



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](#)

보건학 석사학위논문

한국 소아에서의
주의력결핍 과잉행동장애에 대한
혈중 납 농도의 영향
: 멘델리안 무작위화 연구

2017년 2월

서울대학교 보건대학원

보건학과 보건학 전공

임형렬

논문 초록

여러 편의 선행 연구에서 소아에서의 환경적 납 노출과 주의력결핍 과잉행동장애 (ADHD)에 연관성이 있음이 보고되었고, 이는 유전적 요인과 더불어 중요한 환경성 위험 요인으로 인식되고 있다. 그러나 선행된 연구들은 모두 관찰 연구로 측정되지 않은 교란요인과 역 인과관계 등의 피할 수 없는 비뿔림에 의해 인과관계를 설명하는데 큰 어려움이 있다. 따라서 이 연구의 목적은 유전자의 단일염기다형성을 도구변수로 이용하는 멘델리안 무작위화 방법을 사용하여 소아에서 혈중 납 농도와 주의력결핍 과잉행동장애와의 인과적 연관성을 알아보는 것이다.

본 저자는 2005년 초부터 2010년 말까지 수행된 패넬조사 “어린이의 환경노출에 의한 건강영향 조사(Children’s Health and Environment Research, CHEER)” 에서 모집된 대상자를 연구에 사용하였다. 이 연구는 종단적 연구로 같은 연구 대상자를 6년에 걸쳐 2년에 한 번, 최대 3번 조사하였다. 이 중 유전자 검사에 동의하여 유전자 단일염기다형성에 대한 데이터가 있는 1828명을 대상으로 연구를 진행하였다. ADHD에 대해서는 한국어판 Attention Deficit Hyperactivity Disorder rating scale(K-ARS)을 사용하여 조사하였으며, 이 조사에서 19점 이상일 때 ADHD 의심군으로 진단하였다. 연관성 분석으로는 잠재적 교란변수를 보정한 회귀모델을 통해 혈중 납과 주의력결핍 과잉행동장애와의 관찰적 연관성을 도출하였다. 멘델리안 무작위화를 위한 도구변수로는 혈중 납 농도와 강한 연관성이 존재하는 rs1805313(*ALAD* 유전자)의 단일염기다형성 그룹을 사용하였으며 2단계 분석방법을 사용하여 혈중 납과 주의력결핍 과잉행동장애와의 인과적 연관성을 도출하였다.

본 저자는 총 1828의 대상자 중에서, 1750명을 최종 분석에 포함시켰다. 연령, 성별, 거주지역, 아버지 교육수준, 소득수준, 부모의 혼인상태, 정신질환 가족력, 간접흡연을 보정하였을 때, 로그 혈중 납 농도와 K-ARS 점수의 유의한 양의 연관성을 관찰하였으나($\beta = 0.47$, 95%CI: 0.10 - 0.85), ADHD 의심군과는 유의한 결과를 나타내지 않았다(OR = 1.05, 95%CI: 0.94 - 1.17). 본 저자는 도구변수 가정을 평가한 결과, 연령을 제외하고, 가능한 교란변수들이 도구변수와 연관성이 없음을 확인하였다. 도구변수와 로그변환 혈중 납 농도의 1단계 선형 회귀분석에서 F 값은 18.46이었다. ADHD 의심군 모델에서, 양의 인과적 연관성이 관찰되었으나, 통계적으로 유의하지는 않았다(OR = 4.57, 95%CI: 0.46 - 45.55, $p = 0.196$). 2단계 최소자승추정법(2SLS: 2-stage least square)을 통한 K-ARS 점수 모델에서 역시, 유의한 연관성이 관찰되지 않았다.

본 연구에서는 혈중 납과 주의력결핍 과잉행동장애 사이에 통계적으로 유의한 인과적 연관성을 도출하지 못하였다. 통계적으로 유의하지 않은 효과 추정치는 검정력의 부족에서 비롯되었을 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서는 단일 단일염기다형성을 도구변수로 사용할 수밖에 없었다. 혈중 납 농도에 대한 전장유전체연구가 더욱 많이 시행되어 여러 단일염기다형성을 도구변수로 사용한다면 검정력 개선에 도움이 될 것이다. 추후 여러 연구와 함께 컨소시엄을 통하여 본 주제에 대하여 멘델리안 무작위화 연구가 진행이 된다면 좀 더 나은 결과를 도출할 수 있으리라 생각한다.

주요어: 납, 주의력결핍 과잉행동장애, 신경독성, 멘델리안 무작위화

학 번: 2014-23377

차 례

I. 서론	1
1.1 납(Lead, Pb)	1
1.2 주의력결핍 과잉행동장애(Attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)	2
1.3 저농도 납 환경노출과 ADHD와의 연관성	4
1.4 멘델리안 무작위화(Mendelian randomization) 접근법	14
1.5 연구의 목적	15
II. 연구 방법	16
2.1 연구 대상자와 연구 디자인	16
2.2 혈중 납 농도 측정	16
2.3 ADHD 증상의 평가	17
2.4 유전형질 분석(Genotyping)	20
2.5 통계 분석	20
III. 연구 결과	26
3.1 분석에 포함된 연구 대상자	26
3.2 혈중 납 농도와 ADHD의 관찰적 연관성	46
3.3 멘델리안 무작위화를 이용한 혈중 납 농도와 ADHD의 연관성	52

IV. 결론 및 고찰.....	58
5.1 납 노출의 신경 독성.....	58
5.2 주의력결핍 과잉행동장애의 역학상 고찰.....	59
5.3 멘델리안 무작위화에 관한 고찰.....	62
5.4 본 연구 결과에 대한 고찰.....	65
V. 참고문헌.....	70
Abstract in English.....	76

표 차례

표 1 소아에서 납 노출과 ADHD의 연관성을 보고한 역학 연구 요약	10
표 2. Attention Deficit Hyperactivity Disorder rating scale의 18문항	19
표 3 GWAS를 통해 혈중 납과 연관성이 보고된 SNP의 목록 (Warrington et al, 2015)	24
표 4. 1750명에 대한 2005년부터 2010년까지 추적 조사된 흐름도	29
표 5 1750명의 대상자의 K-ARS 점수 분포	30
표 6 ADHD 의심군, 비의심군에 따른 혈중 납 농도와 일반 인구학적 특성, 잠재적 ADHD의 위험요인의 분포	32
표 7 혈중 납 농도에 따른 K-ARS 점수, ADHD 의심군 분율 및 일반 인구학적 특성과 ADHD의 위험요인의 분포	37
표 8 rs1805313 유전자형에 따른 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군, 일반적인 특성 및 ADHD 잠재 위험요인의 분포	41
표 9 rs1805313 유전자형(CC vs. TC or TT)에 따른 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군, 일반적인 특성 및 ADHD 잠재 위험요인의 분포	43
표 10 로지스틱 회귀모델을 통한 혈중 납과 ADHD 의심군의 관찰적 연관성	47
표 11 선형회귀모델을 통한 혈중 납과 K-ARS 점수와의 관찰적 연관성	49
표 12 도구변수인 rs1805313과 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군과의 연관성	52
표 13 도구변수를 이용한 멘델리안 무작위화 방법인 2단계 분석방법을	

이용한 혈중 납 농도의 K-ARS 점수 그리고 ADHD 의심군에 대한 효과.....	55
표 14 Recessive model에서 rs1805313과 혈중 납 농도, K-ARS 점 수, ADHD 의심군과의 연관성.....	56
표 15 Recessive model에서 멘델리안 무작위화 방법인 2단계 분석방 법을 이용한 혈중 납 농도의 K-ARS 점수 그리고 ADHD 의심군에 대한 효과.....	57
표 16 도구 변수 가정의 위반에 대한 요약표.....	64

그림 차례

그림 1 멘델리안 무직위화에서 도구변수, 노출 변수, 결과 변수, 교란 변수의 관계 도식도.....	15
그림 2 본 연구의 최종 분석 대상자 선정의 흐름도.....	27
그림 3 연구 대상자의 K-ARS 점수 분포를 나타낸 히스토그램.....	30
그림 4 Generalized additive model을 통한 로그 변환한 혈중 납 농도에 따른 ADHD 의심군에 대한 위험의 penalized regression 곡선.....	48
그림 5 Generalized additive model을 통한 로그 변환한 혈중 납 농도에 따른 K-ARS 점수에 대한 penalized regression 곡선.....	51
그림 6 도구변수의 그룹 별 로그 변환된 혈중 납 농도 평균과 제공된 변환된 K-ARS 점수 평균과의 관계 (네모: CC, 동그라미: CT, 세모: TT).....	53
그림 7 도구변수의 그룹 별 로그 변환된 혈중 납 농도 평균과 ADHD 의심군으로 진단될 오즈(odds)와의 관계 (네모: CC, 동그라미: CT, 세모: TT).....	54

I. 서론

1.1 납(Lead, Pb)

납은 대표적인 신경독성이 있는 중금속이다. 일반 인구에서 납 노출에 대한 가장 큰 원인은 유연휘발유의 사용이었다. 1987년 국내에 무연휘발유가 도입이 되어 일반 인구에서의 혈중 납 농도는 크게 감소하였다. 현재로서는 식료품으로 인한 납 노출이 대부분이다. 소아에서는 이식증(pica)이 흔히 나타날 수 있기에 납에 오염된 흙, 먼지라던가, 페인트 부스러기 등을 먹을 경우에 성인에 비해 노출이 심할 수 있다.

2010년 국제식량농업기구/세계보건기구 합동식품첨가물전문가위원회(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)에 서는 납에 대한 잠정 주간 섭취 허용량 $25 \mu\text{g}/\text{kg body weight}/\text{week}$ 을 철회하였으며(1), 2012년 미국 질병관리본부는 소아의 혈중 납 농도 기준치를 기존의 $10 \mu\text{g}/\text{dL}$ 에서 $5 \mu\text{g}/\text{dL}$ 로 낮췄다(2). 이는 $5 \mu\text{g}/\text{dL}$ 이하의 수준에서도 소아에서의 저농도의 납 노출에 대한 행동학적 문제, 지능 저하, 신경행동발달 지연 등의 신경독성 관련 건강영향이 지속적으로 보고되었기 때문이다. 아무리 저농도 영역이라도 납 노출 수준이 높아지면 건강영향의 범위와 크기가 같이 증가하며, 특히 만성적인 저농도 납 노출에 대한 영향은 지능과 신경발달이 진행 중인 소아에서 큰 우려를 낳고 있다.

1.2 주의력결핍 과잉행동장애(Attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)

ADHD는 소아의 정신질환 중 가장 흔한 질환이며, 미국 정신의학회에 서는 ADHD의 유병율에 대해 학령기 소아의 3-7%, 성인의 2-4%로 보고하였으며, 국내에서는 학령기 소아의 2-7.6%가 ADHD에 이환되어 있는 것으로 보고되었다. ADHD의 진단에 있어 부모, 보호자나 학교 선생이 증상을 보고하는 것에 많이 의존하게 된다. 미국 정신의학회의 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders(DSM)에 기초하여 진단을 하게 되는데, 증상을 부주의한 증상과 과잉행동 및 충동적 증상으로 구분하여 확인하게 된다. 흔히 이러한 증상들로 인해 학업 성취도가 떨어지는 등의 사회적 기능에 문제가 발생한다. 증상의 정도에 따라 스펙트럼이 연속적인 양상을 보여 항상 과소 및 과잉진단의 문제에 대해서 고려해야 한다(3).

ADHD는 가족성 질환, 혹은 유전질환으로 선행연구에 따르면 유전율이 약 76%로 보고되어 있다. 하지만 ADHD와 관련한 유전 변이는 비 특이적인 모습을 보이는데, 조현병이나 정동장애와 관련한 유전 변이와 상당부분 겹치는 연구 결과가 보고가 되었기 때문이다. 후보 유전자 연구에 대한 선행 연구도 많이 보고되었으나, 대부분의 후보 유전자의 연관성은 추후 반복적 관찰에 실패하고 있으며 이러한 결과는 위양성, 인종적 차이, 대조군의 차이 등에 의한 교란 요인이 작용했을 것으로 생각된다. 최근 국제 컨소시엄 연구에서 약 18000여 명의 13세 미만 소아에서의 ADHD 증상에 대한 전장유전체연관분석연구(genome-wide association study, GWAS)를 통해 원인이 되는 유전 변이를 찾으려는

시도가 있었다. 단일염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 접근으로는 통계적으로 유의한 것을 보고하지 못하였으나, 유전자 단위의 연관성 분석에서는 뉴런의 발달에 관여하는 *WASL* 유전자와 통계적으로 유의하여 ADHD의 유전적 병인론에 대한 근거를 더하였다(4).

유전적 위험요인이 가장 크게 작용할 것으로 보고 있지만 환경적 요인, 식이 요인, 심리사회적 요인들도 ADHD의 위험인자로 작용할 것으로 알려져 있다. 임신 중 어머니의 흡연, 음주, 마약 사용, 스트레스, 그리고 저체중 출산, 조산 등이 산전 위험요인이라고 볼 수 있으며, 유기인제, 폴리염소화비페닐, 납 등이 대표적으로 알려진 환경 인자들이다. 하지만 이러한 요소들은 아직 인과관계가 있는 위험인자라 보기에 아직 무리가 있고 준실험적(quasi-experimental) 연구 등이 더 필요한 실정이다. 식이 관련된 요인으로는 영양 결핍, 불포화지방산 결핍 등이 관련이 있다고 보고가 되었으며, 심리 사회적 요인으로는 사회경제적 요인, 부모와의 갈등 등이 관련이 있다고 보고되었고, 특히 심각한 유년기의 박탈(severe early deprivation)은 인과관계가 성립되는 위험요인으로 알려져 있다(5). 이러한 유전과 환경인자들이 ADHD의 발생에 있어 독립적으로 작용하는 것이 아니고 서로 교호작용이 있을 것으로 추정되고 있고 있어 교호작용을 반영한 후속 연구가 필요하다.

ADHD를 소아에서 진단을 받고 치료를 하지 않을 경우 성인에서 반사회성 인격장애, 약물 중독과 같은 위험이 증가하기 때문에 소아에서의 ADHD의 치료는 중요하다고 볼 수 있다. ADHD 치료의 경우 행동요법과 함께 약물치료가 우선된다고 볼 수 있는데, 중추신경계 자극제(stimulants)와 노르에피네프린 재흡수억제제를 치료에 사용한다.

1.3 저농도 납 환경노출과 ADHD와의 연관성

미국에서 국민건강영향조사 1999 - 2002년 자료를 이용하여 4 - 15세 4704명을 대상으로 혈중 납 농도와 ADHD 진단과의 양의 연관성을 보고하였다. ADHD는 부모에게 진단력과 관련 약(stimulants) 투약력에 대해 조사한 것이다. 8.2%가 ADHD에 진단되었으며, 4.3%가 약제를 사용한 적이 있다고 응답하였다. 혈중 납 농도를 5분위 그룹으로 나눠 분석하였으며 ADHD 진단과 약제사용을 모두 사용한 경우에 대해 0.7 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에 비해 2.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과 그룹에서 다른 공변수(연령, 성, 인종, 간접흡연, 혈중 납 농도, 사회경제적 수준, 페리틴 농도)를 보정한 OR 값이 4.1(95%CI: 1.2 - 14.0)으로 통계적으로 유의하였다(6).

이후 미국 국민건강영향조사 2001 - 2004년 자료를 이용하여 8 - 15세 2588명을 대상으로 ADHD에 대한 혈중 납 농도와 간접흡연의 연관성이 보고되었다. DSM-IV 기반의 National Institute of mental Health Diagnostic Interview Schedule for Children(DISC)을 사용하여 지난 12개월의 ADHD 증상 및 관련 손상에 대해 설문하였으며 부모의 자녀 ADHD 진단 여부 설문 결과를 반영하여 ADHD 진단을 확정하였다. 8.7%가 진단되었으며, 공변수를 보정한 로지스틱 회귀분석(혈중 납과 임신 중 산모 흡연을 같이 모델에 적용함)에서 ADHD에 대해 혈중 납 농도 0.8 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에 비해 1.3 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과 그룹에서 OR 값이 2.3(95%CI: 1.5 - 3.8), 임신 중 산모 흡연한 그룹에서 2.4(95%CI: 1.5 - 3.7)로 각각 통계적으로 유의하였다. 게다가 납 노출과 산모 흡연은 서로 교호작용이 있다고 보고되어 납이 가장 높은 3분

위 그룹과 산모 흡연 그룹에 같이 해당이 될 때 둘 다 비해당 그룹에 비해 보정된 OR값이 8.1(95%CI: 3.5 - 18.7)로 보고되었다(7).

한국 부산에서 2013년에 모집된 ADHD 환자 114명과 대조군 114명의 참여자를 모집한 병원기반 환자-대조군 연구에서는 한국어판 Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia Present and Lifetime Version(K-SADS-PL-K)를 통해 ADHD를 확진하였다. 평균 8.8세에서 환자군에서는 혈중 납 농도의 기하평균은 1.90 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었으며 대조군에서는 1.59 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었다. 로그 변환된 혈중 납 농도와 ADHD 진단유무를 로지스틱 회귀분석을 사용하여 성별, 나이, 재태기간, 몸무게, 사회 경제적 수준, 아버지 교육수준, 부모의 흡연 습관을 보정하여 OR을 산출한 결과 단위변화 당 1.06(95%CI: 1.04 - 2.45)이었으며 4분위 그룹으로 납 농도를 나누어 1분위 그룹(0.18 - 1.12 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 과 비교하였을 때 4분위 그룹(2.30 - 5.35 $\mu\text{g}/\text{dL}$)에서 보정한 OR이 2.54(95%CI: 1.09 - 5.94)로 보고하였다. 하지만 혈중 납 농도와 K-ARS 점수의 다중선형회귀모델에서는 β 가 1.74(SE = 1.29)였지만 통계적으로 유의하지는 않았다($p = 0.18$) (8).

한국 천안에서 2008-2010년에서 모집된 6에서 10세의 ADHD 환자 214명과 성별, 학교, 연령에 대해 짝지은 대조군 214명에 대한 혈중 납 농도의 영향에 대한 연관성 분석연구가 수행되었다. 환자군에서 혈중 납 농도의 기하평균은 1.65 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 였으며 대조군에서는 1.49 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었다. K-ARS 점수의 평균은 환자군에서 24.48점, 대조군에서 7.15점이었다. ADHD 가족력, 어머니의 교육수준, 출생 후 간접흡연을 보정한 모델에서 OR이 1.28(95%CI: 0.89 - 1.83)이었으며, 이 연관성은 태아기간의

모체 간접흡연 유무와 출생 후 간접흡연 유무, 그리고 이 둘에 모두 해당하는지 여부에 대하여 교호작용이 있었다(‘예’라고 응답한 그룹에서 각각 OR이 1.67(95%CI: 1.08 - 2.58), 1.83(95%CI: 1.15 - 2.91), 2.41(95%CI: 1.20 - 4.81)). 간접흡연이 있는 그룹에서 혈중 납의 ADHD에 대한 효과가 커지는 것을 보고한 것이다(9). 이와 비슷한 결과로 Canadian Health measures Survey(CHMS) 2007-2009에서 6-11세에서 혈중 납 농도와 Strengths and Difficulties Questionnaire(SDQ)를 기반으로 한 ADHD 증상과의 연관성 분석에서도 ‘Total difficulties’에 대하여 태아기간의 모체 간접흡연 유무에 따라 연관성이 변하는 교호작용이 존재함이 보고되었다(‘예’ : OR = 10.57(95%CI: 2.81 - 39.69), ‘아니오’ : OR = 1.98(95%CI: 1.41 - 2.79) (10).

한국 국립환경과학원에서 수행한 어린이의 환경노출에 의한 건강영향 조사(The Children’s Health and Environmental Research, 이하 CHEER 연구)에서 첫 해(2005년) 조사에 참여한 초등학교 1,2학년 1873명에 대하여 설문을 통해 Conners 점수를 이용하여 ADHD를 진단하였으며 혈중 납과의 연관성을 알아보았다. 혈중 납 농도가 올라감에 따라 ADHD 진단의 위험이 증가하는 추세를 관찰하였다. 즉, 연령, 성별, 가계소득수준, 거주지역, 부모의 정신질환력을 보정하였을 때, 혈중 납 농도가 1 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만인 그룹에 비하여 OR값과 95%신뢰구간이 1에서 1.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에서 1.27 (95%CI: 0.57 - 2.85), 1.5 - 2.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에서 1.30(95%CI: 0.63 - 2.70), 2.5 - 3.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에서 1.67(95%CI: 0.78 - 3.60), 3.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이상 그룹에서 1.96(95%CI: 0.76 - 5.11)이었다. 추세에 대한 p-value는 0.07이었

다. 그리고 다중회귀분석에서 혈중 납 농도와 Conners의 ADHD 점수가 양의 연관성이 있다는 것을 보고하였다($\beta = 0.50, p < 0.0001$) (11). 또한 2005년에서 2010년까지 6년에 걸쳐 시행한 CHEER연구에서 2006년부터 2008년까지 모집된 7-9세 중 ADHD를 진단받지 않거나 K-ARS 점수가 19점 미만인 대상자 2967명을 2년 후 추적 관찰하여 2159명에 대하여 K-ARS 검사를 다시 시행하여 ADHD 의심군의 발생을 확인하였다(107명, 5.0%). 추적관찰에서 혈중 납 농도를 재측정하였으며 75 백분위수에 해당하는 농도인 $2.17 \mu\text{g/dL}$ 을 기준으로 고농도와 저농도군으로 나눠 ADHD 발생에 대하여 로지스틱회귀분석을 시행하였다. 저농도군에 비하여 고농도군($> 2.17 \mu\text{g/dL}$)에서 위험이 통계적으로 약 50%가 증가($\text{RR} = 1.55, 95\% \text{CI}: 1.01 - 2.40$)함을 보고하였으며, 한부모가정 여부에 따라 그 효과가 변화함을 밝혔으며 한부모가정의 자녀일 경우 위험이 크게 증가함($\text{RR} = 3.57, 95\% \text{CI}: 1.60 - 7.98$)을 밝혔다(12).

1997에서 2001년 사이에 모집된 멕시코시티의 출생코호트에서 6세 부터 13세 사이의 아이 578명을 대상으로 단면적으로 혈중 납 농도와 Conners 점수를 이용한 ADHD 증상과의 연관성을 본 연구에서는 대상자의 평균 혈중 납 농도는 $3.4 \mu\text{g/dL}$ 이었다. 어머니의 혼인 상태, 연령, 교육수준, 사회경제적 수준, 임신 중 흡연과 아이의 연령, 성별, 몸무게를 보정한 Piecewise regression을 이용하여 연관성을 분석하였으며 통계적으로 중단점(breakpoint)을 찾았다. 그 결과 총점에 대해서는 통계적으로 유의한 값을 얻지 못하였지만 과행동 영역점수에서 혈중 납 농도가 $5.0 \mu\text{g/dL}$ 이하일 때 혈중 납에 대한 효과가 통계적으로 유의하였다(혈중 납 농도 $1 \mu\text{g/dL}$ 증가 당 $\beta = 1.2, 95\% \text{CI}: 0.3 - 2.0$) (13).

한국의 8-11세 1001명의 어린이를 대상으로 한 단면연구에서는 혈중 납 농도(평균 1.80 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 표준편차 1.40 $\mu\text{g}/\text{dL}$)와 K-ARS 점수와 의 연관성을 여러 공변수를 보정한 다중회귀분석을 통해 제시하였는데, 아이의 IQ점수와 다른 환경오염물질(혈중 수은, 망간, 소변 코티닌, 프탈레이트 대사체, 비스페놀 A)을 공변수에 포함시켜 분석을 하였다. 대상 어린이의 학교 선생이 작성한 K-ARS에서는 총 점수와 통계적으로 유의하였으며($\beta = 6.38, p = 0.013$), 과잉 및 충동행동 점수와는 부모와 선생이 작성한 K-ARS 점수와 모두 통계적으로 유의하였다($\beta = 1.99, p = 0.032; \beta = 3.66, p = 0.004$). 하지만 부주의 점수와는 통계적으로 유의하지 않았다(14).

미국 네브라스카주에서 수행된 연구에서는 2007년부터 2009년까지 5 - 12세의 의사가 진단한 ADHD 환아 71명과 대조군 58명을 대상으로 혈중 중금속과 ADHD과의 연관성을 분석하였다. 성별, 나이, 인종, 어머니의 임신 중 흡연 및 음주, 출생 후 간접흡연 경험, 사회경제적 수준, 거주지역(오염지역 유/무)을 보정한 로지스틱 회귀분석에서 로그변환 혈중 납 농도는 단위 1 증가 당 OR이 2.52(95%CI: 1.07 - 5.92)였으며, 2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹보다 이상인 그룹에서 OR이 4.63(95%CI: 1.36 - 15.72), 3 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹보다 이상인 그룹에서 OR이 7.25(95%CI: 1.66 - 31.67)이었다. 혈중 카드뮴과 수은과의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다(15).

캐나다 퀘벡에서 1993 - 2000년에 모집된 출생코호트에서 유해물질의 임신 중 노출과 단면적으로 조사한 노출과 Disruptive Behavior

Disorders Rating Scale (DBD) 검사로 진단한 ADHD와의 연관성을 살펴본 연구가 수행되었다. 8세에서 14세의 어린이 279명 중 21.5%가 ADHD로 진단이 되었고 부주의형에 14.3%, 과잉행동형에 12.9%가 진단되었다. 혈중 납 농도는 평균 2.7 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (표준편차: 2.2 $\mu\text{g}/\text{dL}$)으로 측정되었고, 혈중 납 농도를 기준으로 삼분위 그룹으로 분류하였을 때 여러 공변수를 보정, 과잉행동형 ADHD에 대한 로지스틱 회귀모델에서 1분위(0.4 - 1.6 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 그룹에 비해 OR값이 2분위(1.6 - 2.7 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 그룹에서 4.01 (95%CI: 1.06 - 15.23), 3분위(2.7 - 12.8) 그룹에서 5.52 (95%CI: 1.38 - 22.12)로 통계적으로 유의하게 높았다. 부주의형과는 통계적으로 유의하지 않는 결과가 도출되었다. 단, 임신 중 탯줄 혈액에서 측정된 납 농도와는 연관성이 유의하지 않았다. 이 연구에서는 납 이외에 메틸수은을 탯줄 혈액에서 측정하여 연관성을 제시하였는데, 8 - 14세의 ADHD의 과잉행동형과 부주의형 모두에서 통계적으로 유의하게 값이 높아질수록 위험이 증가함을 보고하였다(16).

동물실험에서도 납의 신경학적 기능이상에 대하여 보고가 되었고, 이렇듯 많은 역학 연구에서 납과 ADHD의 연관성을 보고하고 있지만 대부분의 연구는 환자-대조군 연구, 단면 연구이다. 하지만 납뿐 아니라 여러 환경유해인자들이 교란요인으로 작용할 수 있고 연관성 확인을 위한 회귀 모델에서 설명되지 않는 교란요인(residual confounding)에 대해 거의 설명을 못하고 있기 때문에(17), 소아에서 납 노출과 ADHD의 관계가 인과 관계라고 규정하기에는 아직 무리라고 볼 수 있다. 최근 보고된 소아에서의 납 노출과 ADHD 연관성에 대한 역학연구를 요약하면 다음과 같다(표 1).

표 1 소아에서 납 노출과 ADHD의 연관성을 보고한 역학 연구 요약

저자	년도	연구디자인	표본	평균 납 농도	ADHD의 진단	주요결과
Braun et al.	2006	단면연구	NHANES 1999-2002, 4-15세, 4704명 Parent-reported ADHD with prescription stimulant use: 4.2%	3rd quintile range : 1.1 - 1.3 $\mu\text{g}/\text{dL}$	ADHD 진단의 부모 보고 + 중추신경 자극제 사용력	혈중 납 농도 0.7 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이하의 1오분위 그룹에 비해 2.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과와 5오분위 그룹에서의 보정된 OR이 4.1 (95%CI: 1.2 - 14.0)
Froehlich et al.	2009	단면연구	NHANES 2001-2004, 8-15세 ADHD환아: 8.7%	2nd tertile range : 0.9 - 1.3 $\mu\text{g}/\text{dL}$	DSM-IV기반 National Institute of Mental Health Diagnostic Interview Schedule for Children (DISC)	혈중 납 농도 0.8 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에 비해 1.3 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과 그룹에서 보정된 OR이 2.3 (95%CI:1.5-3.8). 납 노출과 산모흡연은 서로 교호작용이 있다고 보고, 혈중 납이 가장 높은 3분위 그룹과 산모흡연 그룹에 같이 해당이 될 때 둘 다 비해당 그룹에 비해 보정된 OR이 8.1 (95%CI:3.5-18.7).
Park et al.	2016	환자-대조군 연구	부산지역 2013년에 모집된 병원 기반 6-12세, 환자114명, 대조군114명	환자군: 1.90(SD:0.86) $\mu\text{g}/\text{dL}$ 대조군: 1.59(SD:0.68) $\mu\text{g}/\text{dL}$	Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia Present and Lifetime Version (K-SADS-PL-K) 한국어판 스크리닝과	로그 변환 혈중 납 농도 1증가당 보정된 OR 1.60 (95%CI:1.04-2.45), 혈중 납 1사분위 그룹보다 4사분위 그룹에서 보정된 OR이 2.54 (95%CI:1.09-5.94). 혈중 납 농도와 K-ARS 점수의 다중선형회귀모델에서는 β 가 1.74(SE=1.29)였지만 통계적으로 유의하지는 않았음(p=0.18).

저자	년도	연구디자인	표본	평균 납 농도	ADHD의 진단	주요결과
					ADHD섹션을 사용, DSM-IV기반 소아정신과 의사 진단	
Joo et al.	2016	환자-대조군 연구	천안지역 2008-2010년 6-10세 환자214명, 대조군214명	환자군: 1.65(SD:1.45) $\mu\text{g}/\text{dL}$ 대조군: 1.49(SD:1.48) $\mu\text{g}/\text{dL}$	K-ARS로 스크리닝, 소아 정신과 의사가 진단을 확정하였음.	로그 변환 혈중 납 농도 1증가당 보정된 OR 1.28 (95%CI:0.89-1.83) : 주의력결핍- 1.63 (95%CI: 1.03 - 2.58) : 과잉행동- 1.04 (95%CI: 0.53 - 2.07) 간접흡연에 대하여 교호작용을 보고
Arbuckle et al.	2016	단면연구	Canadian Health Measures Survey (CHMS) 2007-2009년, 6-11세, 1080명, ADHD환아: 4.13%	기하평균: 0.90 $\mu\text{g}/\text{dL}$	ADHD 진단의 부모 보고	로그 변환 혈중 납 농도 1증가당 보정된 OR 2.08 (95%CI:1.01-4.25), Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ)를 통해, 로그 변환 혈중 납 농도 1증가당 임신중 흡연이 있었던 그룹에서 Total difficulties에 대한 OR이 10.57 (95%CI:2.81-39.69)로 교호작용이 있다고 보고하였으며, 과잉행동/부주의 증상에 대하여 OR이 2.75 (95%CI:1.46-5.16)으로 보고하였음.
Ha et al.	2009	단면연구	Children's Health and Environment Research	기하평균: 1.80 (SD: 1.71) $\mu\text{g}/\text{dL}$	Conners' scale for ADHD	혈중 납 농도 1 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹에 비해 3.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이상 그룹에서의 보정된 OR이 1.96 (95%CI:0.76-5.11)이었으며,

저자	년도	연구디자인	표본	평균 납 농도	ADHD의 진단	주요결과
			(CHEER), 2005년, 6-10세, 1778명, ADHD 유병율: 남아 7.5%, 여아 5.3%			선형성에 대한 p-value는 0.07이었음. 다중회귀분석에서 혈중 납 농도 1 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 증가당 Conner's scale 점수가 0.5 오른다고 보고하였음 ($\beta=0.50$, $p<0.0001$).
Choi et al.	2016	종단적 연구	Children's Health and Environment Research (CHEER), 2006-2010년, 7-9세, 2159명, ADHD 발생율: 5.0% (2년 추적)	기하평균: 1.56 (SD: 1.76) $\mu\text{g}/\text{dL}$	DuPaul's ADHD rating scale	3사분위수 (2.17 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 이하 그룹에 비해 초과 그룹에서의 보정된 OR이 1.552 (95%CI: 1.002-2.403) 으로 보고함. 더불어 한부모 가정여부에 따라 납의 OR이 높아짐 (교호작용).
Huang et al.	2016	단면연구	멕시코시티 ELEMENT 1997-2001년 모집된 출생코호트, 6-13세, 578명	3.4 (SD: 2.9) $\mu\text{g}/\text{dL}$	Conners' scale for ADHD -Revised	과행동 영역점수에서 혈중 납 농도가 5.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이하일 때 혈중 납에 대한 효과가 통계적으로 유의 (혈중 납 농도 1 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 증가 당 $\beta = 1.2$, 95%CI: 0.3 - 2.0)
Hong et al.	2015	단면연구	한국 5개 도시, 8-11세, 1001명	기하평균: 1.80 (SD: 1.40) $\mu\text{g}/\text{dL}$	DuPaul's ADHD rating scale	IQ점수와 여러 환경오염 물질 (혈중수은, 망간, 소변코티닌, 프탈레이트 대사체, 비스페놀A)을 공변수에 포함시켜 분석. 학교 선생이 수행한 K-ARS에서는 총점수와

저자	년도	연구디자인	표본	평균 납 농도	ADHD의 진단	주요결과
						통계적으로 유의하였으며($\beta = 6.38$, $p=0.013$), 과잉 및 충동행동 점수와는 부모와 선생이 수행한 K-ARS 점수와 모두 통계적으로 유의하였음($\beta = 1.99$, $p=0.032$; $\beta = 3.66$, $p=0.004$). 하지만 부주의 점수와는 통계적으로 유의하지 않았음.
Kim et al.	2013	환자-대조군 연구	미국 네브라스카주, 5-12세, 환자:71명, 대조군:58명	환자군: 1.29 (range: 0.28-9.99) $\mu\text{g}/\text{dL}$ 대조군: 1.33 (range: 0.42-6.05) $\mu\text{g}/\text{dL}$	DSM-IV기반 의사 진단	로그변환 혈중 납 농도는 단위 1 증가 당 OR이 2.52 (95%CI: 1.07 - 5.92)였으며, 2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹보다 이상인 그룹에서 OR이 4.63 (95%CI: 1.36 - 15.72), 3 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 미만 그룹보다 이상인 그룹에서 OR이 7.25 (95%CI: 1.66 - 31.67)이였음.
Boucher et al.	2012	단면연구	북부 캐나다 이누이트족 출생코호트, 279명, 검사 시 나이 8.5-14.3세, ADHD 의심군: 21.5%	2.7 (SD: 2.2) $\mu\text{g}/\text{dL}$	Disruptive Behavior Disorders Rating Scale (DBD)	과잉행동형 ADHD에 대해 1삼분위 (0.4 - 1.6 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 그룹에 비해 OR이 2삼분위 (1.6 - 2.7 $\mu\text{g}/\text{dL}$) 그룹에서 4.01 (95%CI: 1.06 - 15.23), 3삼분위 (2.7 - 12.8) 그룹에서 5.52 (95%CI: 1.38 - 22.12)로 통계적으로 유의하게 높았으나, 부주의형과는 통계적으로 유의하지 않는 결과를 도출.

1.4 멘델리안 무작위화(Mendelian randomization) 접근법

멘델리안 무작위화(Mendelian randomization)는 연구대상자에서의 유전적 변이(genetic variants)를 도구변수(instrumental variables)로 사용하여 특정 노출인자의 인과관계를 평가할 수 있는 방법이다. 이 방법을 사용하면 유전적 변이 정도에 따라, 즉 특정 SNP의 대립유전자 구성별 하위집단으로 구분된다. 이때 연구에 선택된 SNP은 연구에서 특정 노출-결과 관계를 보고자 할 때 노출량을 잘 반영하여야 한다. 즉 SNP의 대립유전자 구성별 하위집단별로 보고자 하는 노출의 양에 상당한 차이가 있어야 한다는 것이다. 이 유전적 변이가 본 연구의 인구집단에서 무작위로 발생한다는 가정 하에 마치 무작위임상시험(randomized clinical trials)과 비슷한 연구 프레임을 구축할 수 있다. 유전적 변이요인 즉, 도구변수로 이용할 특정 SNP에 대한 필수적인 세 가지 전제는 다음과 같으며, 이것을 그림으로 도식화하면 그림 1과 같다.

- (1) 노출 변수와 연관성이 있어야 한다.
- (2) 결과 변수에 영향을 줄 수 있는 다른 어떤 위험 인자에 대해서는 연관성이 없어야 한다.
- (3) 결과 변수와는 직접적인 연관성이 없어야 한다.

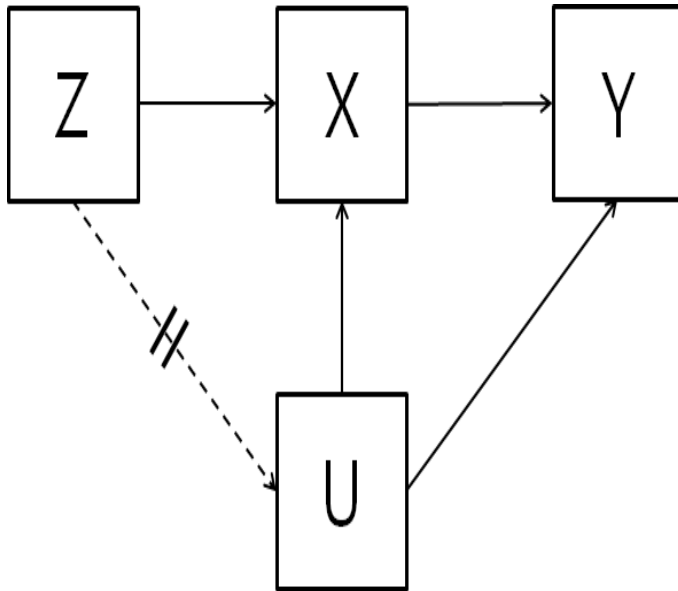


그림 1 멘델리안 무작위화에서 도구변수, 노출 변수, 결과 변수, 교란 변수의 관계 도식도.

Z: SNP을 이용한 도구변수, X: 노출변수, Y:결과변수, U:측정되지 않은 교란요인

1.5 연구의 목적

소아에서 납 노출과 ADHD에 대한 관찰적 역학 연구는 많이 시행되었고, 일관되는 양의 연관성이 있음을 보고하고 있다. 하지만 관찰연구의 천성적인 한계점, 역 인과관계(reverse causation)과 측정되지 않은 교란요인으로 인해 납이 ADHD를 발생시킨다고 주장하기에는 다소 무리가 있다. 따라서 본 연구의 목적은 멘델리안 무작위화 방법을 이용하여 이러한 관찰적 연구의 한계를 극복하여 납과 ADHD사이의 인과적 관계에 대하여 알아보하고자 함에 있다.

II. 연구 방법

2.1 연구 대상자와 연구 디자인

본 연구는 2005년 초부터 2010년 말까지 진행된 패널조사 “어린이의 환경노출에 의한 건강영향 조사(Children’s Health and Environment Research, CHEER)”에서 모집한 대상자를 사용하였다. CHEER 연구에서 대상자들은 대도시 지역 3곳(서울특별시, 대구광역시, 광주광역시), 공업단지 지역 4곳(여수시, 인천광역시, 부산광역시, 목포시), 농촌 지역 3곳(천안시, 정읍시, 제주시), 이렇게 10개 도시의 33개의 초등학교에서 모집, 조사되었다. 총 6년간 7059명이 조사에 한 번 이상 참여하였는데, 이 중 유전자 검사에 동의한 1829명에 대한 정보를 본 연구에서 분석에 사용하였다. CHEER의 코호트에서 ADHD 증상 관련 설문을 통하여 ADHD 의심군을 정의하여 ADHD에 해당하지 않는 나머지 코호트와 비교, 분석을 시행하였으므로 본 연구의 디자인은 환자-코호트 디자인(case-cohort design)이라 볼 수 있을 것이다.

2.2 혈중 납 농도 측정

본 연구진은 각각의 연구 대상자에서 혈중 납 농도를 측정하기 위하여 3-5 mL의 전혈을 채취하였다. 채취한 전혈은 헤파린 튜브에 밀봉하였다. 이 생체시료에서 원자 흡수 분광 광도법(Spectral AA-800 Zeeman correction, Varian, Australia)을 이용하여 혈중 납 농도를

측정하였다.

본 저자는 CHEER의 연구 기간인 2005년부터 2010년을 대표할 수 있는 혈중 납 농도 값 변수 생성을 위해서 해당 기간에 한 번 이상 측정된 값을 평균을 내어, 해당 기간 동안의 만성적인 납 노출 정도를 반영하였다. 만약 특정 대상자가 납 측정을 한 번 밖에 하지 않았을 경우, 그 값을 그대로 사용하였다.

2.3 ADHD 증상의 평가

ADHD 증상을 평가하기 위해 Dupaul이 개발한 Attention Deficit Hyperactivity Disorder rating scale의 한국어판(K-ARS)(18)을 사용하였다. 본 연구에서는 해당 소아의 부모 혹은 보호자가 작성을 해주었다. 이 K-ARS 설문은 미국 정신의학회의 DSM-IV를 기본으로 제작이 되었다. CHEER연구에서는 본 설문도구가 연구 전체 기간의 두 번째년도인 2006년에 도입이 되었다. 따라서 본 저자는 2005년에는 K-ARS 데이터를 얻을 수 없었다. K-ARS는 18개의 문항으로 구성되어 있고 이중 9 문항은 부주의 증상, 다른 9 문항은 과잉행동과 충동적 증상에 대한 것이다(표 2). 각각의 문항에 대하여 4가지 답변을 할 수 있는데 ‘드물다, 아니다’에 0점, ‘다소 그렇다’에 1점, ‘종종 그렇다’에 2점, ‘항상 혹은 매우 자주 그렇다’에 3점을 부과하게 되어, 가능한 총점은 0점에서 54점 사이에 분포하게 된다.

CHEER연구에서 혈중 납과 마찬가지로 본 설문도구 또한 연속적으로 검사가 되었다. 만약 특정 대상자가 해당 연구 기간 동안 두 번 이상 본 도구에 참여하였다면, 그 중 더 높은 점수를 본 분석에 사용하였다. 한번 참여하였을 경우, 그대로 그 점수를 분석에 사용하였다. 본 연구에서 사용한 K-ARS의 경우 ADHD 의심군의 기준 점수가 19점으로 알려져 있어 이 중단점(cut-off value)를 사용하여 의심군을 정의하였다(18). 하지만 ADHD의 경우 해당 증상에 대하여 연속적인 스펙트럼을 나타낸다(3). 따라서 19점 뿐 아니라, 예를 들어 75분위값을 중단점으로 잡는 등, 여러 가지 기준을 만들어 분석에 사용하였다.

표 2. Attention Deficit Hyperactivity Disorder rating scale의 18문항

Inattention

Fails to give close attention to details or makes careless mistakes in schoolwork/homework.
Has difficulty keeping attention on tasks or play activities.
Does not seem to listen when spoken to directly.
Does not follow through on instructions and fails to finish schoolwork or chores.
Has difficulty organizing tasks and activities.
Avoids or strongly dislikes tasks that require sustained mental effort (e.g., homework)
Loses things necessary for tasks or activities (e.g., pencils, books, toys, etc).
Is easily distracted by outside stimuli.
Is forgetful in daily activities.

Impulsivity and Hyperactivity

Fidgets with hands or feet or squirms in seat.
Leaves seat in situations in which remaining seated is expected (e.g., dinner table).
Runs about or climbs in situations where it is inappropriate.
Has difficulty playing quietly.
Is “on the go” or acts “driven by a motor.”
Talks excessively.
Blurts out answers to questions before the questions have been completed.
Has difficulty awaiting turn.
Interrupts others or intrudes on others (e.g., butts into games).

2.4 유전형질 분석(Genotyping)

Pubmed, Catalog of Published GWAS, KEGG, GeneCards, BioCarta, Reactome 등의 데이터 목록을 이용하여 납 농도와 관련된 후보 SNPs를 선정하였다. 후보유전자에서 전사조절부위와 코딩영역에 존재하는 SNP를 우선적으로 선정하였다. 연구참여자의 전혈에서 G-Dex™ Iib genomic DNA extration kit for Blood(Intron)시약을 사용하여 유전체 DNA(genomic DNA) 추출하였으며, customized BeadArray platform으로 192-plex SNP를 동시에 분석할 수 있는 방법인 GoldenGate assay를 통해 유전형질을 분석하였다.

2.5 통계 분석

연구 대상자에서 조사된 혈중 납 농도와 K-ARS 점수에 대하여 통계적인 요약 수치 값을 제시하였다. K-ARS에 따라 ADHD의심군을 정의하였으며 비의심군에 대하여 해당 그룹의 혈중 납 농도, 성별, 연령, 거주 지역, 부모의 교육 수준, 가계 소득 수준, 부모의 혼인 상태, 정신 질환의 가족력, 간접흡연력 등에 대한 일반적 특성 및 다른 잠재적 위험 요인의 분포 및 분율의 차이에 대하여 알아보았다. 연속형 변수에 대해서는 그 변수의 정규성 여부에 따라 Wilcoxon rank sum test 및 t-test를, 범주형 변수에 대해서는 chi-square test를 사용하여 그룹별 차이를 통계적으로 검정하였으며 p-value를 제시하였다.

또한 납 농도에 따라서 위에 기술한 일반적 특성과 ADHD에 대한 다른 잠재적 위험 요인 분포 및 분율의 차이를 통계적 분석방법으로 검정

하였으며, 도구변수로 사용되는 rs1805313 SNP의 유전자형에 따라 역시 일반적 특성과 다른 잠재 위험 변수에 대하여 분포 및 분율의 그룹별 차이에 대하여 통계적으로 검증하였다. 납 농도가 높아질수록, 혹은 효과 대립 형질(effect allele, 즉 혈중 납 농도를 높이는 효과가 있는 대립 형질)을 많이 가지는 그룹에 속할수록 해당 분포 및 분율의 선형 경향성이 나타나는지에 대하여 검증하기 위해 ANOVA와 linear-by-linear association test를 사용하였으며 p-value를 제시하였다.

기존 관찰적 연관성(observational association) 분석으로는 혈중 납 농도가 ADHD 의심군에 속할 위험에 연관성이 있는지 여부에 대해 알아보기 위해 로지스틱 회귀분석을 이용하였다. 보정을 하지 않은 모델과 연령과 성별만 보정한 모델, 그리고 추가적으로 거주지역, 아버지의 교육 수준, 가계 소득, 부모의 혼인 상태, 정신질환의 가족력, 간접흡연력을 보정한 모델, 이렇게 세 모델을 제시하였다. 멘델리안 무작위화에서는 도구변수에 따른 혈중 납 농도의 분포를 선형회귀분석으로 모델링하기 때문에 혈중 납 농도에 자연로그변환을 하여 분석을 시행하게 된다. 따라서 기존 관찰적 연관성 분석에서도 혈중 납 농도에 대하여 로그변환을 하여 로지스틱 회귀분석에 예측변수로 적용하였으며, 최종적으로 산출되는 오즈비(Odds ratio, OR)를 제시할 때 혈중 납 농도가 30% 증가 당 OR값으로 제시하였다. 더불어 혈중 납 농도를 분포에 따라 4분위 그룹으로 나누어 1분위 그룹을 기준 그룹으로 설정하여 2, 3, 4분위 그룹에서 위험이 얼마나 올라가는지에 대하여 알아보았다.

기존 관찰적 연관성 분석을 통해, 혈중 납 농도에 대한 K-ARS 점수, 즉 연속 변수에 대해서도 선형회귀분석을 통하여 그 연관성을 알아보았다. K-ARS 점수를 그대로 사용한 연속 변수와 비대칭도(skewness)를 고려하여 해당 점수에 제곱근을 적용하여 만든 연속 변수 모두를 사용하였다. 본 분석에도 연령과 성별, 거주지역, 아버지의 교육 수준, 가계 소득, 부모의 혼인 상태, 정신질환의 가족력, 간접흡연력을 보정하여 베타값과 그 신뢰구간을 제시하였다. 이 분석에도 혈중 납 농도에 대해 로그 변환을 하였기 때문에 로그 혈중 납 농도의 1 표준편차(0.32) 만큼 증가할 때의 베타값을 제시하였다.

위에서 기술한 통계 방법은 혈중 납 농도와 ADHD 의심군 진단 위험, K-ARS 점수와의 연관성이 선형이라고 가정한 것이다. 비록 혈중 납 농도의 범위가 넓지는 않으며 저농도 환경 노출이지만 위의 연관성에 있어 비선형적인 연관성을 보일 수도 있을 것이다. 따라서 generalized additive model을 통하여 위 연관성에 대한 비선형적인 관계가 있는지에 대해 알아보았으며, 만약 비선형성이 뚜렷하다면 piecewise regression을 통해 회귀직선을 2개 이상으로 분할하여 그 연관성에 대해 알아보았다.

멘델리안 무작위화 분석에는 rs1805313 SNP을 사용하였다. 본 연구에서 후보 유전자 중 혈중 납 농도를 높이는 유전자 중 δ -aminolevulinic acid dehydratase(ALAD) 코딩 유전자의 인트론 영역에 있는 SNP으로 9번 염색체에 116151191번 염기 서열에 해당한다. ALAD 유전자는 염색체 9q34번에 위치하고 있다. ALAD는 델타아미노레블린산을 포르포빌리노겐으로 변화하는데 관여하는 효소이며, 포

르피린과 헴 합성에 관여한다. ALAD는 혈중에 들어온 납과 결합하여 억제된다. 이러한 생물학적 기전으로 인해 ALAD 유전자의 다형성으로 인해 체내에 ALAD의 음전하 정도가 달라지기 때문에 인체에 들어온 납의 흡수, 분포, 동역학(kinetics)에 기여하는 바가 있다(19). Zhao et al.(19)은 1994년부터 2005년까지 출판된 ALAD 유전자 다형성과 혈중 납 농도와의 연관성에 관련한 논문들을 체계적 문헌고찰을 통해 선정하였고, 메타분석의 변량효과모델에서 ALAD-2 유전자형을 가지고 있는 그룹에서 ALAD 1/1 동형접합체(homozygote) 그룹보다 혈중 납 농도가 1.51 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 높았다. 하지만 이 메타분석의 경우 포함된 연구들 대부분이 근로자에서 작업노출이거나 오염 지역의 노출을 반영하였기 때문에 이 연구 결과에서 산출된 효과크기를 일반 인구에 적용하기는 어려울 것이다. 혈중 납에 대한 전장유전체연관분석연구(genome-wide association study, GWAS)도 한편 보고가 되었다(20). 일반인을 대상으로 한 코호트 세 연구, 즉 1993-1996년, 2002-2005년의 호주연구의 표본과 1991-1992년의 영국표본을 바탕으로(N = 5433) 혈중 납 농도에 대한 GWAS연구에서 통계적으로 유의한 단일염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)로 rs1805313(beta = 0.265, p = 1.65 * 10⁻⁹) 보고가 되었으며 제안적(suggestive) 연관성이 보고된 SNP 12개를 보고하였다(표 3)(20). 여러 한계점이 있고 해석상의 주의도 많이 요할 것임은 분명하나 rs1805313은 9번 염색체 ALAD 유전자좌 근처 인트론 영역에 위치하여 ALAD 유전자의 다형성에 따른 혈중 납 농도 변화에 대한 가설을 더욱 제기한다고 볼 수 있다.

표 3 GWAS를 통해 혈중 납과 연관성이 보고된 SNP의 목록 (Warrington et al, 2015)

SNP	Chr	Position	Nearest Gene	EA	OA	EAF	Beta	SE	P-value
rs1805313	9	116151191	ALAD	T	C	0.683	0.142	0.027	3.91×10^{-14}
rs12136530	1	19761429	CAPZB	T	C	0.793	0.160	0.035	2.51×10^{-6}
rs2662776	1	16316529	RGS5	T	C	0.467	0.999	0.467	2.54×10^{-6}
rs76153987	3	9214817	SRGAP3	A	G	0.050	0.970	0.050	3.58×10^{-6}
rs9863067	3	84147443	GBE1-C ADM2	G	C	0.904	0.194	0.044	1.38×10^{-6}
rs79019069	3	14848123	AGTR1/ CPB1	T	C	0.974	0.889	0.974	2.33×10^{-6}
rs116864947	7	11705786	THSD7A	A	G	0.983	-0.431	0.102	3.06×10^{-7}
rs6462018	7	27519118	EVX1-H IBADH	C	T	0.504	0.945	0.504	4.26×10^{-6}
rs798338	7	7791738	MAGI2	T	C	0.354	-0.111	0.027	3.88×10^{-6}
rs60580184	7	138850967	TTC26	T	C	0.025	0.998	0.025	1.42×10^{-7}
rs550057	9	136146597	ABO	A	G	0.266	-0.116	0.030	3.02×10^{-6}
rs144653651	18	12909504	PTPN2- SEH1L	T	C	0.075	0.265	0.050	1.75×10^{-7}
rs16968074	19	33884341	PEPD	T	C	0.686	0.975	0.686	8.64×10^{-7}

Chr: chromosome, EA: effect allele, OA: other allele, EAF: effect allele frequency

멘델리안 무작위화 분석에 사용되는 rs1805313을 예측변수로 하여, 본 연구의 노출변수인 로그변환된 혈중 납 농도 변수에 대하여 선형회귀 분석을 시행하였다. 효과 대립 형질 하나 당 효과를 반영한 베타값과 표준오차, 그리고 p-value를 제시하였으며, 모델에서 도구변수가 얼마나 잘 노출변수를 설명하는지에 대한 F 값도 같이 산출하였다. 절대적인 기준은 없으나 이 F 값이 10 이하일 때 연관성이 약한 도구변수(weak instrumental variable)로 간주된다. 더불어 K-ARS 점수와 ADHD 의 심균에 대해서도 본 도구변수를 예측변수로 하여 각각 선형회귀분석과 로지스틱 회귀분석으로 통해 그 연관성에 대하여 알아보았다. 도구변수

가 본래의 가정대로 혈중 납 분석에만 연관성을 가지고 있고 납 노출과 ADHD 사이의 교란변수에 대하여 독립적이라고 한다면 도구변수와 결과변수의 연관성은 오로지 노출변수를 통해서만 나타나게 될 것이다. 이럴 경우 도구변수와 결과변수 사이에 연관성이 있다고 할 때 노출변수와 결과변수의 연관성은 인과관계(causal association)이 있다고 판단할 수 있다.

멘델리안 무작위화 분석으로는 2단계 분석 방법을 사용하였다. 도구변수를 이용하여 효과 대립 형질 하나 당 효과에 의한 로그 변환된 혈중 납 농도를 선형회귀모델을 통해 추정하였다. 그 다음에 추정된 로그 혈중 납 농도를 통하여 K-ARS 점수에 다시 선형회귀모델을 통해 베타값과 표준오차, p-value를 제시하였으며, ADHD 의심군에 대해서도 로지스틱 회귀모델을 통하여 OR값과 95% 신뢰구간 및 p-value를 제시하였다. 이 모델에서도 역시 두 번째 단계에서 선형회귀분석의 경우 로그 혈중 납 농도의 1 표준편차(0.32) 증가 당 베타값을 제시하였으며, 로지스틱 회귀분석의 경우 혈중 납 농도 30% 증가 당 OR값을 제시하였다.

모든 통계 검정의 유의수준은 5%로 하였으며 데이터 가공 단계, 기술 분석과 관찰적 연관성 분석에는 R ver 3.1.3(Comprehensive R Archive Network: <http://cran.r-project.org>)을 사용하였으며 멘델리안 무작위화 분석에는 STATA/IC 12.1(StataCorp. 2011. Stata Statistical Software: Release 12. College Station, TX: StataCorp LP.)을 사용하였다.

Ⅲ. 연구 결과

3.1 분석에 포함된 연구 대상자

2005년에서 2010년 사이 진행된 연구인 CHEER에서 한 번이라도 조사에 참여한 대상자의 수는 7059명이다. 이 중 유전자 검사에 동의한 1829명을 대상으로 사전에 미리 결정한 192개의 SNP에 대하여 유전형질 분석을 시행하였다. 이 중 6명은 ADHD 증상 평가를 위한 K-ARS 검사를 받지 않아 제외되었다. 나머지 1823명 중 192개의 SNP 분석을 시행하였는데, 질관리로 인한 기준에 특정 개인에 있어 전체 SNP중 5% 이상이 분석이 되지 않으면 제외시켰으며, 73명이 여기에 해당하였다. 따라서 본 연구에 최종 분석에 포함된 표본의 수는 1750명이었다(그림 2).

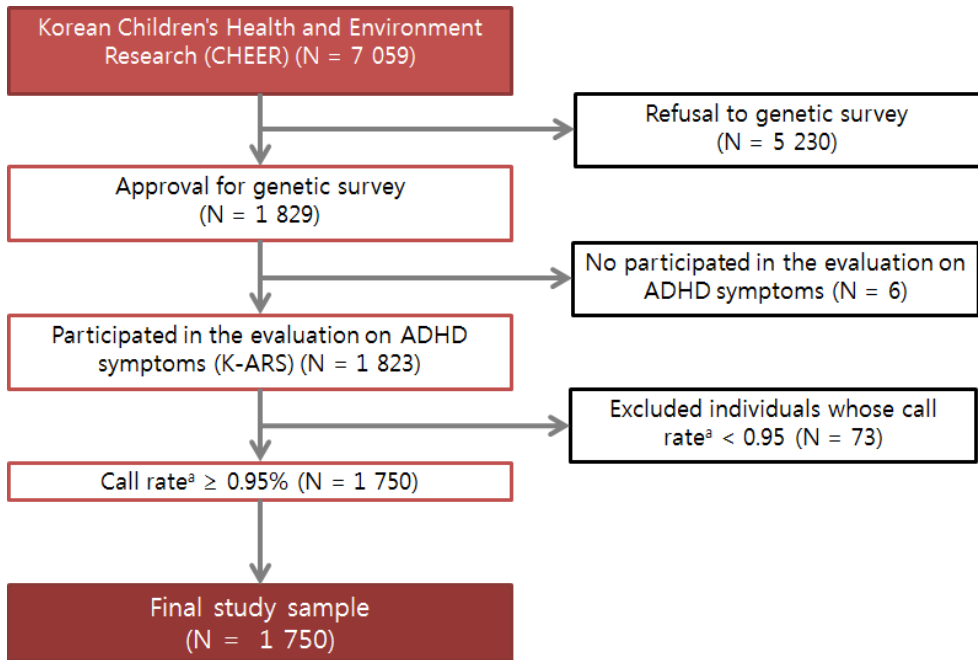


그림 2 본 연구의 최종 분석 대상자 선정의 흐름도

최종적으로 뽑힌 1750명에 대한 2005년부터 2010년까지의 조사 흐름은 표 4과 같다. 2005년에 처음 조사된 329명은 2007, 2009년에 추적 조사를 하였으며, 2006년에 처음 조사된 1029명은 2008, 2010년에 추적조사 되었다. 2007년에 처음 조사된 286명은 2009년에 한번 추적조사 되었다. 마찬가지로 2008년 처음 조사된 100명은 2010년에 한번 추적조사 되었다. 2010년에 처음 조사를 하여 한번 조사한 대상자는 6명이었다. 즉, 연구 참여자는 2005년부터 2010년 사이에 연 단위로 추가로 모집되었으며 특정 개인에 대한 추적조사는 2년에 한 번 이루어진 것이다.

앞서 기술하였듯이 2005년에는 K-ARS가 도입이 되지 않아 2006년부터 조사된 것을 확인할 수 있다. 각 해당 년도 추적 조사된 대상자에서 K-ARS 조사와 혈중 납 농도 측정된 대상자의 수와 그 분율을 표 3에 표시하였다. 2006년 처음 조사된 대상자에서 2010년 K-ARS 검사를 하지 않은 것만 제외한다면 거의 대부분의 검사의 추적은 90% 이상 되었다고 볼 수 있다. 전체 1750명에서 K-ARS 검사의 경우 2008년도에 가장 많이 조사되었으며(N = 1091), 혈중 납 농도의 검사는 2010년도에 가장 많이 측정되었다(N = 1131). 처음 조사 시점으로 보면 2006년에 처음 CHEER에 들어온 대상자가 가장 많았다(N = 1029)(표 4).

표 4. 1750명에 대한 2005년부터 2010년까지 추적 조사된 흐름도

Year		N (%)					Total N (%)
1st survey	Total	329					329
	2005 K-ARS	0 (0.0)					0 (0.0)
	Blood Pb	319 (97.0)					319 (97.0)
	Total	329	1029				1029
2nd survey	2006 K-ARS	↓	961 (93.4)				961 (93.4)
	Blood Pb		991 (96.3)				991 (96.3)
	Total	329	286				615
	2007 K-ARS	↓	310 (94.2)	273 (95.5)			583 (94.8)
Blood Pb		293 (89.1)	273 (95.5)			566 (92.0)	
3rd survey	Total	329	1029	286	100		1129
	2008 K-ARS	↓	997 (96.9)	↓	94 (94.0)		1091 (96.6)
	Blood Pb		984 (95.6)		95 (95.0)		1079 (95.6)
	Total	329	286				615
3rd survey	2009 K-ARS	↓	325 (98.8)	285 (99.7)	↓		610 (99.2)
	Blood Pb		329 (100.0)	286 (100.0)			615 (100.0)
	Total	329	1029	286	100	6	1135
	2010 K-ARS		0 (0.0)		99 (99.0)	6 (100.0)	105 (9.3)
Blood Pb		1025 (99.6)		100 (100.0)	6 (100.0)	1131 (99.6)	
Ever-participated	Sample	329 (18.8)	1029 (58.8)	286 (16.3)	100 (5.7)	6 (0.3)	1750 (100.0)
	Total	329 (100.0)	1029 (100.0)	286 (100.0)	100 (100.0)	6 (100.0)	1750 (100.0)
	Blood Pb	329 (100.0)	1029 (100.0)	286 (100.0)	100 (100.0)	6 (100.0)	1750 (100.0)

Distribution of K-ARS score

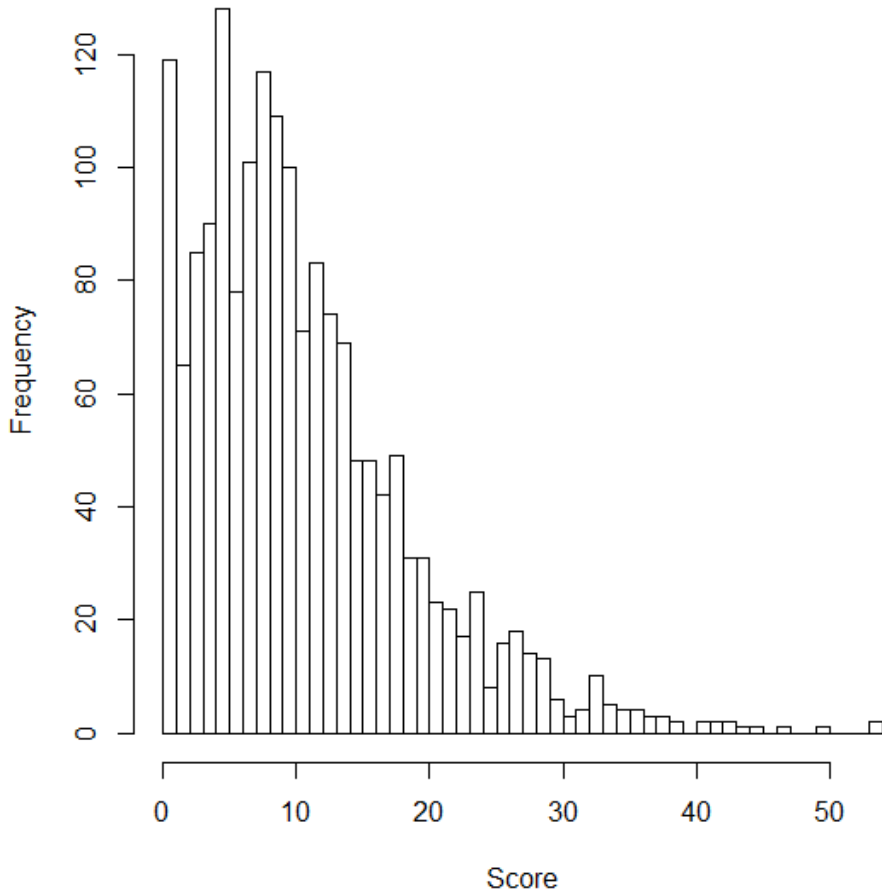


그림 3 연구 대상자의 K-ARS 점수 분포를 나타낸 히스토그램

표 5 1750명의 대상자의 K-ARS 점수 분포

Min.	25th P	Median	Mean	75th P	Max.
0	5	9	11.1	15	54

Min.: minimum, P: percentile, Max.: maximum

본 연구의 대상자의 K-ARS 점수의 분포의 히스토그램과 분포 요약 값을 그림 3과 표 5에 제시하였다. 점수의 경우 오른쪽으로 치우친 분포를 나타내었으며, 0점부터 만점인 54점까지 분포하였다. 본 연구 대상자 전체로 볼 때 점수의 중위수는 9점이었으며 평균은 11.1점이었다.

K-ARS 점수에서 19점 이상을 받은 대상자를 ADHD 의심군으로 보았다. 1750명 중 274명(15.7%)가 ADHD 의심군에 해당하였다. 2010년 기준으로 11세가 947명(54.1%)로 가장 많았으며, 농촌지역(N = 444, 25.4%)보다 도시지역(N = 658, 37.6%)과 공단지역(N = 648, 37.0%) 대상자가 더 많았다(표 6).

ADHD 의심군과 비의심군으로 나누어 인구학적 특성과 잠재적 ADHD 위험요인에 대한 분포 및 분율을 살펴보았다. ADHD 의심군에서의 혈중 납 농도의 기하평균은 1.75 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었으며 비의심군에서는 1.67 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었다. 그룹에 따른 농도의 차이는 5% 유의수준에는 살짝 벗어났으나 경계적인 유의함(borderline significance)을 보였다($p = 0.065$). 성별로 보았을 때는 여아 885명 중 86명(9.7%), 남아 865명 중 188명(21.7%)으로 남아에서 ADHD 의심군 진단이 약 2.2배 정도 많았다($p < 0.001$). 사는 지역으로 보았을 때는 농촌지역에서 사는 경우 ADHD 의심군에 많이 해당되었으며(N = 85, 19.1%), 지역에 의한 차이는 통계적으로 유의하였다($p = 0.004$). 부모의 결혼 상태 여부에 따라서도 유병율에 차이가 있었는데, 이혼하였거나 결별한 부모, 혹은 한 부모 가정인 경우 ADHD 의심군에 많이 해당하였다(22.6% vs. 15.1%, $p = 0.018$). 정신질환 가족력에 따른 ADHD 의심군 진단 여부는 통계적으로 유의하지 않았다. 임신 중 어머니의 흡연은 이 문항에 응답한 대

상자 중 약 0.5%에 지나지 않았다. 임신 중 간접흡연 노출과 생 후 간접흡연 노출에 대해서는 이 문항에 응답한 대상자의 20-30%가 ‘예’라고 응답하였으며, ‘예’라고 응답한 군에서 ADHD 의심군의 비율이 더 많은 것을 관찰할 수 있었으나 이는 통계적으로 유의하지는 않았다 (임신 중 간접흡연: ‘예’ : 18.1% vs ‘아니오’ : 14.6%, $p = 0.134$; 생 후 간접흡연: ‘예’ : 17.6% vs ‘아니오’ : 14.3%, $p = 0.102$) (표 6).

표 6 ADHD 의심군, 비의심군에 따른 혈중 납 농도와 일반 인구학적 특성, 잠재적 ADHD의 위험요인의 분포

	Total (N=1750)		Non-ADHD (N=1476, 84.3%)		Suspected ADHD (N=274, 15.7%)		p-value ^e
	N	%	N	%	N	%	
Blood Pb level ($\mu\text{g}/\text{dL}$) [GM, GSD]	1.68	1.38	1.67	1.39	1.75	1.33	0.065
Gender							
Boys	865	49.4	677	78.3	188	21.7	
Girls	885	50.6	799	90.3	86	9.7	<0.001
Age at 2010 (year old)							
10	355	20.3	302	85.1	53	14.9	
11	947	54.1	788	83.2	159	16.8	
12	299	17.1	255	85.3	44	14.7	
13	149	8.5	131	87.9	18	12.1	0.439
Residential area							
Urban	658	37.6	578	87.8	80	12.2	
Industrial complex	648	37.0	539	83.2	109	16.8	
Rural	444	25.4	359	80.9	85	19.1	0.004
Paternal educational level (years)							
≤ 12	694	46.2	577	83.1	117	16.9	
> 12	807	53.8	695	86.1	112	13.9	0.126
Maternal educational level (years)							
≤ 12	893	59.7	748	83.8	145	16.2	
> 12	602	40.3	518	86.0	84	14.0	0.259
Household income (10,000 KRW)							
<200	342	21.3	281	82.2	61	17.8	
200-399	926	57.6	783	84.6	143	15.4	
≥ 400	341	21.2	300	88.0	41	12.0	0.103
Parental marital status							
Married	1520	90.3	1290	84.9	230	15.1	
Single (divorced, widowed or separated)	164	9.7	127	77.4	37	22.6	0.018
Family history of psychiatric disorders²							

	Total (N=1750)		Non-ADHD (N=1476, 84.3%)		Suspected ADHD (N=274, 15.7%)		p-value ^e
	N	%	N	%	N	%	
No	1699	97.1	1434	84.4	265	15.6	0.840
Yes	51	2.9	42	82.4	9	17.6	
Mean annual PM₁₀ at elementary school($\mu\text{g}/\text{m}^3$) [mean,SD]	55.19	7.02	55.25	6.97	54.82	7.29	0.342
Maternal smoking at pregnancy							
No	1500	99.5	1273	84.9	227	15.1	0.109
Yes	8	0.5	5	62.5	3	37.5	
Maternal alcohol drinking at pregnancy							
No	1348	92.0	1145	84.9	203	15.1	>0.999
Yes	118	8.0	100	84.7	18	15.3	
Maternal ETS exposure at pregnancy							
No	1170	76.5	999	85.4	171	14.6	0.134
Yes	360	23.5	295	81.9	65	18.1	
ETS exposure							
No	1014	66.3	869	85.7	145	14.3	0.102
Yes	516	33.7	425	82.4	91	17.6	

1 P-values were calculated using t-test, Wilcoxon rank sum test or chi-square test.

2 Any of the following disorders (physician-diagnosed) of parents or siblings: anxiety disorder, ADHD, autism, schizophrenia.

Numbers do not always sum up to the same total because of missing values.

GM: geometric mean, GSD: geometric standard deviation, PM: particulate matter,

ETS: environmental tobacco smoke

혈중 납 농도에 따른 K-ARS 점수와 ADHD 의심군의 분율 및 일반 인구학적 특성과 ADHD의 잠재적 위험요인의 분포를 살펴보았다. 혈중 납 농도의 사분위 그룹을 나누어 변수들을 살펴보았다(표 7).

K-ARS의 점수의 중위수와 95퍼센타일 값을 살펴보면 혈중 납 농도가 올라감에 따라 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(중위수: Q1: 8.5, Q2: 9.0, Q3: 9.0, Q4: 10.0, $p < 0.001$). K-ARS 19점 이상으로 정의된 ADHD 의심군 역시 혈중 납 농도가 증가함에 따라 해당하는 비율이 높아졌으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Q1: 12.6%, Q2: 16.1%, Q3: 16.9%, Q4: 17.1%, $p = 0.216$). 혈중 납 농도가 높아짐에 따라 ADHD 의심군 진단의 비율이 올라가는 선형성 검정에 대하여 통계적으로 경계성 유의성을 보였다($p = 0.061$) (표 7).

성별로 살펴보면 4사분위 그룹에서 1,2,3사분위 그룹에 비해 남아의 비율(57.5%)이 많이 오르는 것을 관찰할 수 있었으며 이는 통계적으로 유의하였다($p = 0.001$). 2010년 기준의 나이로 살펴보았을 때 혈중 납 농도가 높은 그룹에서 10세 아이가 차지하는 비율이 높았으며(25.3%) 이는 통계적으로 유의하였다($p = 0.022$) (표 7).

거주지역으로 보았을 때 혈중 납 농도가 증가하는 경우 경향이 보였던 것은 농촌에 거주하는 비율이었다. 1사분위그룹에서 21.5%, 2사분위그룹에서 24.3%, 3사분위그룹에서 28.1%, 4사분위그룹에서 27.6%였으며 이는 통계적으로 유의하였다($p = 0.012$). 혈중 납 농도가 높아짐에 따라 대도시 거주 비율이 낮아지고 농촌 거주 비율이 올라가는 선형성 관계가 통계적으로 유의성을 보였다($p = 0.002$) (표 7).

부모의 교육수준을 살펴보았을 때는 어머니 교육수준보다는 아버지 교육수준의 차이가 그룹 별로 관찰되었으나 선형적 관계는 어머니 교육수

준에서 두드러졌다. 아버지의 교육수준은 혈중 납 농도에 따라서 차이가 있었으나($p = 0.042$), 선형성에 대해서는 통계적으로 유의하지 않았다($p = 0.325$). 납 농도가 높아짐에 따라 저소득층이 증가($p = 0.022$), 부모의 이혼, 한부모 가정 비율의 증가($p = 0.021$), 정신질환의 가족력 비율의 증가($p = 0.019$)와 선형적 경향성을 보였다. 간접흡연의 경우도 혈중 납 농도가 높은 그룹일 수록 해당하는 비율이 높아지는 경향이 약하게 관찰되었지만 3분위그룹에서 임신 중 간접흡연, 생 후 간접흡연 경험율이 가장 높았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(각각 $p = 0.526, 0.244$) (표 7).

표 7 혈중 납 농도에 따른 K-ARS 점수, ADHD 의심군 분율 및 일반 인구학적 특성과 ADHD의 위험요인의 분포

	Blood Pb level ($\mu\text{g/dL}$)										p-value ¹	p for linear trend ²
	Total (N=1750)		Q1 (N=438)		Q2 (N=436)		Q3 (N=438)		Q4 (N=438)			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
K-ARS score (points) [median, 95th P]	9.0	27.0	8.5	28.0	9.0	26.0	9.0	26.6	10.0	29.0	<0.001	<0.001
Suspected ADHD												
No	1476	84.3	383	87.4	366	83.9	364	83.1	363	82.9		
Yes	274	15.7	55	12.6	70	16.1	74	16.9	75	17.1	0.216	0.061
Gender												
Boys	865	49.4	194	44.3	212	48.6	207	47.3	252	57.5		
Girls	885	50.6	244	55.7	224	51.4	231	52.7	186	42.5	0.001	0.0003
Age at 2010 (year old)												
10	355	20.3	89	20.3	74	17.0	81	18.5	111	25.3		
11	947	54.1	217	49.5	255	58.5	250	57.1	225	51.4		
12	299	17.1	77	17.6	68	15.6	87	19.9	67	15.3		
13	149	8.5	55	12.6	39	8.9	20	4.6	35	8.0	0.022	0.002
Residential area												
Urban	658	37.6	174	39.7	187	42.9	153	34.9	144	32.9		
Industrial complex	648	37.0	170	38.8	143	32.8	162	37.0	173	39.5		
Rural	444	25.4	94	21.5	106	24.3	123	28.1	121	27.6	0.012	0.002

	Blood Pb level ($\mu\text{g/dL}$)										p-value ¹	p for linear trend ²
	Total (N=1750)		Q1 (N=438)		Q2 (N=436)		Q3 (N=438)		Q4 (N=438)			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
Paternal educational level (years)												
≤12	694	46.2	183	47.9	157	42.3	162	43.2	192	51.5		
>12	807	53.8	199	52.1	214	57.7	213	56.8	181	48.5	0.042	0.325
Maternal educational level (years)												
≤12	893	59.7	221	57.7	211	57.0	226	60.6	235	63.7		
>12	602	40.3	162	42.3	159	43.0	147	39.4	134	36.3	0.231	0.059
Household income (10,000 KRW)												
<200	342	21.3	79	19.1	86	21.4	80	20.4	97	24.1		
200-399	926	57.6	234	56.5	232	57.9	226	57.7	234	58.2		
≥400	341	21.2	101	24.4	83	20.7	86	21.9	71	17.7	0.298	0.022
Parental marital status												
Married	1520	90.3	391	93.1	386	91.0	369	87.6	374	89.3		
Single (divorced, widowed or separated)	164	9.7	29	6.9	38	9.0	52	12.4	45	10.7	0.049	0.021
Family history of psychiatric												

	Blood Pb level ($\mu\text{g}/\text{dL}$)										p-value ¹	p for linear trend ²
	Total (N=1750)		Q1 (N=438)		Q2 (N=436)		Q3 (N=438)		Q4 (N=438)			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
disorders												
No	1699	97.1	431	98.4	426	97.7	421	96.1	421	96.1		
Yes	51	2.9	7	1.6	10	2.3	17	3.9	17	3.9	0.104	0.019
Mean annual PM₁₀ at elementary school ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) [mean,SD]	55.19	7.02	55.41	6.78	54.79	6.65	55.28	6.88	55.26	7.72	0.582	0.972
Maternal smoking at pregnancy												
No	1500	99.5	382	99.5	374	99.7	378	99.5	366	99.2		
Yes	8	0.5	2	0.5	1	0.3	2	0.5	3	0.8	0.752	0.504
Maternal alcohol drinking at pregnancy												
No	1348	92.0	348	93.5	325	89.5	344	93.0	331	91.7		
Yes	118	8.0	24	6.5	38	10.5	26	7.0	30	8.3	0.194	0.728
Maternal ETS exposure at pregnancy												
No	1170	76.5	309	78.0	292	77.5	282	73.8	287	76.5		
Yes	360	23.5	87	22.0	85	22.5	100	26.2	88	23.5	0.526	0.395
ETS exposure												

	Blood Pb level ($\mu\text{g}/\text{dL}$)										p-value ¹	p for linear trend ²
	Total (N=1750)		Q1 (N=438)		Q2 (N=436)		Q3 (N=438)		Q4 (N=438)			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
No	1014	66.3	270	68.2	255	67.6	237	62.0	252	67.2		
Yes	516	33.7	126	31.8	122	32.4	145	38.0	123	32.8	0.244	0.419

1 P-values were calculated using ANOVA or chi-square test.

2 P-values were calculated using linear-by-linear association test.

Quartile cutpoints for blood Pb level, Q1:<1.37 $\mu\text{g}/\text{dL}$,Q2:1.37-<1.68 $\mu\text{g}/\text{dL}$,Q3:1.68-<2.06 $\mu\text{g}/\text{dL}$,Q4:2.06-10.37 $\mu\text{g}/\text{dL}$

Numbers do not always sum up to the same total because of missing values.

P: percentile, GSD: geometric standard deviation, PM: particulate matter, ETS: environmental tobacco smoke

표 8 rs1805313 유전자형에 따른 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의 심군, 일반적인 특성 및 ADHD 잠재 위험요인의 분포.

	rs1805313 genotype						p _e ⁻ valu	p for linear trend ²
	CC (N=330, 18.9%)		TC (N=883, 50.6%)		TT (N=532, 30.5%)			
	N	%	N	%	N	%		
Blood Pb level ($\mu\text{g/dL}$) [GM, GSD]	1.61	1.37	1.66	1.38	1.76	1.38	<0.001	<0.001
K-ARS score (points) [median, 95th P]	9.0	26.0	9.5	28.0	9.0	26.7	0.231	0.941
Suspected ADHD								
No	288	87.3	738	83.6	445	83.6		
Yes	42	12.7	145	16.4	87	16.4	0.256	0.208
Gender								
Boys	177	53.6	433	49.0	252	47.4		
Girls	153	46.4	450	51.0	280	52.6	0.193	0.087
Age at 2010 (year old)								
10	63	19.1	174	19.7	117	22.0		
11	182	55.2	496	56.2	265	49.8		
12	45	13.6	159	18.0	95	17.9		
13	40	12.1	54	6.1	55	10.3	0.003	0.930
Residential area								
Urban	117	35.5	347	39.3	191	35.9		
Industrial complex	133	40.3	321	36.4	192	36.1		
Rural	80	24.2	215	24.3	149	28.0	0.324	0.393
Paternal educational level (years)								
≤ 12	140	47.8	344	45.4	208	46.6		
>12	153	52.2	414	54.6	238	53.4	0.766	0.839
Maternal educational level (years)								
≤ 12	176	60.5	446	58.8	267	60.4		
>12	115	39.5	312	41.2	175	39.6	0.821	0.941
Household income (10,000 KRW)								
<200	67	21.8	164	20.2	111	22.9		
200-399	169	54.9	481	59.2	273	56.4		
≥ 400	72	23.4	168	20.7	100	20.7	0.583	0.384
Parental marital status								
Married	288	89.7	770	90.8	457	89.6		
Single (divorced, widowed or separated)	33	10.3	78	9.2	53	10.4	0.729	0.856
Family history of psychiatric disorders								
No	318	96.4	858	97.2	518	97.4		

	rs1805313 genotype						p _e ¹ -valu	p for linear trend ²
	CC (N=330, 18.9%)		TC (N=883, 50.6%)		TT (N=532, 30.5%)			
	N	%	N	%	N	%		
Yes	12	3.6	25	2.8	14	2.6	0.678	0.424
Mean annual PM ₁₀ at elementary school($\mu\text{g}/\text{m}^3$) [mean,SD]	55.72	7.1	55.06	6.8	55.06	7.2	0.304	0.228
Maternal smoking at pregnancy								
No	289	99.7	754	99.3	453	99.6		
Yes	1	0.3	5	0.7	2	0.4	>0.999	0.950
Maternal alcohol drinking at pregnancy								
No	253	91.3	678	91.5	413	93.0		
Yes	24	8.7	63	8.5	31	7.0	0.599	0.370
Maternal ETS exposure at pregnancy								
No	222	76.0	584	75.4	360	78.4		
Yes	70	24.0	191	24.6	99	21.6	0.462	0.366
ETS exposure								
No	201	68.8	503	64.9	308	67.1		
Yes	91	31.2	272	35.1	151	32.9	0.438	0.770

1 P-values were calculated using ANOVA or chi-square test.

2 P-values were calculated using linear-by-linear association test.

Numbers do not always sum up to the same total because of missing values.

P: percentile, GM: geometric mean, GSD: geometric standard deviation, PM: particulate matter, ETS: environmental tobacco smoke

rs1805313 SNP이 본 연구의 멘델리안 무작위화에 쓰이는 도구 변수이다. 유전자형에 따라 CC, TC, TT그룹으로 분류가 되며 혈중 납 농도를 높이는 효과 대립 유전자는 T이다. CC에 330명(18.9%), TC에 883명(50.6%), TT에 532명(30.5%)에 해당하였다(표 8).

그룹에 따라 혈중 납 농도의 기하평균은 각각 1.61, 1.66, 1.76으로 통계적으로 유의하게 높은 것을 관찰할 수 있었다(p <0.001). 하지만

K-ARS 점수의 경우 TC 그룹이 중위수 9.5, 95퍼센타일값 28.0으로 가장 높은 분포를 보였으나, 각 그룹에 따른 차이는 통계적으로 유의하지 않았다($p = 0.231$). 그룹에 따른 연령차이는 통계적으로 유의하였는데($p = 0.003$), 효과 대립 유전자 두쌍을 가진 TT그룹에서 다른 그룹에 비해 10세 대상자가 많았으나, 특정 경향성에 대해서는 관찰되지 않은 것을 확인할 수 있었다($p = 0.930$) (표 8).

성별, 거주지역, 부모의 교육수준, 가계소득, 부모의 결혼상태, 정신질환의 가족력, 다니는 초등학교의 미세먼지 농도, 어머니의 임신 중 흡연, 음주, 간접흡연 경험율은 도구변수 그룹에 따른 차이가 통계적으로 유의하지 않았다(표 8).

표 9 rs1805313 유전자형(CC vs. TC or TT)에 따른 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군, 일반적인 특성 및 ADHD 잠재 위험요인의 분포

	rs1805313 genotype				p-value ¹
	CC / TC (N= 1213, 69.5%)		TT (N= 532, 30.5%)		
	N	%	N	%	
Blood Pb level ($\mu\text{g}/\text{dL}$) [GM, GSD]	1.65	1.38	1.77	1.38	<0.001
K-ARS score (points) [median, 95th P]	9.0	27.4	9.0	26.7	0.417
Suspected ADHD					
No	1026	84.6	445	83.6	
Yes	187	15.4	87	16.4	0.620
Gender					
Boys	610	50.3	252	47.4	
Girls	603	49.7	280	52.6	0.284

	rs1805313 genotype				p-value ¹
	CC / TC (N= 1213, 69.5%)		TT (N= 532, 30.5%)		
	N	%	N	%	
Age at 2010 (year old)					
10	237	19.5	117	22.0	
11	678	55.9	265	49.8	
12	204	16.8	95	17.9	
13	94	7.7	55	10.3	0.080
Residential area					
Urban	464	38.3	191	35.9	
Industrial complex	454	37.4	192	36.1	
Rural	295	24.3	149	28.0	0.259
Paternal educational level (years)					
≤12	484	46.1	208	46.6	
>12	567	53.9	238	53.4	0.880
Maternal educational level (years)					
≤12	622	59.3	267	60.4	
>12	427	40.7	175	39.6	0.732
Household income (10,000 KRW)					
<200	231	20.6	111	22.9	
200-399	650	58.0	273	56.4	
≥400	240	21.4	100	20.7	0.578
Parental marital status					
Married	1058	90.5	457	89.6	
Single (divorced, widowed or separated)	111	9.5	53	10.4	0.631
Family history of psychiatric disorders					
No	1176	96.9	518	97.4	
Yes	37	3.1	14	2.6	0.746
Maternal smoking at pregnancy					
No	1043	99.4	453	99.6	
Yes	6	0.6	2	0.4	>0.999
Maternal alcohol drinking at pregnancy					
No	931	91.5	413	93.0	
Yes	87	8.5	31	7.0	0.365
Maternal ETS exposure at					

	rs1805313 genotype				p-value ¹
	CC / TC (N= 1213, 69.5%)		TT (N= 532, 30.5%)		
	N	%	N	%	
pregnancy					
No	806	75.5	360	78.4	
Yes	261	24.5	99	21.6	0.248
ETSexposure					
No	704	66.0	308	67.1	
Yes	363	34.0	151	32.9	0.714

1 P-values were calculated using Wilcoxon rank sum test or chi-square test.

Numbers do not always sum up to the same total because of missing values.

P: percentile, GM: geometric mean, GSD: geometric standard deviation, PM: particulate matter, ETS: environmental tobacco smoke

표 8을 보면 혈중 납 농도의 기하평균이 rs1805313 유전자형이 CC 인 그룹에서 1.61 $\mu\text{g}/\text{dL}$, TC와 TT그룹에서 1.66 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 1.76 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이었다. 따라서 효과 대립유전자가 2개일 때(TT)와 1개 이하(CC 또는 TC) 그룹으로 나누어, 즉 열성모델(recessive model)로 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군, 일반적인 특성 및 ADHD 잠재 위험요인의 분포를 알아보았다(표 9).

CC / TC 그룹에 비해 TT 그룹에서 혈중 납 농도가 통계적으로 유의하게 높았다(각 기하평균 : 1.65 $\mu\text{g}/\text{dL}$, 1.77 $\mu\text{g}/\text{dL}$). K-ARS 점수, ADHD 의심군 분율, 성, 연령, 거주지역 등 공변수에 대해서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(표 9).

3.2 혈중 납 농도와 ADHD의 관찰적 연관성

기존의 전통적인 방법인 로지스틱 회귀모델을 이용하여 혈중 납 농도와 ADHD 의심군 진단의 연관성을 살펴보았다. 혈중 납 농도는 로그변환을 하였으며 결과로 제시한 OR값은 혈중 납 농도가 30% 증가할 때를 반영하도록 재계산하였다. 다른 공변수를 하나도 고려하지 않은 모델에서는 혈중 납 농도가 30% 증가할 때 ADHD 의심군으로 진단될 위험이 1.11배 증가(OR = 1.11, 95%CI: 1.00 - 1.24)하였으며 이는 통계적으로 유의하였다. 하지만 연령과 성별, 거주지역, 아버지의 교육수준, 가계소득, 부모의 혼인 상태, 정신질환의 가족력, 간접흡연 경험 여부를 보정한 로지스틱 회귀모델에서는 효과가 상쇄되어 혈중 납 농도가 30% 증가할 때 ADHD 의심군으로 진단될 OR이 1.05(95%CI: 0.94 - 1.17)이었으며 이는 통계적으로 유의하지 않았다(표 10).

혈중 납 농도를 사분위 그룹으로 나누어 로지스틱 회귀모델에 예측 변수로 적용하여서도 살펴보았다. 다른 공변수를 고려하지 않은 모델에서는 1사분위 그룹 대비 2, 3, 4사분위 그룹의 OR이 각각 1.33(95%CI: 0.91 - 1.95), 1.42(95%CI: 0.97 - 2.06), 1.44(95%CI: 0.99 - 2.10)으로 농도가 높아짐에 따라 OR값이 높아지는 경향성이 있었다(p for trend = 0.062). 하지만 연령과 성별, 거주지역, 아버지의 교육수준, 가계소득, 부모의 혼인 상태, 정신질환의 가족력, 간접흡연 경험 여부를 보정한 로지스틱 회귀모델에서는 효과가 상쇄되어 1사분위 그룹 대비 2, 3, 4사분위 그룹의 OR이 각각 1.24(95%CI: 0.83 - 1.83), 1.27(95%CI: 0.86 - 1.87), 1.18(95%CI: 0.80 - 1.75)로 위험은 증가하지만 통계적으로 유의하지는 않았으며 농도가 높아짐에 따른 OR값

의 경향성 또한 사라졌다(p for trend = 0.180) (표 10).

표 10 로지스틱 회귀모델을 통한 혈중 납과 ADHD 의심군의 관찰적 연관성

	Suspected ADHD (N = 274, 15.7%)					
	Crude model		Model 1 ¹		Model 2 ²	
	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
Blood Pb level ³	1.11	1.00 - 1.24	1.08	0.97 - 1.20	1.05	0.94 - 1.17
Q 1	ref.		ref.		ref.	
Q 2	1.33	0.91 - 1.95	1.26	0.86 - 1.86	1.24	0.83 - 1.83
Q 3	1.42	0.97 - 2.06	1.35	0.92 - 1.99	1.27	0.86 - 1.87
Q 4	1.44	0.99 - 2.10	1.27	0.87 - 1.87	1.18	0.80 - 1.75
P for trend	0.062		0.218		0.180	

1 Adjusted for age and sex

2 Additionally adjusted for residential area, paternal education level, household income, parental marital status, familial psychiatric disease history, and environmental tobacco smoke

3 Log(blood Pb level) was used in logistic regression model, and odds ratios were per 30% increase in blood Pb level.

Quartile cutpoints for blood Pb level,

Q1:<1.37 μ g/dL,Q2:1.37-<1.68 μ g/dL,Q3:1.68-<2.06 μ g/dL,Q4:2.06-10.37 μ g/dL

Generalized additive model을 통해 로그 변환한 혈중 납 농도에 따른 ADHD 의심군에 대한 OR의 비선형적인 관계에 대하여 알아보았다. 거꾸로 된 U자 모양의 곡선이 나타났으며(그림 4), piecewise regression을 통해 선을 2개로 분할하여 회귀직선을 만들 경우, 로그 변환한 혈중 납 농도 값이 0.259(SE = 0.086)이 구분 점으로 모델이 추정되었으며, 이는 혈중 납 농도가 1.30 μ g/dL일 때이다. 혈중 납 농도

1.30 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 아래에서 성별, 연령, 거주 지역, 아버지 교육수준, 가계 소득, 부모 혼인 상태, 정신질환 가족력, 간접흡연 여부를 보정한 모델에서 혈중 납 농도가 30% 증가할 때 ADHD 의심군으로 진단될 위험이 통계적으로 유의하게 높았으며(OR = 2.24, 95%CI: 1.08 - 4.65), 이는 전체를 선형 관계로 가정한 채 로지스틱 회귀모델에서 얻은 OR값 1.05보다 높은 값이었다.

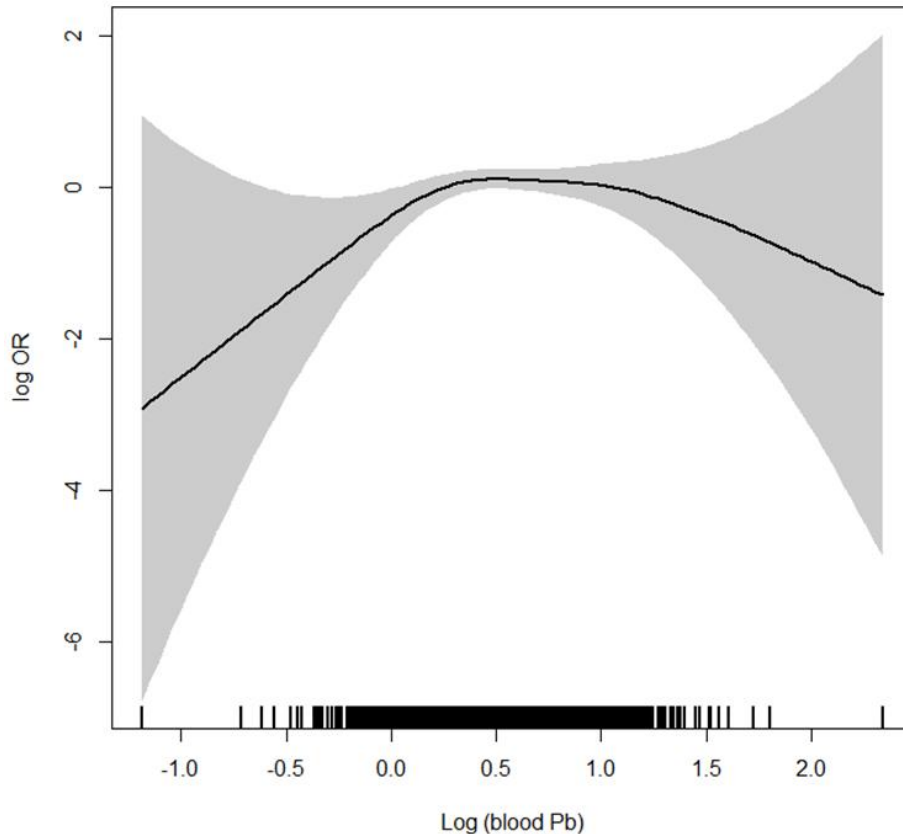


그림 4 Generalized additive model을 통한 로그 변환한 혈중 납 농도에 따른 ADHD 의심군에 대한 위험의 penalized regression 곡선

표 11 선형회귀모델을 통한 혈중 납과 K-ARS 점수와의 관찰적 연관성

	K-ARS score		Sqrt(K-ARS score)	
	β	95%CI	β	95%CI
Blood Pb level ¹	0.47	0.10 - 0.85	0.08	0.02 - 0.14
Q 1	ref.		ref.	
Q 2	0.11	-0.94 - 1.17	0.01	-0.15 - 0.17
Q 3	0.35	-0.71 - 1.40	0.05	-0.12 - 0.21
Q 4	1.25	0.19 - 2.30	0.22	0.06 - 0.39
P for trend	0.022		0.016	

¹ Log(blood Pb level) was used in linear regression model, and β is per standard deviation of log(blood Pb level) (0.32) increase.

Using linear regression models adjusted for age, sex, residential area, paternal education level, household income, parental marital status, familial psychiatric disease history, and environmental tobacco smoke.

Quartile cutpoints for blood Pb level,

Q1:<1.37 μ g/dL,Q2:1.37-<1.68 μ g/dL,Q3:1.68-<2.06 μ g/dL,Q4:2.06-10.37 μ g/dL

ADHD 의심군에 대한 연관성 뿐 아니라 K-ARS 점수에 대하여 로그 변환된 혈중 납 농도와 선형회귀모델을 통하여 연관성을 알아보았다. K-ARS 점수는 오른쪽으로 많이 치우친 분포를 보이기 때문에 제공군 변환을 추가적으로 하여 연관성을 살펴보았다. 전반적으로 보았을 때 연관성에 방향을 고려해볼 때 해석상의 편의를 위하여 제공군 변환을 하지 않은 K-ARS 점수와의 연관성도 같이 제시하였다(표 11).

K-ARS 점수에 대하여 연령과 성별, 거주지역, 아버지의 교육수준, 가계소득, 부모의 혼인 상태, 정신질환의 가족력, 간접흡연 경험 여부를 보정한 로그 변환된 혈중 납 농도를 선형회귀모델을 통해 살펴볼 경우,

통계적으로 유의한 양의 연관성을 살펴볼 수 있었다($\beta = 0.47$, 95% CI: 0.10 - 0.85). 즉, 로그 변환된 혈중 납 농도가 1 표준편차만큼 증가할 때 K-ARS 점수가 0.47점 증가한다고 해석할 수 있을 것이다. 혈중 납 농도를 4분위 그룹으로 나누어 1분위 그룹에 대하여 2, 3, 4분위 그룹의 K-ARS 점수에 대한 효과 크기 또한 위에 기술한 공변수를 보정한 선형회귀모형을 통해 살펴보았다. 1분위 그룹 대비 4분위 그룹에서 점수가 1.25점 통계적으로 유의하게 높았다(95%CI: 0.19 - 2.30). 2, 3분위 그룹의 베타값은 통계적으로 유의하지 않았지만 혈중 납 농도가 높아짐에 따라 K-ARS 점수에 대한 효과크기도 커지는, 즉 양의 경향성이 통계적으로 유의하였다(p for trend = 0.022) (표 11).

혈중 납 농도와 K-ARS 점수와의 관계를 Generalized additive model을 통하여 비선형적인 관계를 알아보았으며, 성별, 연령, 거주 지역, 아버지 교육수준, 가계 소득, 부모 혼인 상태, 정신질환 가족력, 간접 흡연 여부를 보정한 모델에서 약간 위로 볼록한 형태의 곡선을 관찰할 수 있었으나, 곡률이 깊지 않아 대체로 선형적인 양상이라고 판단할 수 있다(그림 5).

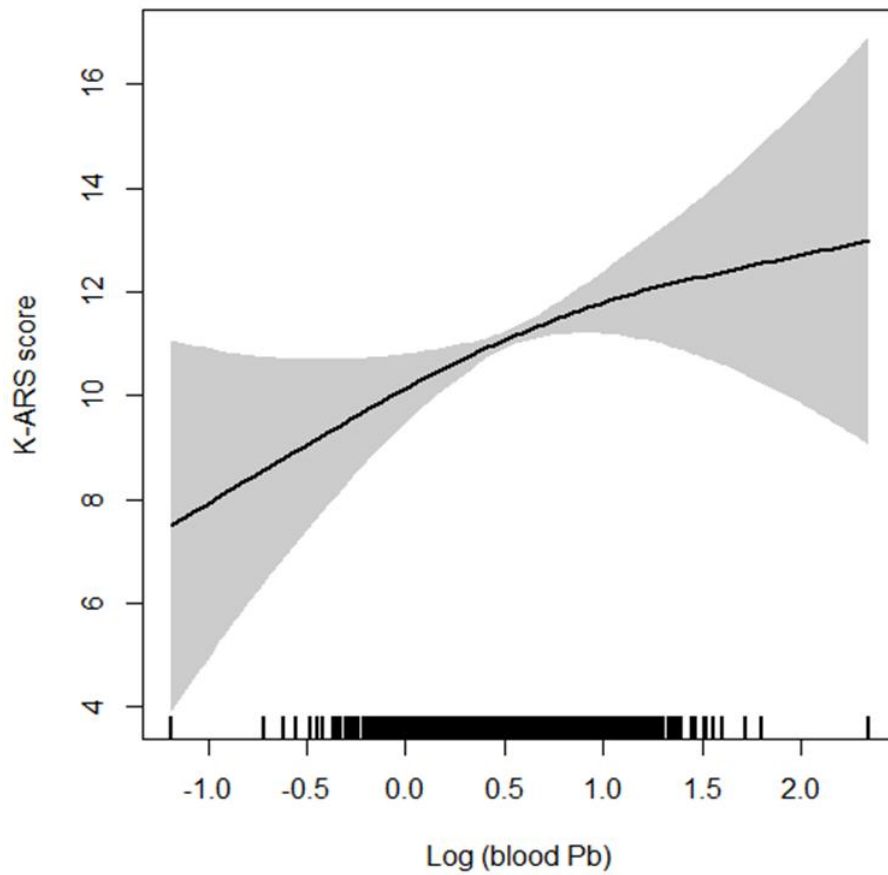


그림 5 Generalized additive model을 통한 로그 변환한 혈중 납 농도에 따른 K-ARS 점수에 대한 penalized regression 곡선

3.3 멘델리안 무작위화를 이용한 혈중 납 농도와 ADHD의 연관성

멘델리안 무작위화 방법에 사용할 도구변수와 본 저자가 알아보고자 하는 연관성에 있어 노출변수인 혈중 납 농도와 결과변수인 K-ARS 점수 및 ADHD 의심군과의 연관성을 먼저 살펴보았다. 도구변수로 사용한 rs1805313 SNP에서 효과 대립 유전자 하나 당 효과의 크기를 구하여 제시하였다. 로그 변환된 혈중 납 농도에 대한 선형회귀모델에서 도구변수와 연관성의 강도는 p-value가 1.83×10^{-5} , F 값이 18.46이었다 (표 12).

도구변수와 결과변수인 K-ARS 점수와 선형회귀모델을 통한 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다($\beta = 0.04$, SE = 0.28, p = 0.887). ADHD 의심군에 대한 로지스틱 회귀모델에서도 양의 연관성을 보였지만 통계적으로 유의하지 않았다(OR = 1.13, 95%CI: 0.94 - 1.36) (표 12).

표 12 도구변수인 rs1805313과 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군과의 연관성

	Per allele change of rs1805313			
	β	SE	p-value	F-value
Log (blood Pb level)	0.05	0.01	1.83×10^{-5}	18.46
K-ARS score	0.04	0.28	0.887	
Suspected ADHD	OR = 1.13 (95%CI: 0.94 - 1.36)			

Using linear regression model for log (blood Pb level) and K-ARS score and logistic regression model for suspected ADHD

도구변수의 각 유전자형 그룹별로 x축에는 로그 변환된 혈중 납 농도의 평균과 95% 신뢰구간을, y축에는 제곱근 변환된 K-ARS 점수의 평균과 95% 신뢰구간을 그림 6에 나타내었다. 혈중 납 증가에 따른 K-ARS 점수 증가 경향성에 대하여 단조성(monotonicity)을 관찰할 수 없었다.

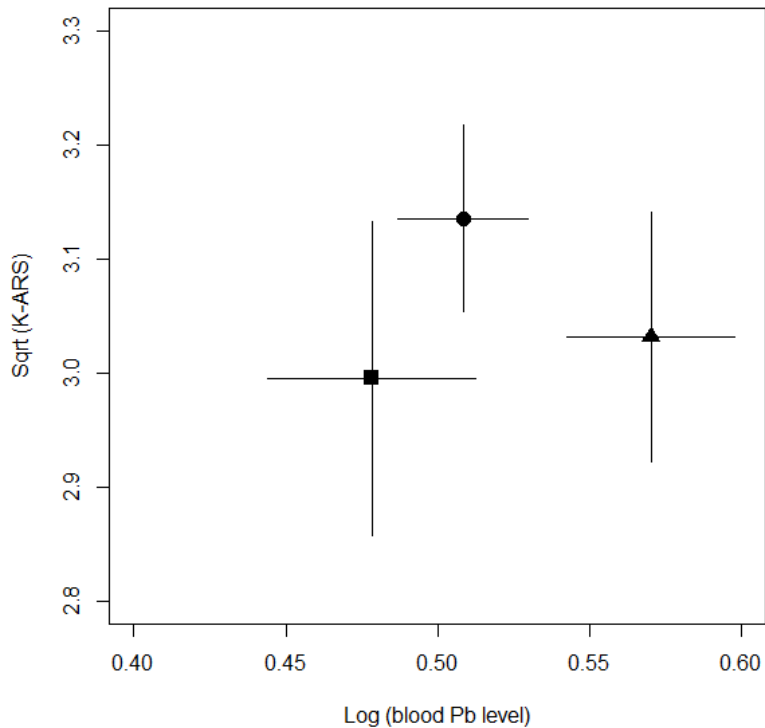


그림 6 도구변수의 그룹 별 로그 변환된 혈중 납 농도 평균과 제곱근 변환된 K-ARS 점수 평균과의 관계 (네모: CC, 동그라미: CT, 세모: TT)

도구변수의 각 유전자형 그룹별로 x축에는 로그 변환된 혈중 납 농도의 평균과 95% 신뢰구간을, y축에는 ADHD 의심군으로 진단될 오즈(odds)와 그 95% 신뢰구간을 그림 7에 나타내었다. 역시 마찬가지로 혈중 납 증가에 따른 오즈의 증가 경향성에 대하여 단조성(monotonicity)이 위배되었으며 CT그룹과 TT그룹의 오즈 차이가 거의 없었다.

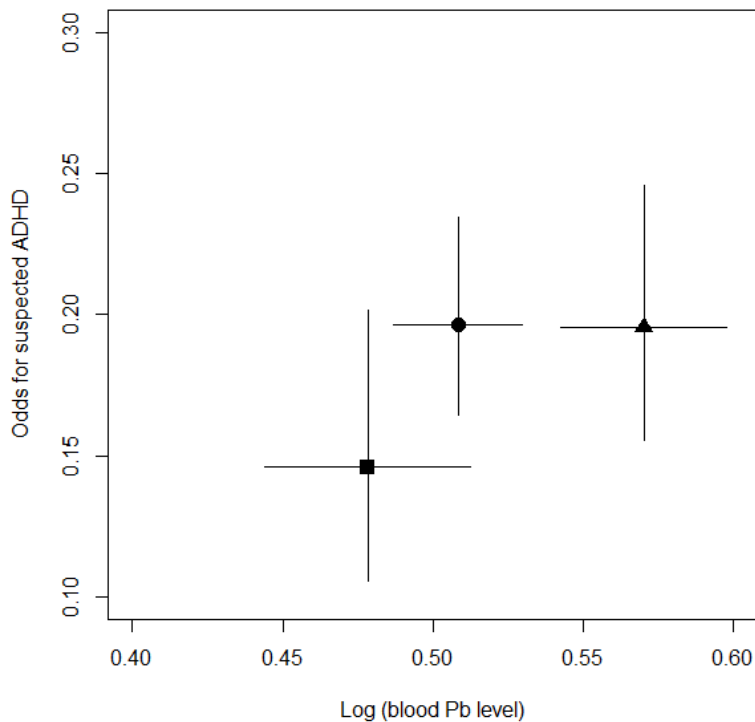


그림 7 도구변수의 그룹 별 로그 변환된 혈중 납 농도 평균과 ADHD 의심군으로 진단될 오즈(odds)와의 관계 (네모: CC, 동그라미: CT, 세모: TT)

표 13 도구변수를 이용한 멘델리안 무작위화 방법인 2단계 분석방법을 이용한 혈중 납 농도의 K-ARS 점수 그리고 ADHD 의심군에 대한 효과

	K-ARS score			Suspected ADHD		
	β	SE	p-value	OR	95% CI	p-value
Predicted log (blood Pb)	0.62	4.33	0.886	4.57	0.46 - 45.55	0.196

Log(blood Pb level) was used in linear regression model, and β is per standard deviation of log(blood Pb level) (0.32) increase.

Log(blood Pb level) was used in logistic regression model, and odds ratios were per 30% increase in blood Pb level.

최종적으로 인과관계를 알아보기 위하여 도구변수를 사용한 2단계 분석방법을 이용하였다. 즉, 선형회귀모델에서 도구변수를 사용하여 추정된 로그 변환된 혈중 납 농도를 다시 선형회귀모델을 통해 K-ARS 점수와의 연관성을, 그리고 로지스틱 회귀모델을 통해 ADHD 의심군과의 연관성을 살펴보았다(표 13).

K-ARS점수와 ADHD 의심군 진단에 대해서 멘델리안 무작위화 방법을 이용한 분석에서는 모두 통계적으로 유의한 효과값을 산출하지 못했다. 연속변수로 K-ARS 점수($\beta = 0.62$, $SE = 4.33$, $p = 0.886$) 보다 ADHD 의심군 진단과의 연관성($OR = 4.57$, $95\%CI: 0.46 - 45.55$, $p = 0.196$)의 정도가 더 강했다(표 13).

표 14 Recessive model에서 rs1805313과 혈중 납 농도, K-ARS 점수, ADHD 의심군과의 연관성

	TT vs. CC / TC (rs1805313) [recessive model]			
	β	SE	p-value	F-value
Log (blood Pb)	0.07	0.02	3.18×10^{-5}	17.40
K-ARS score	-0.32	0.42	0.447	
Suspected ADHD	OR = 1.07 (95%CI: 0.81 - 1.42)			

Using linear regression model for log (blood Pb level) and K-ARS score and logistic regression model for suspected ADHD

도구변수의 유전자형이 CC 또는 TC일 때와 TT일 때를 비교하여(즉, 열성모형을 사용하여) 노출변수인 혈중 납 농도와 결과변수인 K-ARS 점수 및 ADHD 의심군과의 연관성을 먼저 살펴보았다. 로그 변환된 혈중 납 농도에 대한 선형회귀모델에서 도구변수와 연관성의 강도는 p-value가 3.18×10^{-5} , F 값이 17.40이었다(표 14).

도구변수와 결과변수인 K-ARS 점수와 선형회귀모델을 통한 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다($\beta = -0.32$, SE = 0.42, p = 0.447). ADHD 의심군에 대한 로지스틱 회귀모델에서는 양의 연관성을 보였지만 통계적으로 유의하지 않았다(OR = 1.07, 95%CI: 0.81 - 1.42) (표 14).

표 15 Recessive model에서 멘델리안 무작위화 방법인 2단계 분석방법을 이용한 혈중 납 농도의 K-ARS 점수 그리고 ADHD 의심군에 대한 효과

	K-ARS score			Suspected ADHD		
	β	SE	p-value	OR	95% CI	p-value
Predicted log (blood Pb)	-3.40	4.62	0.461	1.83	0.17 - 20.13	0.621

Log(blood Pb level) was used in linear regression model, and β is per standard deviation of log(blood Pb level) (0.32) increase.

Log(blood Pb level) was used in logistic regression model, and odds ratios were per 30% increase in blood Pb level.

열성모형을 반영한 2단계 분석방법에서도 K-ARS점수와 ADHD 의심군 진단에 대해서 멘델리안 무작위화 방법을 이용한 분석에서는 모두 통계적으로 유의한 효과값을 산출하지 못했으며. K-ARS 점수에 대해서는 효과 추정값이 음수로 나왔으며($\beta = -3.40$, $SE = 4.62$, $p = 0.461$), ADHD 의심군 진단과의 연관성($OR = 1.83$, $95\%CI: 0.17 - 20.13$, $p = 0.621$)은 본 멘델리안 무작위화 분석에서 산출한 값($OR = 4.57$)보다 낮게 추정되었다(표 15).

IV. 결론 및 고찰

5.1 납 노출의 신경 독성

납은 신경독성을 가진 대표적인 중금속이다. 납은 칼슘이온을 대체하여 BBB통과가 가능하며, 전압 민감성 칼슘 채널(voltage sensitive calcium channel)을 통해 정상교세포와 뉴런에 유입될 수 있다(21). 납에 노출된 신경세포 내에는 칼슘 항상성 유지 메커니즘이 교란되어 세포 내에 칼슘이온이 많이 축적이 되며, 납의 미토콘드리아 손상과 더불어 세포자멸(apoptosis)가 유발된다. 또한 납은 지질과산화(lipid peroxidation)으로 인한 산화손상으로 세포 내 손상을 야기한다. 칼슘이 중재하는 세포 내 이차 전령(second messengers)과 관련된 물질에도 혼란을 주는데 여러 단백질인산화효소(protein kinase), 사이클릭 AMP, 포스포디에스테레이스, 칼륨채널(potassium channel)의 기능을 저하시킨다. 또한 칼슘의존의 아세틸콜린, 도파민, 아미노산 신경전달물질의 활성을 억제하며 생체 외 연구에서 도파민 시스템에 대해서는 납이 도파민 세포에 괴사와 세포자멸을 일으킨다고 보고되었다(21).

납 농도의 간접적인 신경독성에 대해서도 많이 보고되었다. 고농도 납 노출 뿐 아니라 저농도 납 노출에서도 뇌-혈관 장벽(Brain-blood barrier, BBB)에 손상을 주어 혈장 단백질의 투과 정도가 증가한다고 보고되었다(21). BBB는 혈관의 내피세포, 기저막, 정상교세포(astrocyte)의 종말단추, 주피세포(pericyte)로 구성되어 있으며, 내피세포의 밀착연접(tight junction)에 의해 혈액에 있는 친수성 분자가 뇌

조직으로 유입되는 것을 막는다. 물, 이산화탄소 분자와 같은 친유성 분자는 투과가 자유롭고, 포도당이나 아미노산의 경우 운반체(transporter)를 통해 수송이 가능하다(22). 그리고 갑상선호르몬의 뇌 세포로 수송되는 것을 저하시키며, 납이 아연을 대체하여 기능할 수 있어, DNA결합 아연집게 단백질(DNA-binding zinc finger protein) 및 수용체 채널의 아연결합자리 조절에 교란을 주어서 세포증식과 분화와 관련된 유전자 발현에 영향을 미칠 수 있음이 보고되었다(21).

납 노출의 영향을 가장 많이 받는 뇌 부위로는 전전두피질(prefrontal cortex), 해마(hippocampus), 기저핵(basal ganglia), 소뇌(cerebellum)으로 보고가 되었으며 이 구역은 ADHD의 증상과 밀접한 관련이 있는 뇌의 영역이다(23). ADHD 환아와 대조군의 뇌 자기공명 영상을 통한 복셀기반형태측정(voxel-based morphometry)으로 해부학적 구조 별 용적의 차이에 대한 메타분석에서 통계적으로 기저핵의 구조물의 용적이 ADHD에서 통계적으로 작은 것을 보고하여 ADHD에 대한 납의 영향에 대한 생물학적 개연성을 지지한다고 생각할 수 있다(24).

5.2 주의력결핍 과잉행동장애의 역학상 고찰

1990년부터 1998년까지 미국의 National Ambulatory Medical Care Survey(NAMCS) 5세에서 18세까지의 데이터셋에서, ADHD 진료실 기반 의사진단(ICD, 9threvision:314.00,314.01)과 중추신경 자극제 약을 처방받은 기록을 바탕으로 연간 유병율의 추이를 알아본 연구

결과를 살펴보았다. 1990년 5에서 18세 사이의 ADHD 진단은 1.94%에서 1998년 5.9%로 증가하였으며, 중추신경계 자극제 처방을 같이 받은 경우 1.15%에서 4.2%로 증가하였다. ADHD 진단율이 1991-2년과 1997-8년을 비교하였을 때 남아의 경우 3.95%에서 7.87%로 약 두 배 정도 율이 증가하였으며, 여아에서는 1.23%에서 3.34%로 약 2.7배 증가하였다고 보고하였다(25). 2001년에서 2010년까지 미국에서 KPSC(Kaiser Permanente Southern California) 의무기록 자료를 이용하여 연도별 진단율의 추이에 대한 보고되었다. 성별, 인종별로 추이를 각각 제시하였다. 연령별로 보면 5-7세, 8-9세, 10-11세 그룹으로 연령이 증가할수록 진단율이 상승하였으며, 2010년 인종 별로 진단율을 살펴보면 백인이 5.6%, 흑인이 4.1%, 히스패닉이 2.5%, 아시아계가 1.2%으로 상이함을 보고하였다. 2001년부터 2010년까지 아시아계를 제외하고는 모두 증가에 대한 선형성 검정에서 통계적으로 유의하여, 진단율이 증가하는 추세에 있다는 것을 보여주었다(26).

한국의 건강보험공단청구자료를 이용하여 2007년부터 2011년까지 ADHD 진단에 대한 보고도 출판이 되었는데, 1-17세까지 ICD-10 코드가 F90.0로 한번이라도 잡힐 경우 환자로 규정을 하였을 때, 2007년에는 연령 표준화 유병율이 0.67%(남아, 1.07%, 여아, 0.30%), 2011년에 0.94%(남아, 1.41%, 여아, 0.41%)로 증가하는 추세를 보였다(27). 2008년에서 2011년 사이 ADHD로 진단되는 평균 연령은 10.33세였고, 연도별 발생률을 살펴보면 2008년 0.205%에서 2011년 0.272%로 증가하는 추세에 있었다(28). 국내에서 진단적 도구를 이용하여 추정된 ADHD의 유병율과 해외에서 보고된 유병율에 비하여 현저하게 낮은 추정치를 제시하였는데 이 점에 대한 연구가 더욱 필요할 것

으로 사료된다. 한국의 문화적인 요소가 많이 작용할 것으로 사료되는데, 정신건강의학과와 내원을 사회적 낙인으로 여겨 기피하거나 아이의 인지행동에 대한 책임소재를 부모의 가정교육 내지는 선생의 훈육에 의해 교정 가능한 것으로 여기기 때문에 병원 내원 정도가 낮은 것일 수 있다.

ADHD의 유전적 요인에 대해서 조금 더 고찰해보면 앞서 서론에서도 기술하였듯이 일관되게 ADHD랑 연관성이 보고되는 경우는 드물다. 후보 유전자 연구에서 보고된 연관성이 있는 유전자는 도파민 수용체와 관련된 *DRD4*, *DRD5* 유전자, 도파민재흡수와 관련된 *SLC6A3* 유전자, 세로토닌 수용체와 관련된 *HTR1B*, 재흡수와 관련된 *SLC6A4*, 신경물질전달에 관련된 *SNAP25*, 신경가소성(neuroplasty)에 관여하는 *NOS1* 등이 있다. 전장유전체연관분석에서는 도파민 D5 수용체와 관련한 *DRD5*, 신경물질전달, 신경가소성에 관여하는 *NOS1*, 이온 수송에 관여하는 *SLC9A9*, 세포와 세포 부착(cell-cell adhesion)과 신경세포 성장과 관여한 *CDH13*, 니코틴성 아테실콜린 수용체 7에 관여하는 *CHRNA7* 등이 보고 되었다(29). 추후 ADHD와 관련된 전장유전체연관분석이 더 수행이 되는 동시에, 유전적 원인론을 알아내기 위한 새로운 방법론이 요구될 것이다.

5.3 멘델리안 무작위화에 관한 고찰

역학연구에 있어 노출과 결과에 대한 관찰적 연관성에 대해서 그것이 실제 효과, 즉 인과적 관계에 있는 것인지에 결론을 내리기란 쉽지 않다. 혼한 관찰적 역학에 있어 인구 집단에게 실험적 연구와 같이 노출에 대한 통제를 내리기란 윤리적으로 쉽지 않기 때문이다. 이러한 한계점을 극복하기 위해 멘델리안 무작위화라는 방법이 도입이 되었다. 멘델리안 무작위화 방법은 비실험적 데이터에서 유전적 변이를 이용하여 특정 노출의 결과에 대한 효과에 대해 인과추론을 하는 것이다. 이 때 노출이란 잠정적인 인과위험요인뿐 아니라 중간 단계의 표현형(intermediate phenotype)일 것이며 결과란 특정 질병일 경우가 대부분이다. 특정 개인의 유전적 변이는 사실 부모에게 물려받는 것이므로 개념적으로 완전한 무작위화는 아닐 것이다. 하지만, 특정 결과에 대한 교란 요인이 될 수 있는 다른 환경적이나 사회적 요인들에 대해서는 인구집단의 유전적 변이는 고르게 분포한다고 볼 수 있다. 유전적 변이에 대해서 Hardy-Weinberg equilibrium test를 시행하여 임의교배가정(random mating assumptions)에 위반되는지 여부를 알아볼 수 있다.

앞서 서론에서 기술하였듯 멘델리안 무작위화에서 도구변수로 사용되는 유전적 변이에 대한 고찰이 가장 중요하다고 볼 수 있다. 멘델리안 무작위화를 다시 정의하면 유전적 변이를 이용한 도구변수분석(instrumental variable analysis using genetic instruments)라 할 수 있다(30). 도구변수로 사용할 수 있을 가정은 매우 중요한데, 그 첫 번째 가정은 유전적 변이가 노출과 연관성이 있어야 한다는 것이다. 노출과 강한 연관성이 있어야 도구변수에 따른 하위 그룹에서의 노출 수준의

평균이 차이가 생긴다. 이 때 노출과 강한 연관성이 없을 경우, 흔히 weak instrument라고 부른다. 두 번째 가정은 노출-결과의 연관성에 있어 어떤 다른 교란변수와 연관성이 없어야 한다는 것이다. 즉, 도구변수에 따른 하위 그룹에서 인구학적 특성을 비롯하여 노출-결과의 연관성에 교란요인으로 작용할 제 3의 변수에 대한 분포가 서로 다름이 없어야 한다. 마지막 세 번째로 유전적 변이는 노출에 대한 경로를 제외하고는 결과에 영향을 미치지 않아야 한다는 것이다. 즉, 노출변수와 노출-결과의 교란변수에 대한 조건부 독립성(conditional independence)에 관한 이야기이다. 이 세 가지 가정을 모두 만족해야 비뚤리지 않는 효과 추정을 할 수 있다.

이러한 도구 변수 가정의 위반에 대한 내용을 요약하면 다음 표 16과 같다. Ascertainment effects의 경우 예를 들어 임신부 코호트에서 생산능력에 관련한 유전적 변이를 도구변수로 사용한다면 출생아에서 유전적 변이에 따른 하위 그룹 별 다른 공변수들의 분포가 일반 인구집단과는 다를 수 있다. 또한 특정 질환에 대해서 유전적 변이 그룹에 따라 위험이 높은 그룹에서는 생존율이 낮아 연구에 참여하지 못하게 되면, 일반 인구집단을 대변하기 어려울 것이다.

표 16 도구 변수 가정의 위반에 대한 요약표

Biological mechanisms	
Pleiotropy	유전적 변이가 여러 종류의 위험 요인과 연관이 있을 때 발생
Canalization	생물학적 보상기전으로, 유전적 변이로 인한 변화에 대해 적응을 하여 실제 기대되는 유전적 변이의 효과를 반영하지 못하는 경우
Non-Mendelian inheritance	
Linkage disequilibrium	도구변수로 사용하는 유전적 변이와 연관 불균형 관계에 있는 다른 변이가 결과에 대한 영향을 미치게 되는 경우
Effect modification	도구변수와 노출변수 사이의 관계에 대해 어떤 특정 제 3의 변수로 인해 교호작용이 발생하는 경우 (e.g. 남성에서는 연관성이 강한 반면, 여성에서는 연관성이 약한 경우)
Population effects	
Population stratification	연구에 포함되는 인구집단이 명확히 구분되는 하위인구집단으로 나뉠 경우 (e.g. 인종)
Ascertainment effects	연구에 포함된 인구집단의 유전적 변이 분율이 실제 인구집단의 분율과 다를 경우, 또한 연구 디자인 상 특정 결과가 역으로 유전적 변이 분율에 영향을 미칠 경우

통계적인 방법을 이용하여 도구 변수 가정을 충족시키는지에 대해 확인할 수도 있다. 가장 단순한 방법은 유전적 변이와 다른 알려진 교란변수와의 연관성 분석을 해보는 것이다. 그리고 유전적 변이와 결과와의 연관성 분석에서 알려진 다른 위험 요인 변수를 보정해서 연관성의 강도가 감소하는지를 알아보는 방법도 제시되었다. 이 때 감소 정도가 크지

않으면 다른 위험 요인은 유전적 변이와 결과의 인과 경로에 있지 않을 가능성이 높을 것이다. 하지만 무엇보다 어떤 통계적 테스트보다 생물학적인 기전이 특정 유전적 변이를 도구변수로 사용함에 있어 가장 큰 기반을 이루어야 할 것이다.

5.4 본 연구 결과에 대한 고찰

본 연구의 결과를 요약하면 다음과 같다. 2005년부터 2010년까지 한국의 초등학생 1750명을 대상으로 분석을 시행하였다. 전체 1750명 중 ADHD 의심군으로 진단된 대상자는 274명(15.7%)이었으며, K-ARS 점수의 평균은 11.1점이었다. 평균 납 농도는 $1.68 \mu\text{g}/\text{dL}$ 이었다. 혈중 납 농도와 ADHD와의 연관성을 살펴본 결과, 기존의 관찰적 분석을 통하여 K-ARS 점수와의 유의한 연관성(공변수를 보정한 선형회귀모델에서 혈중 납 농도 30% 증가 당 $\beta = 0.62$, 95%CI: 0.94 - 1.17)을 도출하였으나, ADHD 의심군에 대한 연관성은 통계적으로 유의하지 않았다(공변수를 보정한 로지스틱회귀모델에서 혈중 납 농도 30% 증가 당 OR = 1.05, 95%CI: 0.94 - 1.17). Generalized additive model을 통해 ADHD 의심군에 대한 연관성의 비선형성을 확인하였으며, 혈중 납 농도가 $1.30 \mu\text{g}/\text{dL}$ 이하일 때 OR값이 2.24(95%CI: 1.08 - 4.65)로 위험이 더 높아짐을 확인하였다.

멘델리안 무작위화 분석을 사용하기 위한 도구변수로는 *ALAD* 유전자의 인트론 부분의 SNP인 rs1805313의 유전자형을 이용하였으며, 로그

변환된 혈중 납 농도와 선형회귀모델에서 F 값은 18.46이었다. K-ARS점수와 ADHD 의심군 진단에 대해서 멘델리안 무작위화 방법을 이용한 분석에서는 모두 통계적으로 유의한 효과값을 산출하지 못했다 (K-ARS 점수에 대한 $\beta = 0.62$, SE = 4.33, $p = 0.886$, ADHD 의심군 진단에 대한 OR = 4.57, 95%CI: 0.46 - 45.55, $p = 0.196$). 열성모형을 수용(TT vs. CC or TC 그룹)한 멘델리안 무작위화 분석에서도 역시 통계적으로 유의한 효과 계수를 산출하지 못하였다.

관찰적 연관성에 대해서는 본 연구에서 도출한 값은 앞서 발표된 연구와 비교하였을 때 납 농도를 연속으로 하여 ADHD 의심군 진단의 위험과의 연관성의 크기와 방향은 어느 정도 일관성을 보인 반면(8,10,15), 납 농도를 4분위 그룹으로 나누어서 OR을 산출하였을 때는 일정한 방향의 경향성을 확인할 수 없었다. K-ARS 점수에 대해서는 양의 연관성이 통계적으로 유의하였으며 혈중 납 농도에 따른 양의 경향성도 확인이 되었다. 하지만 멘델리안 무작위화를 통한 도구변수 그룹별로 K-ARS 점수의 평균을 확인하였을 때는 납 농도가 가장 높은 rs1805313, TT그룹에서 오히려 점수가 CT그룹보다 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 도구변수를 사용한 분석에서 K-ARS에 대한 혈중 납 농도의 영향은 통계적으로 유의하지 않았으며 효과 계수 역시 더 귀무가설에 가까웠다. 하지만 ADHD 의심군 진단에 대해서는 통계적으로 유의하지 않았지만 관찰적 연관성으로 도출된 OR 1.05값보다 훨씬 큰 4.57을 계산하였다.

도구변수가 유효한가에 대해 고찰해보면, ADHD 의심군 진단과 혈중 납 농도와 연관되어 있는 변수는 성별, 연령, 거주지역, 아버지의 교육

수준, 부모의 혼인 상태가 있었다. 도구변수와 인구학적 특성, 잠재적인 교란변수에 대한 연관성을 살펴본 결과 연령을 제외하고 모두 통계적으로 유의하지 않았다. 더군다나 본 연구에서 사용한 rs1805313은 기존에 수행되었던 GWAS나 후보 유전자 연구에서 ALAD 효소를 코딩하는 기능 외에 다른 알려진 것이 없다. 하지만 ALAD의 기능은 5-아미노레불린산을 포르포르빌리노젠으로 촉매하는 효소이기에, 납에 의해 ALAD 기능이 저하될 경우 5-아미노레불린산의 체내 농도가 올라갈 수 있다. 5-아미노레불린산 자체적으로도 신경독성이 있다고 알려져 있다. 하지만 선행 논문을 고찰해보면 ALAD가 선천적으로 결핍인 환아에서 나타나는 광과민증상이 특징인 포르피린증 이외에 ALAD 유전자의 유전자형에 따른 아미노레불린산의 체내 농도 증가에 의한 신경독성에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다. 따라서 ALAD와 연관된 단일염기다형성에 대한 효과는 혈중 납 이외에 다른 어떤 경로를 통하여 ADHD와 연관이 있을지에 대하여 보고된 것이나 알려진 바가 없다고 생각할 수 있다.

ALAD의 유전적 변이에 따른 혈중 납 농도의 변화가 실제 인체의 납 부담(burden)을 반영하는 것인지에 대해서도 고찰할 필요가 있다. 최근에 ALAD 다형성에 따른 혈중 납과 골중 납의 차이에 대한 메타분석이 보고되었는데, 혈중 납 농도의 차이는 통계적으로 유의하였으나(하지만 연구 대상자의 평균 혈중 납 농도가 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 이하의 연구만을 포함시킨 메타분석 상에는 차이가 통계적으로 유의하지 않았음), 골중 납 농도에 대해서는 차이가 유의하지 않았다(31). 침습적인 술기가 필요한 만큼, 보고된 연구가 4편 밖에 없었기 때문에 골 중 납 농도에 대한 연구가 더욱 필요할 것이다. 단지 ALAD로 인해 혈중에 결합되어 납이 격리되어 있는 것인지, 실제로 인체에 영향을 미치는 납의 인체 부담

(burden)이 많아지는 것인지에 대해서는 연구가 더욱 필요할 것이다 (20,21).

본 연구의 관찰적 연관성과 기존의 관찰연구에서 보고된 결과를 볼 때 로그 변환된 혈중 납 농도의 표준편차 당 변화에 대한 OR값은 1하고 1.5사이의 값으로 추정해볼 수 있다(8,10,15). 도구변수와 노출변수 즉 로그 변환된 혈중 납과의 선형회귀모델에서 R^2 값이 0.005이며 80% 검정력을 얻고자 할 때 실제의 연관성의 크기가 1.5 이하의 OR이라고 한다면 20000명 이상이 필요하다(32). 하지만 본 연구에서는 실제로 사용한 도구변수와 로그 변환된 혈중 납 농도의 선형회귀모델의 R^2 값은 0.001이었다. 혈중 납에 대한 도구변수의 연관성의 강도와 훨씬 많은 표본 수의 확보가 정확한 인과적 효과크기를 도출해내는데 필요하다는 고찰을 할 수 있다.

본 연구의 경우 혈중 납 농도에 대해 SNP을 도구변수로 사용한 첫 번째 연구라는 점에서 의의는 있으나 몇 가지 제한점이 존재한다. 작은 표본크기와 도구변수와 노출변수의 연관성의 강도가 약한 점이 가장 주요한 제한점이 될 것이다. 더불어 본 연구에서 도구변수로 사용한 *ALAD* 유전자의 단일염기다형성이 실제로 인체의 납 노출의 부담을 반영하는 것인지에 대한 명확하지 않다는 것도 제한점일 수 있다. *ALAD* 효소에 따른 혈중 납 농도이기 때문에 메커니즘이 명확하지 않을 경우, 관찰연구에서 측정된 혈중 납 농도와는 다르게 해석될 가능성도 있기 때문이다. 혈중 납 농도를 높이는 *ALAD*의 기전에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각할 수 있다. 또한 본 연구는 애초에 연구 디자인 상 후보 유전자를 선택하여 혈중 납에 대한 도구변수로 사용할 단일염기다형성의

선택에 제한이 있었다. 혈중 납에 대한 후속 전장유전체연구가 이루어져야 하며, 그렇게 된다면 단일 도구변수가 아닌 여러 단일염기다형성을 이용한 분석을 추후에 진행할 수 있을 것이다.

결과에 대한 제한점 또한 여러 가지를 고찰해 볼 수 있다. K-ARS는 ADHD 선별검사로서 국내에서 그 유효성에 대해서도 입증된 바 있는 공신력 있는 도구이다. 그럼에도 불구하고 ADHD의 정의는 병원에서 의사가 내린 진단이 아니기 때문에 비차별적 오류가 발생할 수 있다. 또한 증상 점수는 점수를 매기는 부모 및 보호자의 주관에 좌지우지될 가능성이 있으므로 이 오류는 더욱 심해질 것으로 생각할 수 있다.

여러 가지 한계점에 의해 본 연구에서 소아에서 혈중 납 농도에 따른 ADHD에 대한 영향에 관한 인과관계에 대한 결론을 내릴 수 없게 되었다. 앞서 언급한 바대로 통계적 검정력에 대해 본 연구에서 산출한 널(null) 관계는 실제로 참 인과관계가 널(null)인지에 대한 판단은 유보해야 할 것이다. 하지만 많은 수의 관찰연구에서 혈중 납 농도와 ADHD와의 양의 연관성을 일관되게 보고하고 있으며, 납의 신경 독성, 그리고 인지행동발달과 관련된 장애에 대한 생물학적 기전 역시 많이 알려졌다. 따라서 앞서 기술한 여러 제한점을 포함한 여러 기술적인 문제가 극복된 멘델리안 무작위화 분석을 통하여 참 인과관계를 규명하려는 추후 연구가 필요하다. 다른 연구 표본과 같이 협업하는 컨소시엄 등을 통하여 표본 크기를 확대하여 검정력을 높인 재분석이 요구된다.

V. 참고문헌

1. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting, World Health Organization. Evaluation of Certain Food Additives: Seventy-first Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization; 2010.
2. Burns MS, Gerstenberger SL. Implications of the new Centers for Disease Control and Prevention blood lead reference value. American journal of public health. 2014;104(6):e27-e33.
3. Thapar A, Cooper M. Attention deficit hyperactivity disorder. The Lancet. 2016;387(10024):1240-50.
4. Middeldorp CM, Hammerschlag AR, Ouwens KG, Groen-Blokhuis MM, St Pourcain B, Greven CU, et al. A Genome-Wide Association Meta-Analysis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms in Population-Based Pediatric Cohorts. Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. 2016;55(10):896-905.e6.
5. Thapar A, Cooper M, Eyre O, Langley K. What have we learnt about the causes of ADHD? Journal of child psychology and psychiatry, and allied disciplines. 2013;54(1):3-16.
6. Braun JM, Kahn RS, Froehlich T, Auinger P, Lanphear BP. Exposures to environmental toxicants and attention deficit

- hyperactivity disorder in U.S. children. *Environmental health perspectives*. 2006;114(12):1904–9.
7. Froehlich TE, Lanphear BP, Auinger P, Hornung R, Epstein JN, Braun J, et al. Association of tobacco and lead exposures with attention–deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*. 2009;124(6):e1054–63.
 8. Park JH, Seo J–H, Hong Y–S, Kim Y–M, Kang J–W, Yoo J–H, et al. Blood lead concentrations and attention deficit hyperactivity disorder in Korean children: a hospital–based case control study. *BMC pediatrics*. 2016;16(1):156.
 9. Joo H, Lim MH, Ha M, Kwon HJ, Yoo SJ, Choi KH, et al. Secondhand Smoke Exposure and Low Blood Lead Levels in Association With Attention–Deficit Hyperactivity Disorder and Its Symptom Domain in Children: A Community–Based Case–Control Study. *Nicotine Tob Res*. 2017;19(1):94–101.
 10. Arbuckle TE, Davis K, Boylan K, Fisher M, Fu J. Bisphenol A, phthalates and lead and learning and behavioral problems in Canadian children 6–11 years of age: CHMS 2007–2009. *Neurotoxicology*. 2016;54:89–98.
 11. Ha M, Kwon HJ, Lim MH, Jee YK, Hong YC, Leem JH, et al. Low blood levels of lead and mercury and symptoms of attention deficit hyperactivity in children: a report of the children's health and environment research (CHEER). *Neurotoxicology*. 2009;30(1):31–6.
 12. Choi WJ, Kwon HJ, Lim MH, Lim JA, Ha M. Blood lead,

- parental marital status and the risk of attention-deficit/hyperactivity disorder in elementary school children: A longitudinal study. *Psychiatry research*. 2016;236:42-6.
13. Huang S, Hu H, Sanchez BN, Peterson KE, Ettinger AS, Lamadrid-Figueroa H, et al. Childhood Blood Lead Levels and Symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD): A Cross-Sectional Study of Mexican Children. *Environmental health perspectives*. 2016;124(6):868-74.
 14. Hong SB, Im MH, Kim JW, Park EJ, Shin MS, Kim BN, et al. Environmental lead exposure and attention deficit/hyperactivity disorder symptom domains in a community sample of South Korean school-age children. *Environmental health perspectives*. 2015;123(3):271-6.
 15. Kim S, Arora M, Fernandez C, Landero J, Caruso J, Chen A. Lead, mercury, and cadmium exposure and attention deficit hyperactivity disorder in children. *Environmental research*. 2013;126:105-10.
 16. Boucher O, Jacobson SW, Plusquellec P, Dewailly E, Ayotte P, Forget-Dubois N, et al. Prenatal methylmercury, postnatal lead exposure, and evidence of attention deficit/hyperactivity disorder among Inuit children in Arctic Quebec. *Environmental health perspectives*. 2012;120(10):1456-61.
 17. Bellinger DC. Neurological and behavioral consequences of childhood lead exposure. *PLoS medicine*. 2008;5(5):e115.

18. So Y, Noh J, Kim Y, Ko S, Koh Y. The Reliability and Validity of Korean Parent and Teacher ADHD Rating Scale. *J Korean Neuropsychiatr Assoc.* 2002;41(2):283–9.
19. Zhao Y, Wang L, Shen HB, Wang ZX, Wei QY, Chen F. Association between delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) polymorphism and blood lead levels: a meta-regression analysis. *Journal of toxicology and environmental health Part A.* 2007;70(23):1986–94.
20. Warrington NM, Zhu G, Dy V, Heath AC, Madden PA, Hemani G, et al. Genome-wide association study of blood lead shows multiple associations near ALAD. *Human molecular genetics.* 2015;24(13):3871–9.
21. Lidsky TI, Schneider JS. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain : a journal of neurology.* 2003;126(Pt 1):5–19.
22. Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease.* 2004;16(1):1–13.
23. Goodlad JK, Marcus DK, Fulton JJ. Lead and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) symptoms: a meta-analysis. *Clinical psychology review.* 2013;33(3):417–25.
24. Frodl T, Skokauskas N. Meta-analysis of structural MRI studies in children and adults with attention deficit hyperactivity disorder indicates treatment effects. *Acta*

- psychiatrica Scandinavica. 2012;125(2):114–26.
25. Robison LM, Skaer TL, Sclar DA, Galin RS. Is attention deficit hyperactivity disorder increasing among girls in the US? Trends in diagnosis and the prescribing of stimulants. *CNS drugs*. 2002;16(2):129–37.
 26. Getahun D, Jacobsen SJ, Fassett MJ, Chen W, Demissie K, Rhoads GG. REcent trends in childhood attention–deficit/hyperactivity disorder. *JAMA Pediatrics*. 2013;167(3):282–8.
 27. Song I, Shin JY. Prescribing patterns for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) medications among children and adolescents in Korea, 2007–2011. *Epidemiology and health*. 2016.
 28. Hong M, Kwack YS, Joung YS, Lee SI, Kim B, Sohn SH, et al. Nationwide rate of attention–deficit hyperactivity disorder diagnosis and pharmacotherapy in Korea in 2008–2011. *Asia–Pacific psychiatry : official journal of the Pacific Rim College of Psychiatrists*. 2014;6(4):379–85.
 29. Gallo EF, Posner J. Moving towards causality in attention–deficit hyperactivity disorder: overview of neural and genetic mechanisms. *The lancet Psychiatry*. 2016;3(6):555–67.
 30. Wehby GL, Ohsfeldt RL, Murray JC. 'Mendelian randomization' equals instrumental variable analysis with genetic instruments. *Statistics in medicine*.

2008;27(15):2745–9.

31. Scinicariello F, Murray HE, Moffett DB, Abadin HG, Sexton MJ, Fowler BA. Lead and delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism: where does it lead? A meta-analysis. *Environmental health perspectives*. 2007;115(1):35–41.
32. Burgess S. Sample size and power calculations in Mendelian randomization with a single instrumental variable and a binary outcome. *Int J Epidemiol*. 2014;43(3):922–9.

Abstract in English

Effect of Blood Lead
Concentration on Attention
Deficit Hyperactivity Disorder
in Korean Children

: A Mendelian randomization study

Hyungryul Lim

Department of Public Health

Graduate School of Public Health

Seoul National University

Several studies have shown that Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in children is associated with their lead exposure and the exposure has an important role in etiology as

well as a genetic predisposition. But previous studies were all observational study and therefore they have unavoidable biases due to unmeasured confounders between predictor and outcome variable. So, in order to assess a causal association of lead exposure on ADHD in children we used a Mendelian randomization method.

Our study participants were recruited from The Children's Health and Environmental Research (CHEER) study, 2005–2010. This is a longitudinal study in which the participants were followed maximum three times. Those who agreed a genetic test and had single nucleotide polymorphisms (SNPs) data were 1828. In terms of ADHD measures, we used Korean version of Attention Deficit Hyperactivity Disorder rating scale (K-ARS) and defined ADHD case in a one participant if K-ARS score was over 19. We used rs1805313 (*ALAD* gene) for instrumental variable (IV). Blood lead concentration was log-transformed to make asymptotic normal distribution. Two stage least square (2SLS) was used for a Mendelian randomization modelling.

Of 1828 participants, we used 1750 participants in our final analyses. We could find a positive significant observational association of log blood lead level with K-ARS score with adjusting for age, sex, residential area, paternal education level, household income, parental marital status, familial psychiatric disease history, and environmental tobacco smoke ($\beta = 0.47$,

95%CI: 0.10 - 0.85), but not with suspected ADHD (OR = 1.05, 95%CI: 0.94 - 1.17). We checked IV assumption to confirm that IV was not associated with any possible confounders except age. F-statistic for first linear regression model for IV and log lead level was 18.46. With suspected ADHD outcome model, the association was positive but not significant (OR = 4.57, 95%CI: 0.46 - 45.55, $p = 0.196$). In continuous K-ARS score model in 2SLS, we could not find a significant association ($\beta = 0.62$, SE = 4.33, $p = 0.886$).

We could not find positive causal associations of blood lead level on ADHD in Korean children. Those non-significant estimates may be due to the lack of power on this study. We could not help using only single SNP for IV. We could expect that additional SNPs from external outcomes, for example a genome-wide association study (GWAS), should be analyzed for a better power. And in near future, further Mendelian randomization studies in this field are needed and then collaborative study will be very helpful to get a power, too.

Keywords: lead, Attention deficit hyperactivity disorder, neurotoxicity, Mendelian randomization

Student Number: 2014-23377