al. "A genome-wide association study of late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population." *Psychiatric genetics* 25.4 (2015): 139-146.

[22] Sauzéon, Hélène, et al. "Verbal fluency output in children aged 7–16 as a function of the production criterion: Qualitative analysis of clustering, switching processes, and semantic network exploitation." *Brain and Language* 89.1 (2004): 192-202.

[23] Baldo, Juliana V., and Arthur P. Shimamura. "Letter and category fluency in patients with frontal lobe lesions." *Neuropsychology* 12.2 (1998): 259.

[24] Chen, P., et al. "Cognitive tests that best discriminate between presymptomatic AD and those who remain nondemented." *Neurology* 55.12 (2000): 1847-1853.

[25] Small, Brent J., et al. "The course of cognitive impairment in preclinical Alzheimer disease: three-and 6-year follow-up of a population-based sample." Archives of neurology 57.6 (2000): 839-844.

감사의 글

먼저 석사 과정 동안 연구에 매진할 수 있도록 아낌없는 격려와 지도를 해주신 이건호 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한, 공동지도 교수님으로써 많은 관심과 격려 해주신 이정섭 교수님께 감사드립니다. 그리고 저의 논문 지도와 심사를 맡아주시고, 소중한 충고와 조언을 해주셨던 윤성명 교수님, 최규영 교수님, 은택범 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

본 학위 논문 연구를 할 수 있었던 배경이 되었던 조선대학교 치매 국책연구단, 광주시 치매 예방 관리센터 관련된 모든 분들께도 감사의 말씀 전합니다.

논문 실험 과정 중 생소한 분야인 통계를 지도 해주시고, 항상 격려해주신 이장재 교수님, 발표 때마다 항상 부족한 제게 힘이 되어주시고, 조언 해주신 이우제 교수님, 언제나 제가 생각하지 못했던 부분을 일깨워 주시고, 가르침 주신 최유용 교수님께 진심으로 감사드립니다.

실험실의 모든 일을 솔선수범하여 동기와 후배들을 챙겨준 지수와, 성실한 연구 자세를 몸소 보여준 사랑이, 항상 밝은 모습으로 힘을 주던 근석이, 언어적 문제에 부딪혔을 때 항상 도움을 분 바라지, 통계 분석 시 꼭 필요한 컴퓨터 프로그램에서 많은 도움을 준 타밀까지 모두 감사합니다. 그리고 석사 졸업생 민지연니와, 연구원으로 재직중인 효은이에게 감사드립니다.

고등학교 때부터 내 고민을 항상 들어주며 용기를 준 하나, 부정적인 제게 15년째 친구로 지내면서 항상 긍정적인 말로 위로해준 지에에게, 아프고 우울해 할 때면 항상 달려와준 유진이에게 감사드립니다.

마지막으로 제가 대학원을 다니면서 연구에만 집중할 수 있게 환경을 만들어 주시고 항상 믿음으로 지켜 봐주신 부모님과, 가족이 있었기에 포기하지 않고 연구할 수 있었습니다. 정말 고맙고 사랑합니다.

제 곁에서 늘 믿어주시고 응원해 주신 모든 분께 감사 인사 드립니다. 제게 주신 믿음과 가르침이 헛되지 않게 어느 분야, 어느 곳에서도 항상 최선을 다하는 사람, 믿음이 가는 사람이 되겠습니다. 감사합니다.