

노인에서 IGFBP-3 Promoter Polymorphism이 제2형 당뇨병에 미치는 영향

박종숙, 남주영, 김철식, 김뜰미, 조민호, 박진아, 안철우, 차봉수, 임승길, 김경래, 이현철

연세대학교 의과대학 내과학교실

Implication of IGFBP-3 Promoter Polymorphism in Type 2 DM in Elderly

Jong-Suk Park, M.D., Joo-Young Nam, M.D., Chul-Sik Kim, M.D., Dol-Mi Kim, M.D.,
Min-Ho Cho, M.D., Jina Park, M.D., Chul-Woo Ahn, M.D., Bong-Soo Cha, M.D.,
Sung-Kil Lim, M.D., Kyung-Rae Kim, M.D., Hyun-Chul Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 (IGFBP-3) is a major determinant of circulating levels of the IGFs and is clinically useful for the evaluation of GH deficiency and for predicting the response to GH treatment. Circulating levels of IGF-1 and IGFBP-3 vary considerably among individuals and have been implicated in various medical conditions. We investigated the IGFBP-3 genotype distribution in Korean elderly and relations between IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism and medical conditions.

Methods: Single nucleotide polymorphism at the -202 locus of the IGFBP-3 promoter was genotyped for 100 samples from a study population who is older than 60 years.

Results: The frequency of each polymorphic variation at the -202 locus in these study population was AA=43 (43%), AC=48 (48%), and CC=8 (8%). In both genders, the subjects with the CC genotype were taller, whereas those with AC genotype had higher weight, BMI and BSA comparing those with the other genotypes, but these facts did not reach statistical significance. The prevalence of type 2 DM and the mean fasting blood glucose level did not differ among genotypes in the female gender. In the male population, however, the prevalence of type 2 DM was higher in the subjects with the AC genotype ($P=0.016$) which is reflected by the elevated mean fasting glucose level ($P=0.106$).

Conclusion: IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism, which reflects its serum level and further implicates IGFs bioactivity, was associated with a higher prevalence of type 2 DM in the male gender, suggesting IGFBP-3 might play a role in blood glucose homeostasis.

Key Words: Insulin-like growth factor (IGF), Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3), IGFBP-3 promoter polymorphism, Type 2 diabetes mellitus

서 론

IGFs (IGF-I, IGF-II)와 수용체(typr 1, type 2) 및 IGFBP는 세포의 증식 및 분화 조절 및 apoptosis를 억제하고 암세포의 성장에 관여한다.^{1,2)} 이 중에 Insulin-like growth factor (IGF) binding proteins(IGFBPs)는 6종류가 있으며 216~289개의 아미노산으로 구성되어 있다고 밝혀져 있다. IGFBP-3는 혈액 내 IGF-1 및 IGF-II를 이동시키는 역할을 하며 IGF의 활성도를 조절하고 혈관의 조직의 성장을 직접적으로 억제하는 작용을 한다.³⁻⁵⁾ 혈액 내 IGF-1 및 IGFBP-3 농도는 개인에 따라 다양하나 말단비대증 환자나 성장호르몬 결핍증 환자를 제외하고는 대부분 정상 범위에 포함된다. 또한 IGF-1 및 IGFBP-3 농도와 암과는 서로 연관성이 있다는 보고가 되면서 이 분야에 대한 연구가 활발히 진행 중이며⁶⁻⁸⁾ IGF-1 및 IGFBP-3 농도와 신장 및 다리 길이와 관련이 있다는 보고도 있다.⁹⁻¹¹⁾

IGFBP-3 gene은 7p14-p12에 위치한다. IGFBP-3 promoter 내에 5군데 polymorphism이 있다고 밝혀져 있고 그중에 -202 locus polymorphism은 혈액 내 IGFBP-3 농도를 조절하고 promoter 활성도와 관련되어 있다고 보고된 바 있다.^{12,13)} AA 유전자형은 IGFBP-3 농도가 가장 높고 AC, CC 유전자형순으로 농도의 차이를 보인다. 평균 IGFBP-3 농도는 4,390, 4,130, 3,840 ng/mL였다.¹²⁾

이외에도 IGF axis의 변화로 인한 IGFBP-3 농도 변화가 당뇨병성 신증, 허혈성 심질환 후 remodeling, 동맥 경화성 혈관 질환, 중앙 등에도 영향을 준다는 보고가 있어 IGFBP-3의 발현을 조절하는 기전에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.¹⁴⁾ 이러한 IGFBP-3의 효과를 고려해 볼 때 IGFBP-3의 유전자 다형성이 당뇨, 고혈압, 허혈성 심질환 등의 질병과도 연관성이 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서 저자들은 한국의 일반인 중 60세 이상의 노인을 대상으로 하여 IGFBP-3 promoter의 -202 locus 유전자형과 신체 지표 및 연관된 질병과의 관계를 알아보려고 하였다.

방 법

1. 대상 및 혈액 검사

2003년 1월 1일부터 2003년 12월 31일까지 국민건강보험공단에서 일반인을 대상으로 시행하는 검진을 위해 내원한 1,038명의 사람들 중에 60세 이상의 노인 100명을 무작위로 선택하였다. 48명의 남자와 52명의 여자로 구성되어 있으며 참가자의 평균 연령은 68.4±9.48세(range; 60~85)였다. 신장과 체중을 측정하고 공복 시 혈당, 혈색소, 콜레스테롤, ALT, AST, γ-GT 및 소변 검사를 시행하였으며 문진표를 통해 개인병력, 약물 복용력 및 가족력을 확인하였다. 체표면적은 DuBois formula을 이용하여 $BSA (m^2) = 0.007184 \times \text{신장}(cm)^{0.725} \times \text{체중}(kg)^{0.425}$ 로 계산하였다.

2. DNA 추출 및 IGFBP-3 유전자형의 결정

말초 혈액에서 DNA를 추출하고¹⁵⁾ Polymerase chain reaction을 시행하였다. Primer로 5'-CTGAGTTGCCAGG AGTGACT-3'와 5'-CGAGCTCGGGGCGTGCA-3'를 이용하였다. genomic DNA 100 ng, 1% dimethyl sulfoxide, dNTP (각 200μM), 1.5 mM MgCl₂, 0.4μM PCR primer, 0.25 U TaqBio thermTMstar DNA polymerase (GeneCRAFT, Germany)를 섞어 총 25μL 용액을 준비하였다. thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여

95°C에서 10분간 DNA amplification을 한 후 94°C에서 30초, 66°C에서 1분, 72°C에서 1분의 과정을 40회 시행하고 72°C에서 5분간 extension을 시행 후 종료하였다. PCR 생성물을 Fsp1 (NEB, M.A, USA)을 이용하여 digestion 후 2.5% agarose gel에서 전기영동을 하여 AA, AC, CC유전자형을 확인하였다.

3. 분석 방법

모든 결과는 평균±표준 편차로 나타내었다. One way ANOVA test 및 chi-square test를 이용하여 분석하였다. 양측 검정상 P value 0.05 미만을 통계학적으로 유의하다고 평가하였다.

결 과

1. 한국인에서 IGFBP-3 promoter 내 -202 locus polymorphism의 빈도수

IGFBP-3 promoter 202 locus polymorphism은 AA, AC, CC 세 유전자형으로 분류할 수 있다. 연구 대상자들의 유전자 다형성의 빈도수는 AA 43명 (43%), AC 48명 (48%), CC 8명 (8%)이었다.

2. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 신체 지표와의 관계

평균 연령은 남자의 경우 68.5±10.37세(range; 60~83)이고 여자는 68.3±8.61세(range; 61~85)였다. 신장 및 체중은 남자의 경우 167.0±5.87 cm와 68.1±9.28 kg이고 여자의 경우 153.7±6.35 cm와 57.8±8.74 kg였다. 남녀 모두에서 연령을 보정 후 CC 유전자형군이 다른 유전자형군보다 신장이 컸으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 반면에 통계학적으로 유의하지는 않았지만 체중, BMI, BSA는 남녀 모두에서 AC 유전자형군이 더 컸다(Table 1).

Table 1. Relationship between IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism and body constitutional parameters

Gender	Variables	Genotype			P-value
		AA	AC	CC	
Male	No. of cases	20	21	7	
	Height (cm)	166.7±6.90	167.1±5.05	167.3±5.08	0.916
	Weight (kg)	67.3±9.20	68.8±9.05	68.0±10.52	0.697
	BSA (m ²)	1.75±0.135	1.77±0.125	1.77±0.142	0.733
	BMI (kg/m ²)	24.2±2.90	24.6±2.76	24.3±3.10	0.749
Female	No. of cases	23	27	2	
	Height (cm)	152.8±6.35	154.3±6.26	154.6±10.47	0.400
	Weight (kg)	57.0±8.50	58.6±8.86	56.4±11.22	0.518
	BSA (m ²)	1.53±0.128	1.56±0.122	1.54±0.189	0.406
	BMI (kg/m ²)	24.3±3.05	24.6±3.54	23.5±3.55	0.730

Data are means±SD

Statistical analyses were performed by one way ANOVA test and chi-square test

BSA: body surface area, BMI: body mass index

3. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 제2형 당뇨병과의 관계

혈청내 포도당의 항상성을 유지시키는데 IGFBP-3가 연관되어 있다는 보고가 있어 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 제2형 당뇨병과의 관계를 평가하고자 하였다.¹⁸⁾ 연구에 참여한 48명의 남자 중 4명, 52명의 여자 중 6명이 당뇨병 환자였다. 남자에서는 비록 통계학적으로 유의한 수준에 도달하지 못하지만 AC 유전자형군에서 공복시 혈당이 다른 유전자형군보다 높게 나왔고 또한 제2형 당뇨병의 유병률이 높게 나왔다(P=0.016). 여자의 경우 유전자형에 따른 제2형 당뇨병의 유병률은 차이가 없었다(Table 2).

4. IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism과 IGFBP-3와 연관된 질병과의 관계

IGFBP-3는 동맥 경화, 허혈성 심질환의 remodeling, 암 등과 연관되어 있다는 보고가 있어 이러한 질병과 IGFBP-3 promoter -202 locus 유전자형과의 관계를 알아보하고자 하였다. 개인 병력은 문진표를 통해 확인하였고 그 결과 허혈성 심질환, 고혈압, 뇌혈관 질환과 유전자형과는 연관성이 없었다(Table 2). 3명의 여자 환자가 과거 병력상 대장암, 유방암, 자궁내막암 및 자궁경부암으로 치료받았던 환자였으나 IGFBP-3 promoter -202 locus 유전자형에 따라 암의 유병률의 차이를 보이지 않았다.

고 찰

한국인에서 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism의 빈도수는 북아메리카 코카시안의 빈도수와는 차이

Table 2. Relationship between IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism and various medical conditions

Gender	Medical conditions	Genotype			P-value
		AA	AC	CC	
Male	No. of cases	20	21	7	
	History of type II DM (%)	0 (0)	4 (19.0)*	0 (0)	0.016
	fasting blood glucose	103.2±19.94	113.0±30.83	105.3±13.01	0.106
	Hypertension (%)	3 (15)	6 (28.6)	2 (28.5)	0.762
	Ischemic heart disease (%)	1 (5)	1 (4.7)	1 (14.2)	0.387
	Cerebrovasuclar accident (%)	1 (5)	0 (0)	1 (14.2)	0.211
	History of cancer (%)	0	0	0	
Female	No. of cases	23	27	2	
	History of type II DM (%)	3 (13.0)	3 (11.1)	0	0.692
	fasting blood glucose	107.4±40.12	105.1±24.86	97.8±11.44	0.805
	Hypertension (%)	7 (30.4)	6 (22.2)	0 (0)	0.170
	Ischemic heart disease (%)	1 (4.3)	1 (3.7)	0 (0)	0.864
	Cerebrovasuclar accident (%)	1 (4.3)	0 (0)	0 (0)	0.453
	History of cancer (%)	1 (4.3)	2 (7.4)	0 (0)	0.631

Data are means±SD, no or %

Statistical analyses were performed by one way ANOVA test and chi-square test

*P<0.05 versus AA and CC

를 보이고 있다. 북아메리카에 거주하는 424명을 대상으로 한 연구에서 각 유전자형의 빈도수는 AA 120명 (22.9%), AC 247명(47.1%), CC 157명(30%)이었고 Schernhammer 등이 발표한 내용도 유사하였다.^{12,16)} Wang 등이 일본인 남자 272명을 대상으로 한 연구에서 IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism의 빈도수는 AA 152명(55.9%), AC 105명(38.6%) , CC 15명(5.5%)으로 본 연구 결과와 유사하였다.¹⁷⁾ 이처럼 동양인의 경우 IGFBP-3 promoter의 CC 유전자형의 빈도수가 코카시아인에 비해 낮은데 이는 코카시아인과 동양인의 신장의 차이를 일으키는 원인의 하나로 작용할 수 있을 것이다.

IGFBP-3 promoter -202 locus polymorphism은 IGFBP-3의 혈청 농도를 조절하는 데 질병의 유병률과 IGFBP-3 농도간에 연관성이 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들면 전립선암, 폐암, 대장암 등은 낮은 농도의 혈청 IGFBP-3와 관련이 있다고 알려져 있다.^{19,20)} 이외에 허혈성 심질환, 고혈압, 뇌혈관 질환 등도 IGF axis의 이상과 연관이 있는 것으로 보고되어 있으나 본 연구에서는 유전자형에 따른 각 질환별 유병률의 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 남녀의 평균 신장 및 체중은 8,500명의 Korean Agency for Technology and Standards 2003에 발표된 평균 신장 및 체중과 유사하였다. 체중, BMI, BSA 및 공복 시 혈당이 높은 AC 유전자형 남자에서 제2형 당뇨병 유병률이 높은 결과를 보였다. 이는 IGFBP-3가 혈당의 항상성을 유지하는 역할과 연관이 있는 것으로 설명할 수 있다. 여자인 경우에는 IGFBP-3 promoter polymorphism과 공복 시 혈당 및 당뇨병과의 연관성이 남자에 비해 낮은 것으로 나왔는데 이는 아마도 폐경 전후기 때 호르몬의 변화로 인해 혈당에 영향을 미치는 IGFBP-3의 변화가 생기기 때문으로 생각된다. 실제로 경구 피임제 및 호르몬 대체 요법 등의 에스트로겐 제제는 IGF-1 뿐만 아니라 IGFBP-3의 농도에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 성별에 따른 IGF-1과 IGFBP-3 농도의 변화 외에 연령도 IGFBP-3 polymorphism과 질병 상태와의 관계에 영향을 미치는 인자이다. 혈청 IGF-1과 IGFBP-3 농도는 사춘기 때 최고로 높아졌다가 그 후로는 점차 감소한다.²¹⁾

결론적으로 한국인에서 IGFBP-3 promoter 202 locus polymorphism의 빈도수는 코카시아인과는 다른 결과를 보이며 CC 유전자형의 빈도가 적은 일본인과는 유사한 결과를 보여 이러한 빈도수의 차이는 인종의 차이에 기인한다고 볼 수 있겠다. 비록 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았지만 CC 유전자형군이 신장이 컸고 AC 유전자형군이 체중, BSA 및 BMI가 큰 것으로 보아 IGFBP-3는 신체 지표를 결정하는 데에도 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. 연구에 참여한 100명의 대상자 중에 10명이 당뇨병으로 현재 투약 받는 환자였고 이는 한국 당뇨병학회에서 발표한 유병률과 유사하였다. 남자의 경우 AC 유전자형이 제2형 당뇨병의 유병률이 높았으며 IGFBP-3가 혈당의 항상성을 유지하는 역할과 연관이 있는 것으로 설명할 수 있다. 여자에서는 유전자형간의 제2형 당뇨병의 유병률 차이가 없었는데 아마도 폐경기 전후의 호르몬 변화에 의한 것으로 보인다. 유전적 인자와 환경적 인자 등의 다양한 인자가 관여하는 당뇨병의 병인 과정에서 특히 노인의 경우 베타세포 기능이 연령이 증가함에 따라 감소되어 신체지표와 관련된 유전적 이상이 상대적으로 중요하게 작용하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions. *Endocr Rev* 1995;16:3-34.
2. Cullen KJ, Lippman ME, Chow D, Hill S, Rosen N, Zwiebel JA. Insulin-like growth factor-II overexpression in MCF-7 cells induces phenotypic changes associated with malignant progression. *Mol Endocrinol* 1992;6:91-100.

3. Stewart CE, Rotwein P. Growth, differentiation and survival; multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev* 1996;76:1005-26.
4. Baxter RC. Signaling pathways involved in anti-proliferate effects of insulin-like growth factor binding protein-3. *Mol Pathol* 2001;54:145-8.
5. Baxter RC. Molecular aspects of insulin-like growth factor binding proteins. In LeRoith D, Ed. *Advances in Molecular And Cellular Endocrinology* 1997;1:123-59.
6. Burroughs KD, Dunn SE, Barrett JC, Taylor JA. Insulin-like growth factor-I: a key regulator of human cancer risk? *J Natl Cancer Inst* 1999;91:579-81.
7. Fanayan S, Firth SM, Baxter RC. Signaling through the Smad pathway by insulin-like growth factor-binding protein-3 in breast cancer cells. Relationship to transforming growth factor-beta 1 signaling. *J Biol Chem* 2002;277:7255-61.
8. Fanayan S, Firth SM, Butt AJ, Baxter RC. Growth inhibition by insulin-like growth factor-binding protein-3 in T47D breast cancer cells requires transforming growth factor- β (TGF- β) and the type II TGF- β receptor. *J Biol Chem* 2000;275:39146-51.
9. Gunnell DJ, Smith GD, Holly JMP, Frankel S. Leg length and risk of cancer in the Boyd Orr cohort. *Br Med J* 1998;317:1350-1.
10. Albanes D, Jones DY, Schatzkin A, Micozzi MS, Taylor PR. Adult stature and risk of cancer. *Cancer Res* 1998;48:1658-62.
11. Smith GD, Shipley M, Leon DA. Height and mortality from cancer among men: prospective observation study. *Br Med J* 1998;317:1351-2.
12. Deal C, Ma J, Wilkin F, Paquette J, Rozen F, Ge B, et al. Novel promoter polymorphism in insulin-like growth factor-binding protein-3: correlation with serum levels and interaction with known regulators. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1274-80.
13. Sun G, Chagnon M, Bouchard C. A common polymorphism in the human insulin like growth factor binding protein 3 gene. *Mol Cell Probes* 2000;14:55-6.
14. Spagnoli A, Chiarelli F, Vorwerk P, Boscherini B, Rosenfeld RG. Evaluation of the components of insulin-like growth factor (IGF)-IGF binding protein (IGFBP) system in adolescents with type 1 diabetes and persistent microalbuminuria: relationship with increased urinary excretion of IGFBP-3 18 kD N-terminal fragment. *Clin Endocrinol* 1999;51:587-96.
15. Kim SK, Ro JY, Kemp BL, Lee JS, Kwon TJ, Fong KM, et al. Identification of three distinct tumor suppressor loci on the short arm of chromosome 9 in small cell lung cancer. *Cancer Res* 1997;57:400-3.
16. Schernhammer ES, Hankinson SE, Hunter DJ, Blouin MJ, Pollak MN. Polymorphic variation at the -202 locus in IGFBP3: Influence on serum levels of insulin-like growth factors, interaction with plasma retinol and vitamin D and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2003;107:60-4.
17. Wang L, Habuchi T, Tsuchiya N, Mitsumori K, Ohyama C, Sato K, et al. Insulin-like growth factor-binding protein-3 gene -202 A/C polymorphism is correlated with advanced disease status in prostate cancer. *Cancer Res* 2003;63:4407-11.
18. Holt RIG, Simpson HL, Sonksen PH. The role of the growth hormone insulin-like growth factor axis in glucose homeostasis. *Diabet Med* 2003;20:3-15.
19. Ma J, Pollak MN, Giovannucci E, Chan JM, Tao Y, Hennekens CH, et al. Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:620-5.
20. Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong WK, Wu X. Plasma levels of insulin-like growth factor-I and lung cancer risk: a case-control analysis. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:151-6.
21. Jernstrom H, Deal C, Wilkin F, Chu W, Tao Y, Majeed N, et al. Genetic and nongenetic factors associated with variation of plasma levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-3 in healthy premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:377-84.

= 국문요약 =

연구배경: Insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 (IGFBP-3)는 혈액 내 IGFs와 결합하여 활성도를 조절하는 역할을 한다. 혈액 내 IGFs 및 IGFBP-3의 농도는 개인별로 다양하며 질병에 따라 영향을 받는다. 본 연구에서는 IGFBP-3 유전자형에 따른 신체 지표 및 질병과의 관계를 알아보려고 한다.

방법: 국민건강보험공단에서 일반인을 대상으로 시행하는 검진을 위해 내원한 사람 중에 60세 이상 100명을 무작위로 선택하여 체중, 신장 등의 신체 계측 및 생화학적 검사를 시행하였으며 문진을 통한 과거력, 약물 복용력, 가족력을 조사하였고 말초 혈액에서 DNA를 추출하여 IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism을 검사하였다.

결과: IGFBP-3 promoter -202 locus의 유전자형의 빈도수는 AA 43명(43%), AC 48명(48%), CC 8명(8%)이었다. 통계학적으로 유의 수준에 도달하지는 못하였지만 남녀 모두에서 CC 유전자군의 신장이 가장 큰 반면에 AC 유전자군이 체중, BMI, BSA가 가장 컸다. 여자에서 유전자형에 따른 제2형 당뇨병의 유병률 및 공복 시 혈당에 차이가 없었지만 남자에서는 AC 유전자군이 제2형 당뇨병의 유병률 및 공복 시 혈당이 높게 나왔다(P=0.016, P=0.106).

결론: IGFBP-3의 혈청 농도 및 IGFs의 활성도를 결정하는 IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism은 남자의 경우 제2형 당뇨병의 유병률과 관계가 있으며 이는 IGF BP-3가 혈당의 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

중심단어: IGFs, IGFBP-3, IGFBP-3 promoter -202 locus A/C polymorphism, 제2형 당뇨병