

PTPRD* (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Delta)*유전자 다형성과 조현병에서 항정신병약물에 의한 하지불안증후군**고려대학교 의과대학 정신건강의학교실,¹ 고려대학교 의학전문대학원 의학과,²가천대학교 의과대학 정신건강의학교실³정호진^{1,2} · 조철현¹ · 강승걸³ · 이현정¹**The *PTPRD* (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Delta) Gene Polymorphism and Antipsychotic-Induced Restless Legs Syndrome in Schizophrenia**Ho-Jin Jung, BS^{1,2}, Chul-Hyun Cho, MD, PhD¹, Seung-Gul Kang, MD, PhD³ and Heon-Jeong Lee, MD, PhD¹¹Department of Psychiatry, Korea University College of Medicine, Seoul,²Department of Medicine, Korea University School of Medicine, Seoul,³Department of Psychiatry, Gil Medical Center, Gachon Medical School, Incheon, Korea

Objectives : The previous genome-wide association studies have revealed several candidate genes for restless legs syndrome (RLS). The *PTPRD* (protein tyrosine phosphatase receptor type delta) gene is one of the candidate genes for RLS. The occurrence of antipsychotic-related RLS could also be attributable to differences in genetic susceptibility. This study aimed to investigate whether *PTPRD* polymorphism is associated with antipsychotic-related RLS in schizophrenia.

Methods : We assessed symptoms of antipsychotic-induced RLS in 190 Korean schizophrenic patients and divided the subjects into two groups according to the International Restless Legs Syndrome Study Group diagnostic criteria : (i) subjects that met all of the criteria (n=44) and (ii) the remaining subjects who were not considered to be RLS patients (n=146). *PTPRD* rs462664 was genotyped by PCR in 190 individuals. The χ^2 -test was performed to compare differences between two groups.

Results : The frequencies of genotype ($\chi^2=1.31$, $p=0.519$) of the *PTPRD* rs462664 did not differ significantly between schizophrenic patients with and without RLS. The difference of allele frequencies ($\chi^2=1.30$, $p=0.25$) of the *PTPRD* rs462664 between the schizophrenic patients with and without RLS were not significant.

Conclusion : These results suggest that *PTPRD* gene polymorphism does not play a major role in susceptibility to antipsychotic-related RLS in schizophrenia. This finding suggests that antipsychotic-induced RLS may have a different pathogenesis compared to primary RLS. (Korean J Schizophr Res 2014;17:43-46)

Key Words : Restless legs syndrome · *PTPRD* · Schizophrenia.

서 론

하지불안증후군(restless legs syndrome : RLS)은 주로 다리의 불편한 감각과 다리를 움직이고 싶은 충동이 움직이지 않고 가만히 있거나 저녁과 밤에 주로 발생하는 질환으로,

Received: April 2, 2014

Accepted: April 5, 2014

Address for correspondence: Heon-Jeong Lee, Department of Psychiatry, Anam Hospital, Korea University College of Medicine, 73 Incheon-ro, Seongbuk-gu, Seoul 136-705, Korea

Tel: 02-920-6721, Fax: 02-929-7679

E-mail: leehjeong@korea.ac.kr

본 연구는 보건복지부 재원으로 보건산업진흥원의 연구비지원으로 수행된 것임(H111C1901).

흔히 수면장애를 유발하며 낮 시간의 피로와 삶의 질의 저하 등의 문제를 일으킨다. RLS은 일차성과 이차성으로 나눌 수 있다. 일차성 RLS은 보통 30세 이하에서 첫 증상이 발생하고 유전성이 크며 흔히 가족력을 가진다. 일차성 RLS 환자 45~60%은 RLS 가족력이 있으며 기존의 연관연구(linkage study)에서 RLS에 대한 여러 개의 유전자좌가 밝혀졌으며,^{1,2)} 최근 백인종에서 환자-대조군 연구디자인을 통해 시행한 전장유전체연관성연구(genome-wide association studies : 이하 GWAS)에서 *MEIS1*, *BTBD9*, *MAP2K5* 등의 새로운 RLS의 후보유전자들이 보고되었다.^{3,4)}

이차성 RLS은 임신, 만성신부전, 당뇨병, 철분 결핍, 신경장

에 등과 연관이 있으며 항정신병약물, 항우울제 같은 약물에 의해서도 발생한다. 항정신병약물에 의해 발생하는 RLS에 관한 증례들이 보고되고 있으며,⁵⁾ 조현병 환자의 RLS 유병율이 건강한 대조군에 비해 2배 이상인 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 항정신병약물에 의해 야기된 RLS는 도파민 수용체 차단과 연관 있을 것으로 추정된다. 또한 항정신병약물을 투약하는 환자 중 일부에서만 RLS가 발생한다는 점에서 개인의 생물학적 유전적 취약성이 연관 있을 것으로 추정된다.

최근 GWAS에서 *PTPRD* (protein tyrosine phosphatase receptor delta) 유전자가 RLS와 연관이 있음을 보고되었다. Schormair 등은 2458명 RLS 환자와 4759명 대조군에서 RLS와 *PTPRD* 유전자의 두 개 SNP들(rs462664, rs1975197) 간 연관성을 확인했다.⁷⁾ Yang 등도 15개 가족에서 온 144명의 가족 구성원을 대상으로 한 연구에서 RLS와 *PTPRD* rs1975197 상당한 연관성을 확인하였고, 189명 환자와 560명 대조군에서도 *PTPRD* rs1975197 와 RLS와 연관성이 높다고 보고되었다.⁸⁾ 하지만 *PTPRD*의 RLS에 미치는 영향에 대한 기전은 아직 잘 밝혀지지 않고 있다. 본 연구는 일차성 RLS의 위험 인자로 밝혀진 *PTPRD* 유전자가 조현병 환자에서 항정신병약물에 의해 발생하는 이차성 RLS의 취약성과 연관되어있는지를 확인하고자 시행되었다.

방 법

연구 대상

본 연구는 고려대학교 안암병원을 비롯한 3개의 협력병원들에서 항정신병 약물로 치료받은 22~66세의 조현병 환자 190명을 대상으로 하였다. 모든 대상은 숙련된 정신건강의학과 의사로부터 DSM-IV 기준에 의하여 조현병으로 진단받았다. 연구 참여 전 연구의 목적을 설명하고 사전 동의를 구하였다. 연구 프로토콜은 고려대학교 안암병원 기관윤리위원회의 승인을 받았다. 제외 기준은 다음과 같다. 1) 환자가 정신병적 증상이 심하거나 흥분, 무언증 등으로 협조가 안 될 때 2) 환자가 지적장애, 신경학적 질환 또는 두부 손상, 또는 알코올 및 물질 남용 등의 다른 질환이 공존할 때 3) 환자가 심각한 내과적 질환이나 빈혈, 신부전, 신경근병증, 말초신경병증 등의 RLS와 혼동할 수 있는 내과적 상태가 있을 때 등의 경우에는 제외하였다. 또한 동일한 연구대상을 이용하여 다른 유전자의 관련성을 비교한 연구를 보고한 바 있다.⁹⁻¹⁴⁾

증상 평가

RLS의 증상은 International Restless Legs Syndrome Study

Group (IRLSSG)를 사용하여 평가하였다. 모든 대상에서 다음의 4가지 RLS 진단기준에 대해 질문하였다. 1) 다리를 움직이고 싶은 충동을 느끼는지, 2) 가만히 쉴 때 증상이 악화되는지, 3) 움직임으로써 증상이 완화되는지, 4) 저녁이나 밤에 증상이 악화되는지 여부. 이 4개의 진단기준을 모두 만족하면 RLS 군으로 분류하였으며 하나라도 기준을 만족하지 못하면 non-RLS 군으로 분류하였다. 관절염이나 신경병증, 손상, 혈관질환, 자세로 인한 불편감, 수면개시로 인한 느낌, 단순 경련, 정신병적 흥분, 환측 등에 의한 불편한 감각은 RLS의 증상에서 제외하였다. RLS 증상의 심각도는 IRLSSG 척도를 사용하여 측정하였다.¹⁵⁾ 약물로 인한 좌불안석증(akathisia)은 Barnes Akathisia Rating Scale로 측정하였으며 좌불안석증의 진단은 Barnes Global Score 2점 이상일 때로 하였다. 불면은 Athens Insomnia Scale (AIS)로 평가하였으며 불면의 정도는 AIS-8의 모든 항목들의 전체 점수로 정량화하였다.¹⁶⁾ Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS)로 정신병적 증상을 평가하였다.¹⁷⁾

유전자 분석

피험자로부터 5~10 mL의 정맥혈을 채취하여 EDTA 처리된 시험관에 보관하였으며, NucleoSpin[®] Blood DNA Extraction Kit (Macherey-Nagel, Germany)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. 이전 연구와 한국인 minor allele의 빈도에 기반하여 *PTPRD* 유전자중에 rs 462664 SNPs를 후보마커로 선정했다. 중합효소 연쇄반응은 96-well BioRad CFX 96 Real time Polymerase Chain Reaction System (BioRad, Hercules, CA)에서 reaction 당 volume 20 μ L에서 수행되어졌다. Reaction mixture는 1.5 μ L genomic DNA, 각 primer 200 μ m [rs462664 : 5'-CTG TAA TGG AAA TAA TAA ATC AAT TTT GAA AAG-3' rs462664 : 5'-CTG TAA TGG AAA TAA TAA ATC AAT TTT GAA GAG-3'], 1 \times Sso Fast EvaGreenSuper Mix (Bio-Red), 그리고 증류수가 포함되었다. 증폭 protocol은 98 $^{\circ}$ C/3 min 시작하여 이후 98 $^{\circ}$ C/10 s와 58 $^{\circ}$ C/20 s 39 cycle 하였다. 95 $^{\circ}$ C/10s와 65 $^{\circ}$ C/10 s로 시작한 후 melting curve는 65에서 95 $^{\circ}$ C까지 온도가 cycle 당 0.3 $^{\circ}$ C씩 증가하면서 수행되어졌다. Melting profile은 Bio-Red Precision Melt Software를 통해 분석되어졌다.

통계분석

Hardy-Weinberg 평형여부는 Chi-square test를 통해서 검증되었다. 범주형 데이터는 χ^2 검정, 혹은 이분형 로지스틱을 통해 분석되어졌으며 연속형 데이터는 t-검정, 일원배치 분

Table 1. *PTPRD* rs462664 genotype and allele frequencies of the study participants

<i>PTPRD</i> (rs462664)	Genotypes N (%)			Allele frequencies		
	A/A	A/G	G/G	A	G	
RLS group (n=44)	4 (9.1)	19 (43.2)	21 (47.8)	$\chi^2=1.31$,	0.31	0.69
Non-RLS group (n=146)	20 (13.7)	69 (47.3)	57 (39.0)	$p=0.519$	0.37	0.63
						$\chi^2=1.30$ $p=0.25$

산분석법으로 분석되어졌다. 모든 분석은 SPSS를 이용하여 수행되어졌다.

결 과

190명의 조현병 환자들 중에서 IRLSSG 진단 기준에 따라 44명(23.2%)의 환자들이 RLS로 진단되었고, 나머지 146명(76.8%)명은 non-RLS 군으로 분류되었다. 두 군들의 인구통계학적, 임상적 자료들은 이전의 논문들에서 이미 기술되었다.⁽¹⁰⁾ 이를 다시 간단히 서술하면 성별, 나이, 신장, 체중, 유병기간, 투약 기간, 투약되는 항정신병약물의 chlorpromazine 등가 용량 등은 두 군 간의 유의한 차이는 없었다. 그러나 IRLS, BPRS, AIS-8, BAS 점수들은 RLS 군이 non-RLS 군에 비해 유의하게 더 높았다(IRLS : $t=9.75$, $p<0.001$; BPRS : $t=2.27$, $p<0.05$; AIS-8 : $t=6.8$, $p<0.001$; BAS : $t=5.1$, $p<0.001$). 연구 대상 환자에서 *PTPRD* rs462664 유전자형 빈도는 Hardy-Weinberg 평형에서 벗어나지 않았다($\chi^2=0.011$, $p=0.92$). 각군에서 *PTPRD* rs462664 유전자형 빈도($\chi^2=1.31$, $p=0.519$)와 대립유전자 빈도($\chi^2=1.30$, $p=0.25$) 유의한 차이가 없었다(표 1).

고 찰

본 연구는 조현병 환자에서 항정신병약물에 의해 유발된 RLS와 *PTPRD* 유전자의 다형성의 관련성을 살펴보았으나 유의한 연관성은 발견하지 못하였다. 이는 과거의 일차성 RLS에서 연구에서 연관성에 관한 보고와는 다른 결과이다.^(7,8) 본 연구에 참여한 모든 조현병 환자들은 항정신병약물 복용하고 있었으며, 항정신병약물과 연관된 RLS는 도파민 수용체를 항정신병약물이 차단함으로써 도파민 저하를 일으키는 것과 연관될 가능성이 있으며, 일차성 RLS와 다른 기전에 연관될 가능성을 추정할 수 있다. 하지만 정신병약물에 의한 하지 불안증군의 발생이 약물의 양과 관련 없으며 RLS의 증상 있는 환자와 없는 환자에서 항정신병약물의 노출에 차이가 없었다는 점을 고려할 때,⁽⁶⁾ 개인 취약성이 중요함을 시사한다.

항정신병약물과 연관된 RLS는 호소하는 증상에서도 일차성 RLS와는 차이가 있는데, 일차성 RLS 환자가 가장 흔하게 호소하는 증상은 환자가 신체에 전기가 흐르는 듯한 느낌을

받거나 저린 감각이다. 반면 항정신병약물을 사용하는 조현병 환자군에서 가장 많이 나타나는 RLS 증상은 사지가 떨리거나 안절부절 못함으로 조현병환자의 RLS 증상은 항정신병약물에 의해 유발되는 좌불안석증 증상과 유사한 면이 있다.⁽⁶⁾ 좌불안석증은 잘 알려져 있는 대표적인 항정신병약물 부작용이다. 주로 하지에서 발생하는 운동성 안절부절못함으로 움직이려는 욕구, 불안감 같은 증상을 자주 동반한다. 조현병 환자에서 항정신병약물에 의해 유발된 좌불안석증과 RLS의 가장 큰 차이점은 증상의 일주기 변동성이다. 좌불안석증은 운동성 안절부절증, 불안감, 움직이려는 욕구 등 증상이 하루 종일 지속되고 일주기 변동성이 없다. 반면 RLS는 다리를 포함한 사지에서 움직이려는 욕구, 다리의 불편한 감각 등의 증상이 가만히 쉴 때 생기며 저녁과 밤에 더 악화되는 일주기 변동성이 있다.

이전의 일차성 RLS 유전연구에서 관련성이 보고된 *PTPRD*에 대하여 살펴보면, *PTPRD* 단백질은 type II receptor like protein tyrosine phosphatase family에 속하며 cell adhesion motif를 가진 세포바깥 부위와 두 개의 phosphatase 영역을 가진 세포내 부위로 이루어져 있다.⁽¹⁸⁾ 과거 연구에서 강한 관련성이 보고된 *PTPRD* 유전자의 rs462664 SNP는 태아와 성인 뇌 조직에서 발현되는 10개의 noncoding exon으로 구성된 5' UTR region에 위치한다.^(19,20) 유전자결핍 모델 쥐 연구에서 이 단백질은 태아 발생 동안 축삭돌기 발달과 운동신경의 중단에 작용한다는 것이 알려져 있다.⁽¹⁸⁾ 그러나 *PTPRD*가 어떠한 기전을 통하여 RLS와 연관되는지에 대하여는 아직 밝혀지지 않았다. 최근 대만에서 시행된 연구에서 말기신부전환자에 발생한 RLS와 *PTPRD* rs462664가 연관성이 있음을 보고하였으므로,⁽²¹⁾ 이차성 RLS의 발생도 원인에 따라 생물학적 취약성에 관여하는 유전자가 다를 가능성도 생각해볼 수 있겠다.

본 연구의 제한점은 다음과 같다. 첫째, 연구대상이 다양한 종류의 항정신병약물을 복용하였으며 약물의 복용을 통제하지 않았다. 그러나 복용 약물의 유형(전형적 vs. 비전형적) 및 등가용량이 있어 RLS군과 non-RLS 두 군간의 유의한 차이가 없었다. 둘째, 본 연구는 같은 연구진이 이전에 보고된 같은 연구대상을 이용한 연구의 후속연구로서 통계적 측면에서 다중비교의 문제가 제기될 수 있다. 하지만, 이전의 결과와

같이 실험을 시행한 것이 아니고, 이전의 다른 연구자의 연구 결과에 기반한 다른 가설 하에 시행된 것이라는 점에서 엄격한 다중비교를 적용하는 것은 적절하지 않을 것으로 판단된다. 셋째, 상대적으로 표본수가 작아 본 연구의 결과를 일반화시키기에는 한계를 지닌다. 향후 이러한 한계점을 고려하여 큰 표본수를 이용한 추가적인 연구가 진행된다면 조현병 환자에서 항정신병약물과 연관된 RLS의 유전학적 병태생리를 밝히는 데 도움이 될 것이다.

결론

최근 하지불안증후군(restless legs syndrome : RLS)의 유전적 요인에 관한 여러 보고들이 있었다. 본 연구의 목적은 조현병 환자에서 항정신병약물 사용시 생긴 RLS의 발생에도 *PTPRD* 유전자다형성이 관련되는지를 알아보는 것이다. RLS의 진단은 190명의 조현병 환자중에 RLS로 진단된 환자(n=44)와 RLS가 아닌 환자(n=146)에서 *PTPRD* 유전자 rs 462664의 유전형 및 대립유전자 빈도를 분석하였다. 각군에서 *PTPRD* rs462664 유전형빈도($\chi^2=1.31$, $p=0.519$)와 대립유전자 빈도($\chi^2=1.30$, $p=0.25$) 차이가 없었다. 본 연구 결과는 표본수의 한계가 있지만 *PTPRD* 유전자가 조현병 환자에서 항정신병약물에 의해 발생한 RLS와 연관성이 없음을 보여주었다. 이는 항정신병약물에 의한 RLS는 일차성 RLS와 다른 병리기전이 관여할 가능성을 시사한다.

중심 단어: 하지불안증후군 · *PTPRD* · 조현병.

REFERENCES

- 1) Lavigne GJ, Montplaisir JY. Restless legs syndrome and sleep bruxism: prevalence and association among Canadians. *Sleep* 1994; 17:739-743.
- 2) Desautels A, Turecki G, Montplaisir J, Xiong L, Walters AS, Ehrenberg BL, et al. Restless legs syndrome: confirmation of linkage to Chromosome 12q, genetic heterogeneity, and evidence of complexity. *Arch Neurol* 2005;62:591-596.
- 3) Winkelmann J, Schormair B, Lichtner P, Ripke S, Xiong L, Jalilzadeh S, et al. Genome-wide association study of restless legs syndrome identifies common variants in three genomic regions. *Nat Genet* 2007;39:1000-1006.
- 4) Stefansson H, Rye DB, Hicks A, Petursson H, Ingason A, Thorgerisson TE, et al. A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep. *N Engl J Med* 2007;357:639-647.
- 5) Kang SG, Lee HJ, Kim L. Restless legs syndrome and periodic limb movements during sleep probably associated with olanzapine. *J Psychopharmacol* 2009;23:597-601.
- 6) Kang SG, Lee HJ, Jung SW, Cho SN, Han C, Kim YK, et al. Characteristics and clinical correlates of restless legs syndrome in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007;31:1078-1083.
- 7) Schormair B, Kemlink D, Roeske D, Eckstein G, Xiong L, Lichtner P, et al. *PTPRD* (protein tyrosine phosphatase receptor type delta) is associated with restless legs syndrome. *Nat Genet* 2008;40:946-948.
- 8) Yang Q, Li L, Chen Q, Foldvary-Schaefer N, Ondo WG, Wang QK. Association studies of variants in *MEIS1*, *BTBD9*, and *MAP2K5/SKOR1* with restless legs syndrome in a US population. *Sleep Med* 2011;12:800-804.
- 9) Kang SG, Lee HJ, Choi JE, Park JH, Lee SS, Han CS, et al. Possible association between G-protein $\beta 3$ subunit C825T polymorphism and antipsychotic-induced restless legs syndrome in schizophrenia. *Acta Neuropsychiatrica* 2007;19:351-356.
- 10) Kang SG, Lee HJ, Choi JE, Park YM, Park JH, Han C, et al. Association study between antipsychotics-induced restless legs syndrome and polymorphisms of dopamine D1, D2, D3, and D4 receptor genes in schizophrenia. *Neuropsychobiology* 2008;57:49-54.
- 11) Cho CH, Kang SG, Choi JE, Park YM, Lee HJ, Kim L. Association between Antipsychotics-Induced Restless Legs Syndrome and Tyrosine Hydroxylase Gene Polymorphism. *Psychiatry Investig* 2009; 6:211-215.
- 12) Kang SG, Park YM, Choi JE, Lim SW, Lee HJ, Lee SH, et al. Association study between antipsychotic-induced restless legs syndrome and polymorphisms of monoamine oxidase genes in schizophrenia. *Hum Psychopharmacol* 2010;25:397-403.
- 13) Kang SG, Lee HJ, Park YM, Yang HJ, Song HM, Lee YJ, et al. The *BTBD9* gene may be associated with antipsychotic-induced restless legs syndrome in schizophrenia. *Hum Psychopharmacol* 2013;28: 117-123.
- 14) Jung JS, Cho CH, Yoon HK, Kang SG, Park YM, Lee HJ, Kim L. Association between Antipsychotic-Related Restless Legs Syndrome and the *RORA* Gene Polymorphism in Schizophrenia. *Korean J Schizophr Res* 2013;16:93-97.
- 15) Walters AS, LeBrocq C, Dhar A, Hening W, Rosen R, Allen RP, et al. Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med* 2003;4: 121-132.
- 16) Soldatos CR, Dikeos DG, Paparrigopoulos TJ. The diagnostic validity of the Athens Insomnia Scale. *J Psychosom Res* 2003;55:263-267.
- 17) Lykke J, Hesse M, Austin SF, Oestrich I. Validity of the BPRS, the BDI and the BAI in dual diagnosis patients. *Addict Behav* 2008; 33:292-300.
- 18) Uetani N, Chagnon MJ, Kennedy TE, Iwakura Y, Tremblay ML. Mammalian motoneuron axon targeting requires receptor protein tyrosine phosphatases sigma and delta. *J Neurosci* 2006;26:5872-5880.
- 19) Pulido R, Krueger NX, Serra-Pagès C, Saito H, Streuli M. Molecular characterization of the human transmembrane protein-tyrosine phosphatase delta. Evidence for tissue-specific expression of alternative human transmembrane protein-tyrosine phosphatase delta isoforms. *J Biol Chem* 1995;270:6722-6728.
- 20) Sato M, Takahashi K, Nagayama K, Arai Y, Ito N, Okada M, et al. Identification of chromosome arm 9p as the most frequent target of homozygous deletions in lung cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;44:405-414.
- 21) Lin CH, Chen ML, Wu VC, Li WY, Sy HN, Wu SL, et al. Association of candidate genetic variants with restless legs syndrome in end stage renal disease: a multicenter case-control study in Taiwan. *Eur J Neurol* 2014;21:492-498.