

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

多巴胺代謝酵素 MAO-B 及 COMT 基因多形性與早發型巴金森氏病
易感性之相關研究

(Association Study of the Dopamine-metabolizing Enzymes,
MAOB and *COMT* Gene Polymorphism with the Susceptibility of
Young-Onset Parkinson's Disease

計畫類別： 個別型計畫

計畫編號： NSC89-2314-B002-566

執行期間： 89年 08月 01日至 90年 07月 31日

計畫主持人：吳瑞美

協陳同光主 持 人： 陳德

和

研究生 郭佳薇

執行單位：台大醫學院神經科

中華民國 90年 10月 31日

中文摘要

巴金森氏病(巴病)的病因(etiology)至今未明，目前認為基因與環境產生的交互作用是最有可能的致病機轉。由於巴病的主要病理變化是中腦多巴胺神經元退化，因此和多巴胺代謝有關的酵素，如 MAOB, COMT 在基因上的變異性可能會影響個體染患巴病的感受性。最近我們完成了一個大規模的病例對照研究(case-control study)收錄約 200 名原發性，老年性巴病患者及 200 名年齡、性別及籍貫相對稱的對照組。我們的研究發現 MAOB G 基因形在 PD 病人有較高之比例(2.2 倍)。再依據年齡作分層分析，發現小於 60 歲的 PD 病人，MAOB G 基因形才和 PD 致病感受性有關。雖然 COMT 基因形之分布在 PD 及對照組是相同的，但是 COMT^L 基因形卻能加強 MAOB G 基因形之作用，危險對比值會增加到 4.8 倍 (Wu et al.,2001)。根據上述之研究結果，我們提出這樣的假設，若 MAOB G 和 COMT^L 基因形與巴病的發病有關，那麼這樣的相關性在早發型巴病可能更為明顯。因此本研究計劃進一步探討多巴胺代謝酵素 MAOB 及 COMT 兩種酵素基因形對早發型巴病發病之影響及他們之間的相互作用。

本研究為一病例對照研究，共收入 54 位青年型巴金森氏病患者（發作年齡介於 21-50 歲之間）及 55 位年齡、性別互相配合的對照組，以口腔刷收集研究對象之口腔黏膜細胞後再萃取其 DNA，以 PCR-RFLP 的研究方法鑑定 COMT 及 MAO-B 的基因型，同時以問卷收集研究對象相關環境危險因子的暴露情形。本研究結果顯示 MAO-B 在第 13 插入子的基因多形性與青年型巴金森氏病的關聯顯示一種趨勢，A 基因序列可能是一個危險因子（危險對比值為 2.167），且此因素在男性中的影響較大（危險對比值為 5.571），此結果與先前針對台灣地區巴金森氏病患者所做的研究結果相異，此不一致的結果或許提供了青年型與老年型巴金森氏病的病因可能不盡相同的訊息。另外，COMT 及 CYP2E1 的基因多形性則與青年型巴金森氏病不具相關性。

關鍵詞：青年型巴金森氏病，MAO-B，COMT 基因多形性

Abstract

The etiology of Parkinson's disease (PD) is uncertain. Genetic variation in the enzymes involved in the inactivation of dopamine, such as monoamine oxidase B (MAO-B) and catechol-O-methyltransferase (COMT) may influence the individual susceptibility to PD. Recently, we found that PD patients having homozygous G genotype have elevated risk of 2.2-fold that the control subjects in the development of PD. Moreover, the frequency of homozygotes G genotype was higher in PD patients who were younger than 61 years old, and a significantly synergistic enhancement was noted in PD patients harboring genotypes of COMT^L and variant G of MAOB (OR=4.8). Accordingly, these effect might be pronounced in patients with young-onset PD(YOPD), making them susceptible to earlier disease onset. Thus, in the present study, we performed a case-control study, recruited 54 patients with YOPD (age of onset is between 21-50) and 55 controls matched by sex and age, to investigate the association of these two dopamine metabolizing gene polymorphisms with the PD susceptibility and their potential interactions in young-onset PD patients.

Our study reveals a trend between genetic polymorphism of MAO-B in intron 13 and susceptibility of YOPD. A allele may be a risk factor for YOPD (odds ratio=2.167) and it influences more in men (odds ratio=5.571) than in women. These results are contrary to our previous study in old-onset PD. In addition, genetic polymorphisms of COMT was not

associated with the susceptibility of YOPD. These results might suggest that young-onset PD patients might share different etiology with the old-onset PD patients.

Keywords: Parkinson's disease, young-onset, MAO-B, COMT, polymorphism

緣由與目的

巴金森氏病 (Parkinson's disease, 以下簡稱巴病) 的病因至今仍是未知, 目前認為基因與環境產生的交互作用是最有可能的致病機轉, 其中基因因素可由巴病具有某些程度的家族遺傳史而窺知其重要性, 而對於青年型巴病 (young-onset Parkinson's disease) 患者而言, 基因因素被預期在疾病形成的過程中, 扮演著更為重要的角色, 因而使得患者較早發病。巴金森氏病是一種好發於老年的神經退化性疾病, 患者通常是在 50 到 60 歲之間發病, 而診斷時的平均年齡為 60 歲, 因此, 在 50 歲之前發病是較不尋常的, 一般稱為早發型巴病 (early-onset Parkinson's disease, EOPD)。早發型巴病還可以再進一步細分為青年型巴病 (young-onset Parkinson's disease, YOPD), 係指在 21-50 歲之間發病的患者, 及幼年型巴金森氏症候群 (juvenile Parkinsonism, JP), 係指在 20 歲之前發病的患者。許多研究發現青年型巴病與老年型巴病在臨床特徵、疾病進展及藥物療效上是具有差異的。一般說來, 青年型巴病的症狀是以運動徐緩及肌肉僵硬為主, 且較常發生肌張力不全所引起的抽筋, 疾病進展較慢, 發生癡呆 (dementia) 的現象也較少見, 而且自主神經系統如腸、膀胱及血壓的功能平衡也能維持較久。此外, 就左多巴的療效而言, 青年型巴病患者在治療初期的效果較老年型巴病患者為佳, 但較容易、也較早出現運動方面的併發症, 包括異動症 (dyskinesia) 及藥效波動 (motor fluctuations)。

近年來一些研究報告指出參與了多巴胺 (dopamine) 的分解酵素, 如 catechol-*O*-methyltransferase (COMT) 及 monoamine oxidase B (MAO-B) 基因多形性與巴病的致病感受性有關。最近我們完成了一個大規模的病例對照研究 (case-control study) 收錄約 200 名原發性, 老年性巴病患者及 200 名年齡、性別及籍貫相對稱的對照組。我們的研究發現 MAOB G 基因形在 PD 病人有較高之比例 (2.2 倍)。再依據年齡作分層分析, 發現小於 60 歲的 PD 病人, MAOB G 基因形才和 PD 致病感受性有關。雖然 COMT 基因形之分布在 PD 及對照組是相同的, 但是 COMTL 基因形卻能加強 MAOB G 基因形之作用, 危險對比值會增加到 4.8 倍 (Wu et al., 2001)。根據上述之研究結果, 我們提出這樣的假設, 若 MAOB G 和 COMTL 基因形與巴病的發病有關, 那麼這樣的相關性在早發型巴病可能更為明顯。

本研究為一病例對照研究 (a case-control study), 目的探討研究台灣地區青年型巴金森氏病患者的 COMT 及 MAO-B 基因多形性之分布情形與一般正常人是否有所不同, 並進一步研究分析某特定基因多形性是否為罹患青年型巴病的危險因子。

研究方法

本研究是一病例對照研究。而每位納入研究的對象, 必須完成下列各項: 一、基本資料的記錄: 二、基因型之鑑定: 利用無菌的口腔刷採集研究對象之 DNA 樣本, 再以聚合酵素鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 為基礎的限制片段長度多形性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 分別進行 COMT, MAOB 的基因型鑑定。三、巴病環境危險因子的調查: 經由問卷調查研究對象之巴病環境危險因子的暴露情形, 如抽煙、喝酒、飲用井水、農田、工廠及農藥之暴露等 (見附錄), 以供

在分析病例組與對照組基因型態資料時，調整兩組其他的危險因子以減少潛在干擾因素對資料分析的影響，並進一步探討危險因子與基因型態的關係。

以 Excel 建立檔案，所有資料皆在鍵入後檢查一次，以確保鍵入無誤，對於實驗判讀結果有疑問的個案，便重新再作一次基因鑑定，以進行結果判讀。資料的分析以 SPSS 7.0 版或 SAS 6.12 版完成，所有的檢定均為雙尾檢定，統計顯著相關標準訂為 $\alpha = 0.05$ 。

結果與討論

1. 早發型巴金森氏病與 COMT 基因多形性的關聯

病例組及對照組 COMT 基因型及對偶值的分佈列於表 1，在病例組中有 1 人的 COMT 基因型鑑定失效。

表 1 病例組與對照組之 COMT 基因型及對偶值的分佈[#]

項 目 / 組 別	病例組 N=53 人數 (%)	對照組 N=55 人數 (%)	OR ^a (95% CI ^b)	p 值
基因型				
				0.724
野生型	37 (69.8)	36 (65.5)	1.22 (0.544-2.738)	0.629
異型合子	12 (22.6)	16 (29.1)	0.713 (0.300-1.698)	0.445
突變型	4 (7.5)	3 (5.5)	1.415 (0.301-6.646)	0.713
對偶值				
				0.834
Val-108	86 (81.1)	88 (80.0)	1.075 (0.548-2.110)	
Met-108	20 (18.9)	22 (20.0)	0.930 (0.474-1.826)	

[#] 以卡方檢定或費氏檢定比較兩組之分佈

a. OR: odds ratio, 危險對比值

b. CI: confidence interval, 信賴區間

由 COMT 的對偶值來看，將對偶值分為 Val-108 及 Met-108 (意即野生型代表有兩個 Val-108、異型合子代表有一個 Val-108 及一個 Met-108、而突變型代表有兩個 Met-108) 時，在統計學上未達到顯著的差異，而危險對比值也看不出任何趨勢。

2. 早發型巴金森氏病與 MAO-B 基因多形性的關聯

病例組及對照組 MAO-B 基因型及對偶值的分佈列於表 2，在病例組中有 4 人的 MAO-B 基因型鑑定失效。

表 2 病例組與對照組之 MAO-B 基因型及對偶值分佈[#]

項目/組別	病例組 N=50 人數 (%)	對照組 N=55 人數 (%)	OR ^a (95% CI ^b)	p 值
基因型				
				0.173
野生型	43 (86.0)	41 (74.5)	2.098 (0.769-5.719)	0.143
異型合子	5 (10.0)	6 (10.9)	0.907 (0.259-3.180)	0.879
突變型	2 (4.0)	8 (14.5)	0.245 (0.049-1.213)	0.097
對偶值				
				0.094
A	65 (89.0)	60 (78.9)	2.167 (0.865-5.428)	
G	8 (11.0)	16 (21.1)	0.462 (0.184-1.156)	

以卡方檢定或費氏檢定比較兩組之分佈

a. OR: Odds ratio, 危險對比值

b. CI: confidence interval, 信賴區間

由 MAO-B 的基因型來看，當分為野生型、異型合子及突變型三種時，兩組的分佈並未達到統計學上顯著的差異， p 值為 0.173，當將異型合子與野生型或突變型合併為一組時， p 值分別減小為 0.097 及 0.143，雖然仍不具統計學上的意義，但能看出兩組分佈差異的一個趨勢，野生型在病例組出現的頻率較高 (86% *v.s.* 74.5%) 而突變型則在對照組出現的頻率較高 (14.5% *v.s.* 4%)，此時，野生型與突變型的危險對比值分別為 2.098 及 0.245。

由 MAO-B 的對偶值來看，將對偶值分為 A 及 G 時，在統計學上也未達到顯著的差異， p 值為 0.094，但也能看出兩組分佈差異的一個趨勢，A 基因序列在病例組出現的頻率較高 (89% *v.s.* 78.9%) 而 G 基因序列則在對照組出現的頻率較高 (21.1% *v.s.* 11%)，此時，A 與 G 的危險對比值分別為 2.167 及 0.462。

表 3 病例組與對照組之 MAO-B 基因型在不同性別的分佈[#]

項目/組別	病例組	對照組	OR ^a (95% CI ^b)	p 值
	N=50 人數 (%)	N=55 人數 (%)		
男性				0.121
A	26 (96.3)	28 (82.35)	5.571 (0.628-49.448)	
G	1 (3.70)	6 (17.65)	0.179 (0.020-1.593)	
女性				0.693
AA	17 (73.91)	13 (61.90)	1.744 (0.484-6.280)	0.393
AG	5 (21.74)	6 (28.57)	0.694 (0.176-2.734)	0.601
GG	1 (4.35)	2 (9.52)	0.432 (0.036-5.145)	0.599

以卡方檢定或費氏檢定比較兩組之分佈

a. OR: odds ratio, 危險對比值

b. CI: confidence interval, 信賴區間

由於 MAO-B 位於性染色體 (X 染色體) 上, 男性並無所謂的異型合子, 其基因型不是 A 就是 G, 因此, 我們以性別將 MAO-B 基因型做分層分析, 結果見表 5-5 及圖 5-2。由表中可見 MAO-B 基因多形性的分佈在男性似乎有較大的差異, 兩組 G 的分佈相差了約 14%, p 值為 0.121, A 與 G 的危險對比值分別為 5.571 及 0.179, 而在女性則看不到顯著的差異, 危險對比值也看不出任何趨勢。

另外, 也將 MAO-B 基因型及對偶值分別以父母親的出生地及各個環境危險因子做分層分析, 仍未發現有統計學上的差異。

REFERENCES:

1. Costa P, Checkoway H, Frankin GM, Levy D, Smith-Weller T, Franklin GM, Swanson PD, Costa LG. Association of a polymorphism in intron 13 of the monoamine oxidase B gene with parkinson disease. *Am J Med Genet* 1997;74:154-156.
2. Fowler JS, Volkow ND, Wand GJ, and et al. Inhibition of monoamine oxidase B in the brain of smokers. *Nature* 1996; 379:733-36.
3. Ho SL, Kapadi AL, Ramsden DB, and et al. An allelic association study of monoamine oxidase-B in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995; 37:403-5.
4. Ho SL, Ramsden DB, Kapadi AL, and et al. Activity and polymorphism of monoamine oxidase-B gene in idopathic Parkinson's disease. *Biogenic Amines* 1994; 10:579-85.
5. Hoda F, Nicholl D, Bennett P and et al. No association between Parkinson's disease and low activity alleles of catechol-o-methyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;228:780-784.
6. Hsu YP, Powell JF, Sims KB, and et al. Molecular genetic of monoamine oxidase. *J Neurochem* 1989; 53:12-8.

7. Hwang- WJ, Lai ML, Tasi TT, and et al. Genetic polymorphism of monoamine oxidase B and susceptibility of Parkinson's disease. *Chung-Hua-I-Hsueh-Tsa-Chih-Taipei*. 1997; 60(3):137-41.
8. Kunugi H, Nanko S, Ueki A, and et al .High and low activity alleles of catechol-o-methyltransferase gene: ethnic difference and possible association with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1997;221:202-204.
9. Kurth JH, Kurth MC, Poduslo SE, and et al. Association of a monoamine oxidase B allele with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1993; 33:368-72.
10. McLeod HL, Syvanen AC, Githang'a J, Indalo A, Ismail D, Dewar K, Ulmanen I, Sludden J. Ethnic differences in catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: frequency of the codon 108/158 low activity allele is lower in Kenyan than Caucasian or South-west Asian individuals. *Pharmacogenetics* 1998;8: 195-199.
11. Morimoto Y, Murayama N, Kuwano A, and et al. Association of a polymorphism of the monoamine oxidase B gene with Parkinson's disease in a Japanese population. *Am J Med Genet* 1995; 60:570-72.
12. **Wu RM**, Cheng CW, Chen KH, Lu SL, Shan DE, Ho YF and Chern HD (2001) The COMT L allele Modifies the Association between MAOB Polymorphism and PD in Taiwanese. *Neurology* (2001)56, 375-382.
13. Tai CH and **Wu RM*(corresponding)**. Catechol-*O*-methyltransferase and Parkinson's Disease. *Acta Medica Okayama* (2001, in press).
14. Yoritaka A, Hattori N, Yoshino H, and et al (1997) Catechol-O-methyltransferase genotype and Susceptibility to Parkinson's disease in Japan. Short communication. *J. Neural Transm* 104: 1313-7.
15. Xie T, Ho SL, Li SW, Ma OCK. (1997) G/A1947 polymorphism in catechol-O-methyltransferase (COMT) gene in parkinson's disease. *Movement disorders* 12:426-427.