

계놈 의과학의 새로운 전개

유전적 상관해석을 중심으로

멘델의 유전법칙을 따르지 않는 질환의 원인 유전자를 검색하기 위하여, 이환동맥대법을 비롯한 가계연쇄해석을 사용하였으나 최근 방법론적인 한계로 새로운 해석법이 등장하였으며 계놈의 와이드한 유전적 상관해석이 진행 중이다

Human Genome Project의 완료로 인간 계놈 서열은 공식적으로 정보입수가 가능하며,

이 서열을 이용하여 새로운 해석법에 관한 여러 가지 검증작업이 다각도로 진행중이다.

계놈 와이드한 해석을 충분한 디자인 없이 하는 것은 매우 무모하므로,

본 고에서는 새로운 해석법에 관한 간단한 지식과 디자인을 제시하고자 한다.

>> 서론

여러 세대를 이어오는 가계도를 이용한 연쇄해석은 많은 질환 원인 유전자의 추적·동정을 가능하게 하였다. Huntington chorea나 Dystrophia myotonica를 비롯하여, 혈우병, 일부 암에 이르는 400여종에 가까운 질환을 연쇄 해석법으로 원인 유전자를 mapping 하였으며, 이 중 약 10%에 해당하는 유전자를 동정하였다. 위와 같이 대상집단에서 드물게 일어나는 질환과 달리 당뇨병이나 류마티스(만성관절염), 순환기 질환, 정신 질환 등 흔한 질환인 경우 그 유전성이 명확하게 밝혀져 원인 유전자를 동정하지 않았다. 두 가지의 차이는 기본적으로 원인 유전자의 수(종류)와 질환의 효력에 의존한다. 환자 수가 적은 경우는 원인 유전자의 수가 작지만 강한 효과를 가지므로 marker의 유전자형과 질환의 표현형 분리, 전달 양식이 멘델 유전성에 따르므로 그 특성을 이용하여 특정 염색체 부분에 원인을 쉽게 찾을 수 있다. 반대로 질환 표현형을 표시하여 한 가계 내에서 전달되는 특정 marker 유전자형을 발견하는 것도 용이하다. 한편 흔히 발병하는 질환인 경우 원인 유전자의 종류가 많고 그 효과도 약해 가계 내에서 충분한 질환 표현형을 얻지 못하고 많은 marker와의 대응 연결이 필요하여 원인 유전자의 규명이 어렵다. 질환 표현형과 원인 유전자의 대응이 동일하지 않아, 이런 유전자를 원인 유전자라고 부르지 않고 질환 감수성을 규정 한다면 의미에서 감수성 유전자로 부르며, 이러한 질환을 비멘델 유전성 질환으로 총칭한다.

비멘델 유전성 질환은 감수성 유전자의 종류가 많으면, 가계의 연쇄 해석을 곤란하게는 하지만 불가능하지는 않다. 현재 대상 가계의 샘플 구조를 연구한 이환동맥대해석법이 고안되어 여러 비멘델 유전성 질환에 적용되고 있다. 그러나 이환동맥대해석법은 검출 감도와 해상도에 문제가 있어, 보다 유효한 방법의 개발이 요구되고 있다. 인간 계놈 프로젝트도 비멘델 유전성 질환, 특히 많은 암 감수성 유전자 검색에서 이러한 문제를 개선하기 위하여 시작하였으나, 인간 계놈 프로젝트가 크게 성과를 올린 1990년대 이후에서야 이환동맥대법을 보완하는 유전적 해석법이 등장하기 시작하였다.

I. 계놈와이드 유전적 상관 해석

비멘델 유전성 질환의 유전적 해석에서 이환동맥대법을 보완하기 위하여 유전적 상관 해석이 등장하였다. 실질적으로 유전적 상관 해석은 새로운 방법이 아니며, 혈액형이나 HLA형 등 유전 marker 해석에 사용하는 방법으로 연쇄 해석 이전에도 사용되었다. 유전적 상관 해석에는 질환 유전자와 그 주변의 marker 대립 유전자가 두 유전자좌에 의존한 집단 중에 전달되기 쉽다. 다른 유전자좌의 대립 유전자가 서로 당기는 관계가 균형을 갖고 있다는 가정하에 불균형 상태를

검정하므로, 연쇄 불균형 해석이라고 한다. 이 방법은 공정이 간편하고, 해상도와 검출감도가 높아 많이 이용되고 있지만, 검정 수에 따라 위양성(false positive) 발생율이 높아, 다수의 marker를 이용하여 확실한 결과를 얻는 것은 불가능하다(표 1에 이환동맥대해석과 유전적 상관해석을 비교하였다). 이러한 문제점 때문에, 후보 유전자의 기능적 측면이나 가계연쇄해석에서 어떤 사전 정보가 있는 경우에만 이용되는 경우가 많았다.

그 후 인간 계놈 프로젝트 완료가 예측된 1990년대 말에, 인간 계놈 중 많은 유전 marker를 이용하여 유전적 상관 관계를 해석하는 모델이 검증되었다²⁾. 그 결과 계놈 와이드하게 충분한 수의 marker를 이용하여 위음성(false negative)을 보정하여, 이환동맥대해석법보다 더 효율적으로 계놈 와이드한 질환 유전자를 검색 할 수 있는 가능성을 보였다. 특히 약한 효과를 나타내는 질환 유전자 검색에 유용하다. 즉, 이환동맥대법은 충분한 통계검출력을 유지하기 위해 아주 많은 시료 수가 필요하며, 시료 수가 적을 경우 모든 질환 유전자를 검색할 수 없으나, 유전적 상관 해석은 적당한 시료 수로도 충분히 검색할 수 있다. 계놈 와이드 유전적 상관 해석은 획기적인 발상의 전환이었지만, 그 후 사용하고 있는 marker 수나 종류, 유전자형 판정 기술에 논의의 중심이 집중되고 있다. 이 모델은 질환 유전자 다형 그 자체가 이용 되는 것을 전제로 하고 있으나 이러한 전제가 적절하지 않아 다른 대안을 지속적으로 제안하고 있다^{3,4)}. 특히 질환 유전자 다형 그 자체의 사전 정보를 얻지 못한 상태에서 marker 유전자를 이용할 때 발생하는 문제점에 주의 해야 한다⁵⁾.

II. 계놈와이드 유전적 상관해석의 가이드라인

유전적 상관 해석은 높은 검출감도와 표리 관계로 높은 위양성 발생률이 본질적인 문제점으로 작용하고 있다. 특히 대상 집단의 유전적 배경이 틀리거나, 시료 집단에서 비롯하는 위양성은 심각한 문제이다⁶⁾. 또한 위양성을 너무 엄격하게 보정하면 반대로 위음성이 야기될 수 있다. 이러한 위양성·위음성을 피하기 위하여 다양한 모델이 제안되고 있다.

1. 가능한 한 환자와 정상인을 균질한 집단에서 채취한다.

이것은 유전적 상관 해석에서 당연한 전제이지만, 실제로 대상 집단이 "유전적으로 균질하다" 라고 하는 평가법이 확립되어 있지 않다. 일본인 집단의 경우 유전적으로 비교적 균질한 집단이라고 하지만 상세한 검증이 없어 주의가 필요하다. 많은 유전 marker를 가지고 실제로 어느 정도 균질한가를 사전에 조사할 필요가 있다. 또한 반대로 대상집단이 유전적으로 불균일하다는 가능성을, 환자와 연계되지 않은

표 1 이환동맥대상관해석과 유전적 상관해석의 비교

적용	게놈 와이드	1 Mb 이내 영역
필요한 시료 수	많다(수 백~천 이상)	적다(100~1 Mb)
해상도	낮다(10 Mb)	높다(1 b~1 Mb)
감출 감도	낮다	높다
위양성율	중간	높다
위음성율	높다	낮다*

* 보정을 하면 높아진다.

marker에 관해 조사하는 방법도 유효하다.

2. 대상 집단의 연쇄 불균형 패턴을 검증한다.

이것은 유전적 균질성의 사전조사와도 유사하며 대상 집단에서 염색체상에 어느 정도 연쇄 불균형이 있는지, 어떤 패턴을 나타내는가를 사전 조사 해야 한다. 일반적으로 연쇄 불균형은 물리적인 단순 거리로 생각하지만, 진화적 요인의 영향도 많이 받아 그 패턴은 항상 일정하지 않다. HLA 영역처럼 알려진 영역을 모델로 질한 유전자 검색에 미치는 영향 등을 사전 조사하여 충분한 정보를 추적하여야 한다⁸⁾.

3. 환자와 그 친척을 이용한다(그림 1).

Control로 이용하는 일반인을 환자의 근친자에서 채취한다. 이 시료 집단을 이용하여 이미 일반 집단에서 상관 관계가 알려진 marker로 재검정 한다(일반 집단에서도 검정이 필요). 이 방법에서 환자의 양친을 이용한 방법을 전달불균형검정(TDT법)이라 하고, 위양성을 낮추는 매우 효과적인 방법이다⁹⁾. 이런 환자는 한 사람이라도 가능하지만, 복수를 샘플링 할 수 있으면 이상적이다(이 의미에서 이환동맥대 샘플은 이상적인 TDT샘플로 볼 수 있다). 또 TDT법을 복수로 대립하고 있는 유전자좌에 적용한 보다 효율적인 방법도 등장하고 있다. 대상 환자가 늦게 발병하는 경우(지발성) 양친에서는 찾을 수 없으므로, 환자와 그 건강한 형제를 이용하는 변형법도 알려져 있으며 S-TDT법이라 한다¹⁰⁾. TDT 해석법은 샘플링하기가 힘들지만 실제로 위양성을 피하는 가장 효과적인 방법으로, 이 방법으로 재검정 되지 않는 결과는 인정하지 않는 경향이 있다¹¹⁾. 또 이와는 별도로 복수의 환자를 가진 복수의 대가계에서 환자와 일반인을 샘플링하는 것도 유효하다¹²⁾.

4. 복수 샘플링 집단을 조합해서 해석한다.

위양성을 보정하지 않고 복수 세트의 일반 샘플집단에서 여러 번 검정하여, 최종적으로 근친 control 구조를 가지는 샘플 집단에서 재검정하는 방법이 있다¹³⁾. 이 방법은 충분한 수의 샘플을 복수 집단에서 나누어 상관 관계를 보이는 marker set를 순차적으로 검정하는 방법으로, 엄격한 보정없이도 위양성을 줄일 수 있다. 이 방법을 이용하여 위양성 marker를 줄인 후, 최종적으로는 TDT법 등으로 검정하여 위양성에서 상관을 식별할 수 있다.

III. 게놈 의과학의 미래

유전적 상관 해석은 유전역학의 한 분야로, 연쇄 해석을 주로 하는 멘델 유전학과는 상이하다. 신뢰할 수 없는 방법이 부적절하게 적용된 경우도 있었으나, 유전적 상관 해석에 관한 충분한 지식으로, 위양성·위음성을 피하기 위해서 게놈 와이드한 질환 유전자 검색이 기대되고 있다. 저자는 류마티스나 당뇨병, 건이나 자폐증 등 비멘델 유

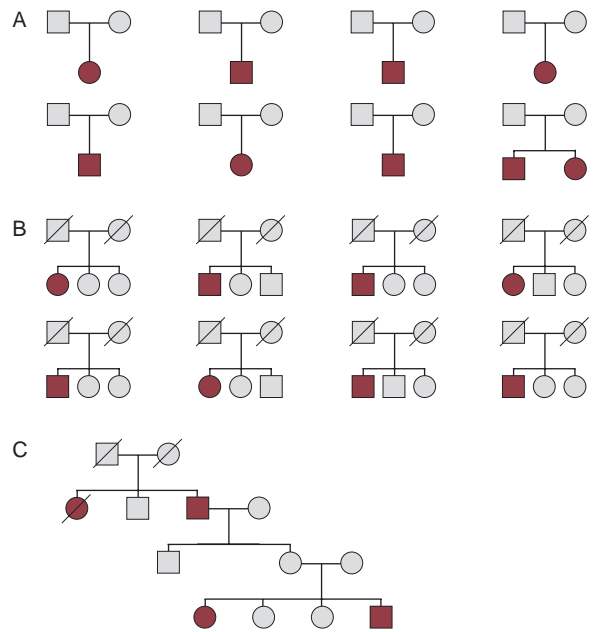


그림 1 유전적 상관 해석에서 이용하는 근친자의 샘플링 전달불균형검정(TDT법)의 경우, 환자(적색)와 건강한 양친을 샘플링한다(A). 환자는 복수로 채취해야 이환동맥대가계의 이상적인 집단이 될 수 있다. 지발성 질환인 경우, 양친을 얻을 수 없는 경우가 많으므로 복수의 건강한 형제를 샘플링한다(B). 또 복수 환자와 건강한 사람을 복수의 대가계에서 샘플링하여 이용하는 방법도 있다(C). 이런 샘플링은 유전적 상관 해석의 위양성을 피하기 위해서 반드시 해야 하며 일반 집단 샘플보다 검출력이 떨어진다.

전성 질환을 대상으로 게놈상에 평균 해상도 100 kb에 위치한 micro satellite marker를 이용하여 전술한 설계에 따라 게놈 와이드 유전적 상관 해석을 할 계획이다.

>> 결론

고전적인 연쇄 해석은 확실한 해석방법으로 많은 멘델 유전성 질환에 적용되어 왔다. 그러나 비멘델 유전자 질환일 경우, 특별히 설계된 구조 샘플을 이용해도 해상도와 검출 감도에 문제가 나타난다. 다유전자성 비멘델 유전성 질환의 발생 메커니즘을 명백히 밝히는 것은 관여하는 유전자 모두를 동정할 때까지 본질적으로 불가능하며, 기존의 해석법으로는 많은 유전자좌를 검출할 수 없다. 높은 해상도와 검출 감도를 가진 유전적 상관 해석은 높은 위양성율로 인하여 신뢰할 수 없는 해석법으로 인식되고 있으나, 신중한 디자인으로 게놈 와이드한 유전적 상관 해석은 향후 게놈 의과학 분야의 주류가 될 것으로 예상된다.

● 참고 문헌

- 1) Risch N, et al: *Science*(1996) **273**: 1516-1517
- 2) Camp NJ: *Am J Hum Genet*(1997) **61**:1424-1430
- 3) Muller-Myhsok B, et al: *Science*(1997) **275**: 1328-1329
- 4) Collins FS, et al: *Science*(1997) **278**: 1580-1581
- 5) Abel L, et al: *Am J Hum Genet*(1998) **63**: 664-667
- 6) Gelernter J, et al: *JAMA*(1993) **269**: 1673-1677
- 7) Pritchard JK, et al: *Am J Hum Genet*(1999) **65**: 220-228
- 8) Herr M, et al: *Hum Mol Genet*(2000) **9**: 1291-1301
- 9) Spielman RS, et al: *Am J Hum Genet*(1993) **52**: 506-516
- 10) Spielman RS, et al: *Am J Hum Genet*(1998) **62**: 450-458
- 11) Altschuler D, et al: *N Engl J Med*(1998) **338**: 1626
- 12) Risch N, et al: *Genome Res*(1998) **8**: 1273-1288
- 13) Barcellos L, et al: *Am J Hum Genet*(1997) **61**: 734-747