

한국인 남성에서의 CETP유전자 다형성이 혈중 지질농도 및 관상동맥질환의 발생에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 심혈관연구소, 심혈관계질환 유전체연구센터,¹
연세대학교 생활환경대학 식품영양학과,² 연세대학교 노화과학연구소,³
연세대학교 의과대학 심장내과학교실⁴

조은영¹ · 배수진^{1,2} · 조홍근^{1,3} · 고영국^{1,4} · 박현영^{1,4} · 이종호^{1,2} · 장양수^{1,3,4}

Association of Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene Polymorphism with Serum Lipid Concentration and Coronary Artery Disease in Korean Men

Eun Young Cho, PhD¹, Soo Jin Bae, MS^{1,2}, Hong Keun Cho, MD^{1,3}, Young-Guk Ko, MD^{1,4},
Hyun-Young Park, MD^{1,4}, Jong Ho Lee, PhD^{1,2} and Yangsoo Jang, MD^{1,3,4}

¹Cardiovascular Research Institute, Cardiovascular Genome Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

²Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul,

³Research Institute of Science for Aging, Yonsei University, Seoul, ⁴Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Cholesteryl ester transfer protein (CETP) plays a key role in the reverse cholesterol transport pathway. The purpose of this study was to investigate the association of CETP gene polymorphism with the plasma lipid levels and coronary artery disease (CAD) in Korean men. **Subjects and Methods :** Two hundred and sixteen healthy control subjects (46.8±10.6 y) and 95 patients with CAD (58.2±8.8 y) were examined. The genotypes of C-629A, Taq1B and I405V were determined by the SNP-IT assay. **Results :** The allele frequencies of the C : A in the C-629A, B1 : B2 in the Taq1B and I : V in the I405V in the control group were 0.51 : 0.49, 0.63 : 0.37 and 0.55 : 0.45, respectively. The genotype distributions of the C-629 A and Taq1B polymorphisms in the CAD patients did not differ from those in the control group. No variation in the CETP genotype was associated with disease progression in the CAD group. The HDL cholesterol in -629A homozygous and Taq1B B2 homozygous were higher than those of the other genotypes. The Taq1B B2 carrier was an independent determinant for HDL cholesterol in the control group. However, I405V polymorphism was not associated with HDL cholesterol. The V allele in the I405V polymorphism was associated with reduced CAD events after controlling the age, BMI and other risk factors (OR : 0.4, p<0.01). **Conclusion :** The frequencies of Taq1B and C-629A variants between the healthy and CAD groups did not differ. The B2 carrier in the Taq1B polymorphism was associated with a higher HDL cholesterol concentration. The V variation in the I405V polymorphism had a protective effect against the development of CAD in Korean men. (Korean Circulation J 2004;34(6):565-573)

KEY WORDS : CETP protein ; Genes ; Polymorphism ; HDL cholesterol ; Coronary disease.

논문접수일 : 2003년 12월 24일

수정논문접수일 : 2004년 2월 18일

심사완료일 : 2004년 2월 23일

교신저자 : 장양수, 120-749 서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 심장내과학교실

전화 : (02) 361-7353 · 전송 : (02) 365-1878 · E-mail : jangys1212@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

지금까지 알려진 관상동맥질환의 위험요인 중 high density lipoprotein(HDL) 콜레스테롤의 감소는 low density lipoprotein(LDL) 콜레스테롤농도의 증가와 함께 관상동맥질환(coronary artery disease : CAD)의 중요한 위험인자로 알려져 있다. 또한 Framingham study에서는 HDL 콜레스테롤농도가 6~7 mg/dL 증가하는 경우 CAD의 발생위험을 20~27%정도 감소시키는 것으로 보고하였다.¹⁾²⁾ 최근 미국의 National Cholesterol Education Program ATP(Adult Treatment Panel) III 에서는 관상동맥질환의 예방을 위해 저 HDL 콜레스테롤 농도의 기준을 상향 조정함으로써 HDL 콜레스테롤농도의 중요성을 부각시키고 있다.³⁾

HDL 콜레스테롤 농도는 연령, 비만, 흡연, 운동, 음주, 여성호르몬 등에 의해 변화되나, HDL 콜레스테롤 농도 변화의 40~60%는 유전적 요인에 의해 영향을 받는다. HDL 콜레스테롤 농도에 영향을 주는 유전적 요인으로는 구성 지단백질인 ApoA1 유전자와 대사에 관여하는 lipoprotein lipase, hepatic lipase, cholesteryl ester transfer protein(CETP), paraoxonase 유전자 등이 알려져 있다.¹⁾

이 중 CETP는 HDL 콜레스테롤 대사에 관여하는 단백질로 말초조직에서 간으로 cholesteryl ester(CE)를 운반하는 역수송경로의 주요한 역할을 담당한다. CETP는 염색체 16q21에 위치한 CETP유전자에 의해 만들어지는 소수성 당단백질로 C-631A, C-629A, Taq1B, A373P, I405V, D442G, R451Q 등의 단일염기 유전자 다형성(single nucleotide polymorphism : SNP)이 알려져 있다.⁴⁻⁶⁾

CETP 프로모터 부위의 C-629A의 SNP는 전구체 활성화 및 CETP활성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.⁷⁻⁹⁾ Intron 1의 277번째 염기 G가 A로 치환되어 Taq1 제한효소의 작용이 차이 나는 Taq1B 유전자 다형성은 CETP활성과 HDL 콜레스테롤농도 및 관상동맥질환 발생과 관련이 있으며 C-629A와 강한 linkage disequilibrium(연관성)을 나타내는 것으로 보고되었다.⁸⁾¹⁰⁻¹²⁾ I405V 유전자다형성은 exon 14번에 위치한 405번째 아미노산의 염기서열 A가 G로 치환되어 isoleucine(I)이 valine(V)으로 변환되어 CETP의 구조적 변화를 나타내며, 405VV유전형에서 CETP 활성화감소, HDL 콜레스테

롤 증가를 보고하였다.¹²⁾¹³⁾

그러나 CETP의 유전자 다형성과 혈청 지질농도 및 CAD와의 관련성은 각각의 유전자 다형성의 빈도, 인종에 따라 Caucasian, Dutch, Scottish 등에서는 관련성이 있는 것으로 보고되기도 하고, African-American에서는 유의적인 상관성을 나타내지 않는 등 다양한 결과를 나타내고 있다.¹¹⁻¹³⁾ 또한 CETP활성이 심혈관질환 발생에 미치는 영향에 대해서도 상반된 견해가 제시되고 있다. CETP 활성화 감소는 HDL 콜레스테롤 증가와 관련하여 동맥경화에 대한 방어인자로서 역할을 하지만, 역수송경로의 감소는 HDL 내의 cholesteryl ester(CE)의 함량을 증가시키고 LDL에 의한 CE의 제거를 지연시켜 동맥경화를 촉진하는 인자로 작용, 동맥경화의 발생률을 높이는 역할을 한다는 견해도 있다.⁵⁾

본 연구는 CETP의 C-629A, Taq1B, I405V의 유전자 다형성이 혈청 지질농도 및 관상동맥질환 발생에 미치는 영향을 분석하였다.

대상 및 방법

대 상

본 연구는 2001년 2월부터 2002년 12월 사이에 세브란스병원 심혈관계질환 유전체연구에 참여한 26~81세의 정상 대조군 216명과 관상동맥질환군 95명을 대상으로 하였다. 이 중 정상 대조군(평균 연령 46.8±10.6세)은 관상동맥 질환의 증상 또는 위험인자가 없고 고혈압, 당뇨병, 뇌혈관질환, 말초혈관질환을 진단 받지 않은 남성으로 흉부 X-선상 심장비대 소견이 없고 심전도상 정상소견을 보이는 사람을 대상으로 하였으며 체질량지수(body mass index : BMI)가 30 kg/m² 이상이거나 중성지방이 400 mg/dL이상인 경우 또는 지질강하제나 호르몬제제를 복용하는 경우는 대조군에서 제외하였다.

관상동맥질환군(이하 CAD군, 평균 연령 58.2±8.8세)은 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 관동맥조영술상 적어도 한 혈관 이상에서 내경의 50% 이상 협착이 확인된 남성 환자로, 급성 관동맥 증후군의 발생 후 6개월이상 경과되고 지질강하제를 복용하지 않는 환자를 대상으로 하였다. 관상동맥질환 환자는 주요 혈관에서 50% 이상의 협착이 하나인 단일혈관질환군과 2개 이상의 다혈관질환군으로 분류하였다.

본 연구에 참여한 모든 대상자들로부터 서면동의를 받은 후 시행되었다.

인체계측, 체지방량 및 체지방 분포 조사

인체계측으로 신장과 체중을 측정하고 비만지표로 BMI를 계산하였다. 대상자를 평평한 바닥에 세운 채 tape로 허리와 엉덩이 둘레를 측정하여 복부비만의 지표로써 허리와 엉덩이 둘레비(waist to hip circumference ratio : WHR)를 계산하였다. 체지방은 생체전기저항법을 이용한 Body fat analyzer TBF-105(Tanita Co., Japan)를 이용하여 직접 측정하였다.

혈압은 채혈과 동일한 시간에 10분 이상 안정 상태를 유지시킨 후 수은계혈압계를 사용하여 수축기와 이완기 혈압을 두 번 반복 측정하였으며, 일대일 면담을 통하여 흡연, 음주습관에 대한 설문조사를 실시하였다.

혈중 지질농도 측정

검사 당일 아침 채혈 전 10시간 이상의 공복 후 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방은 자동 분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 효소법으로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedewald 공식에 의해 계산하였다.¹⁴⁾

혈당 및 인슐린 측정

혈당은 포도당 산화효소법으로 인슐린농도는 INS-IRMA kit(Biosource Co, Ltd Belgium)를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 공복 혈당과 인슐린 농도를 이용하여 HOMA(Homeostasis model assessment)법으로 인슐린 저항성을 계산하였다.¹⁵⁾

유전형 분석

DNA는 전혈 5 mL에서 DNA isolation kit(Gentra Genomic DNA purification kit, Minneapolis, U.S.A)를 이용하여 추출하였고, CETP유전자의 C-629A, Taq1B, I405V의 유전형분석을 위한 primer와 단일염기확장반

Table 1. Primer design for CETP genotyping

		5'-Primer-3'
C-629A	Forward	GAT ACC CAG TTT CTC CCG GA
	Reverse	AAA CAG TCC TCT ATG TAG ACT TTC CTT G
	Genotyping	CAA TGA TCT CAG AGG CTG TAT ACC C
Taq1B	Forward	AAA CAG CCA GGT ATA GGG ATT TGT
	Reverse	CTA ATC TTT ACC CCC TGA CAT TAA CC
	Genotyping	GTC TGC GAC CXA GAA TCA CTG GGG TTC
I405V	Forward	GAG GAC TCA CCA TGG GCA
	Reverse	AGG GAT GCC CAC AGC GGT
	Genotyping	TGA TTG GCA GAG CAG CTC CGA GTC C

CETP: cholesteryl ester transfer protein

응을 위한 primer 염기서열은 Table 1과 같다. 각 CETP 유전자의 염기쌍을 중합효소 연쇄반응 기계(PCT-100 PM, MJ Reserach INC, Waltham, MA, USA)를 이용하여 증폭시킨 후 결합되지 않은 시발체(unbound primer) 및 뉴클레오티드를 제거하였다. 단일염기다형성 분석은 SNP stream 25K system(Orchid Biosciences, Princeton, NJ, USA)를 이용한 SNP IT(SNP-Identification Technology, Orkid Biosciences, Princeton, NJ, USA) assay방법을 이용하였다.

PCR산물을 plate에 부착시킨 genotype primer에 anneal시킨 후 다시 biotin 또는 fluorescein isothiocyanate (FITC)로 표지된 각각의 dideoxynucleotide와 반응시켜 단일염기 확장 후 반응이 종료되도록 한 후 표지자 분석을 통하여 각 SNP의 유전형을 확인하였다.

자료의 통계처리

모든 자료는 Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Science, SPSS Ins., Chicago, IL, USA) 11.0를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치들은 평균±표준편차로 표시하였다.

대조군과 관상동맥질환군의 기본적 임상특성은 Student t-test와 χ^2 -test를 이용하여 분석하였고, 두 군에서 유전형에 따른 혈청 지질수치의 차이는 one way ANOVA를 이용하여 분석 후 Bonferroni test로 사후검증을 실시하였다.

CETP 유전자다형성이 HDL 콜레스테롤농도에 미치는 영향을 규명하기 위해 대조군 216명에서 세 가지 유전자 다형성과 연령, 비만, 중성지방, 인슐린저항성, 음주, 흡연 등을 covariate로 다중회귀분석(multiple regression)을 실시하였다.

CETP 유전자다형성이 관상동맥질환발생에 미치는 영향은 혈청 지질약을 복용 중인 관상동맥경화증 환자 83명을 포함한 총 178명을 대상으로 분석하였다. 세 가지 유전자 다형성과 연령, 비만, 중성지방, 총 콜레스테롤 농도, 인슐린저항성, 음주, 흡연 등을 covariate로 multiple logistic regression 분석을 실시하였고, OR는 95% CI로 표시하였다. 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

환자의 임상적 특징

대상자의 연령 및 일반적 특성은 Table 2와 같다. CAD군의 연령, 비만도는 대조군에 대해 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). CAD군의 HDL 콜레스테롤농도는 대조군에 비해 유의적으로 낮았고 인슐린저항성 지표는 대조군에 비해 유의적으로 높았으며 이는 연령, 비만도를 보정한

Table 2. Clinical characteristics of study subjects

	Control (n=216)	CAD (n=95)
Age (yrs)	46.8±10.6	58.2± 8.8 [†]
BMI (kg/m ²)	23.9± 2.6	24.8± 2.6*
WHR	0.88± 0.1	0.92± 0.1*
Body fat (%)	21.9± 4.8	23.0± 4.6*
Triglyceride (mg/dL)	147.6±78.4	167.6±119.0
Total cholesterol (mg/dL)	204.1±39.2	199.4± 37.0
LDL cholesterol (mg/dL)	134.3±35.6	131.3± 32.4
HDL cholesterol (mg/dL)	46.0±10.9	37.2± 11.6 [†]
Glucose (mg/dL)	92.6±12.7	96.7± 24.0*
Insulin (μ U/mL)	7.7± 5.0	10.± 9.0*
HOMA IR	1.7± 1.1	2.6± 4.2*
DM (%)	1.4	18 [†]
HIBP (%)	27	29
ex* current smoker (%)	80	88
Current drinker (%)	83	74

Mean±SD. CAD: coronary artery disease, BMI: body mass index, WHR: waist to hip ratio, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein, HOMA IR: homeostasis model assessment insulin resistance index, DM: diabetes mellitus, HIBP: hypertension. *: $p < 0.05$, †: $p < 0.001$, by student t-test, ‡: $p < 0.001$ by χ^2 -test

후에도 동일한 결과를 나타냈다($p < 0.05$). 두 군에서 흡연, 음주습관의 빈도는 유의한 차이가 없었다.

CAD군에서 단일혈관질환군은 36명(38%)이었으며 두 혈관에서 협착이 확인된 경우가 34명(36%), 세 혈관 모두에서 협착이 확인된 경우가 25명(26%)으로 다혈관질환군은 총 59명이었다.

CETP 유전자 다형성의 빈도분석

CETP 유전자의 세 가지 유전자다형성의 빈도는 Table 3에 나타났다. 세 가지 유전형의 분석 결과는 각각 Hardy-Weinberg equilibrium을 따르는 것으로 나타났다($df=1$, $p > 0.05$). 세 가지 유전자다형성은 각각 강한 linkage disequilibrium를 나타냈다(Table 4).

프로모터 부분의 C-629A의 C : A빈도는 대조군과 CAD군에서 0.51 : 0.49였으며, Taq1B의 B1 : B2빈도는 대조군에서 0.62 : 0.38, CAD군에서 0.63 : 0.37로 두 구간 유의적인 차이가 없었다. I405V의 II : IV : VV의 빈도는 대조군에서 30% : 50% : 20%로 CAD군의 42% : 42% : 16%와 유의적인 차이가 없었으나, 405V 빈도는 대조군에서 0.45로 CAD군의 0.37보다 높은 경향을 보였다($p=0.053$).

CAD군을 혈관의 협착 수에 따라 두 군으로 나누어 CETP 유전자 다형성의 빈도를 비교해 본 결과 협착정

Table 3. Frequency of CETP polymorphism

		Control n=216 (%)	CAD n=95 (%)	χ^2 -test
C-629A	CC	51 (24)	24 (25)	$p=0.838$
	CA	117 (54)	48 (51)	
	AA	48 (22)	23 (24)	
Taq1B	B1B1	86 (40)	40 (42)	$p=0.763$
	B1B2	98 (45)	39 (41)	
	B2B2	32 (15)	16 (17)	
I405V	II	65 (30)	40 (42)	$p=0.115$
	IV	107 (50)	40 (42)	
	VV	44 (20)	15 (16)	

CETP: cholesteryl ester transfer protein, CAD: coronary artery disease

Table 4. Linkage disequilibrium between the polymorphism of the CETP gene

	Taq1B	I405V
C-629A	0.922*	0.599*
Taq1B		0.605*

CETP: cholesteryl ester transfer protein. *: $p < 0.001$

도에 따른 세 가지 SNP의 유전형분포의 차이는 없었다 (결과는 표로 제시하지 않았음).

CETP 유전형이 혈청 지질농도에 미치는 영향

대조군과 CAD군에서 C-629A의 유전형이 혈청 지질농도에 미치는 영향은 Table 5에 나타났다. 대조군에서 AA형의 평균 연령이 CC군에 비해 유의적으로 적었다. 두 군에서 유전형에 따른 비만도와 중성지방, 총 콜레스테롤농도의 유의적인 차이는 없었다. 연령을 보정한 후 대조군의 AA유전형의 HDL 콜레스테롤 농도 49.0 mg/dL는 CC유전형의 HDL 콜레스테롤농도 43.6 mg/dL에 비해 12% 증가된 경향을 나타냈다(p=0.053). CAD군에서 AA형의 HDL 콜레스테롤농도는 CC유전형에 비

해 유의적으로 높았다. 대조군과 CAD군에서 Taq1B 유전형에 따른 연령, 비만도 및 혈청 콜레스테롤, 중성지방농도의 차이는 없었다. 대조군에서 B2B2유전형의 HDL 콜레스테롤 농도는 49.6±11.5 mg/dL로 B1B2의 46.4±11.0 mg/dL, B1B1의 44.1±10.3 mg/dL 보다 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. B1B2와 B2B2의 B2 carrier의 HDL 콜레스테롤 농도는 47.2±11.1 mg/dL로 B1B1군에 비해 유의적으로 높았다(p<0.05). CAD의 B2B2의 HDL콜레스테롤 농도는 40.3±10.8 mg/dL로 B1B1의 35.2±12.9 mg/dL 보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다. I405V의 유전형에 따른 혈청 지질농도는 대조군과 관상동맥질환군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 5).

Table 5. Serum lipid level according to CETP genotype in control and CAD group

		C-629A	CC	CA	AA
Age (yrs)	Control		47.3± 10.0	47.9± 10.5	43.5± 11.2*
	CAD		59.3± 7.6	57.0± 8.3	59.7± 10.2
Triglyceride (mg/dL)	Control		142.9± 76.2	152.1± 37.4	141.9± 75.0
	CAD		133.4± 58.5	190.1±144.0	156.3±100.7
Total cholesterol (mg/dL)	Control		204.6± 46.4	203.7± 37.4	204.5± 36.0
	CAD		203.9± 38.1	190.7± 35.1	212.9± 35.6
LDL cholesterol (mg/dL)	Control		130.9± 33.4	135.2± 39.0	135.0± 31.4
	CAD		141.7± 33.2	120.4± 26.5*	141.5± 36.9
HDL cholesterol (mg/dL)	Control		43.8± 11.7	46.1± 10.0	48.0± 12.2
	CAD		33.6± 5.2	36.3± 13.1	43.0± 11.3*
		Taq1B	B1B1	B1B2	B2B2
Triglyceride (mg/dL)	Control		151.8± 83.8	142.5± 73.4	152.3± 79.9
	CAD		184.9±148.9	156.3± 84.8	151.7±107.4
Total cholesterol (mg/dL)	Control		198.5± 40.2	206.4± 39.2	211.9± 35.5
	CAD		199.9± 39.2	193.9± 31.2	211.6± 43.4
LDL cholesterol (mg/dL)	Control		126.9± 30.5	138.3± 40.8	137.9± 29.6
	CAD		132.4± 31.5	125.6± 28.3	144.3± 43.5
HDL cholesterol (mg/dL)	Control		44.1± 10.3	46.4± 11.0	49.6± 11.5
	CAD		35.2± 12.9	38.2± 10.3	40.3± 10.8
		I405V	II	IV	VV
Triglyceride (mg/dL)	Control		140.1± 79.6	157.3± 81.1	135.3± 68.1
	CAD		160.3±123.3	175.9±119.8	164.9±111.5
Total cholesterol (mg/dL)	Control		205.8± 41.9	206.5± 40.0	195.6± 32.4
	CAD		198.0± 32.8	201.2± 39.9	198.6± 41.8
LDL cholesterol (mg/dL)	Control		132.2± 31.7	138.6± 40.0	127.5± 29.9
	CAD		132.2± 28.0	130.4± 31.9	131.8± 44.8
HDL cholesterol (mg/dL)	Control		46.5± 11.3	45.1± 10.3	47.3± 11.7
	CAD		36.7± 14.1	38.1± 9.67	36.2± 10.3

Mean±SD. CETP: cholesteryl ester transfer protein, CAD: coronary artery disease, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein. *: p<0.05. Significantly different from homozygote group by ANOVA (followed by bonferroni test) in each group

CETP의 세 가지 유전자 다형성이 정상인의 HDL 콜레스테롤 농도에 미치는 영향을 알아보기 위해 연령, 비만도, 중성지방, 인슐린저항성, 음주, 흡연과 세 가지 유전자 다형성을 주요 독립변인의 존재 유무에 따라 두 군으로 나누어 다중회귀분석을 실시하였다(Table 6). 중성지방, 연령, 비만도, 음주와 Taq1B의 B2 carrier는 HDL 콜레스테롤농도에 영향을 주는 주요 인자로 분석되었다($R^2=0.271$, $p<0.05$). Taq1B의 B2 carrier는 B1B1유전형에 비해 HDL 콜레스테롤 농도를 3.55 mg/dL 증가시키는 것으로 나타났다.

CETP 유전자다형성이 관상동맥질환 발생에 미치는 영향

CETP의 세 가지 유전자다형성이 관상동맥질환 발생에 미치는 영향을 알아보기 위해 연령, 비만도, 당뇨, 고혈압, 혈청 지질농도, 음주, 흡연 등을 covariate로 이용하여 로지스틱 분석을 실시하였다. C-629A와 Taq1B 유전자 다형성은 CAD와의 관련성을 보이지 않았으나 I405V의 V carrier군인 IV와 VV유전형은 II유전형에 비해 CAD 발생위험을 0.40(95% C.I : 0.20~0.79, $p=0.008$)배 감소시키는 것으로 분석되었다(Table 7).

고찰

본 연구는 한국인 남성에서 CETP유전자의 C-629A, Taq1B, I405V의 유전자 다형성빈도를 규명하고 혈청

Table 6. Multiple stepwise linear regression analysis on HDL cholesterol in control group (n=216)

	B	p	R ² (cumulative)
Triglyceride	-0.043	0.000	0.132
Age	0.274	0.000	0.181
BMI	-0.976	0.001	0.219
Current drinker	4.900	0.012	0.245
Taq1B B2 carrier	3.551	0.014	0.271

BMI: body mass index, HDL: high density lipoprotein

Table 7. Odds ratio for the effect of CETP polymorphism on CAD by logistic regression analysis (control 216+CAD178)

		OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
C-629A	CA + AA vs CC	1.17 (0.61-2.22)	1.19 (0.48-2.96)
Taq1B	B1B2 + B2B2 vs B1B1	1.32 (0.75-2.31)	2.10 (0.93-4.71)
I405V	IV + VV vs II	0.53 (0.32-0.87)*	0.40 (0.20-0.79) [†]

Adjusted by age, body mass index, diabetes, hypertension, triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol, smoking status, drinking status. CETP: cholesteryl ester transfer protein, CAD: coronary artery disease, OR: odds ratio, CI: confidence interval, HDL: high density lipoprotein. *: $p<0.05$, †: $p<0.01$

지질 농도 및 관상동맥질환 발생과의 관련성을 살펴보고자 하였다.

본 연구의 -629A 대립인자의 빈도는 전체에서 0.49였으며, 대조군과 CAD군간 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과는 Ordovas 등이 보고한 중국인의 -629A의 빈도 0.48 및 유럽인의 빈도와 유사하였다.⁷⁾⁸⁾ 대조군에서 Taq1B의 B2 대립인자의 빈도는 0.38로, 국내의 다른 연구결과인 0.40과 유사하였다.¹⁶⁾ 그러나 일본, 유럽인, 미국인의 0.42~0.46 보다는 다소 낮았고, 아프리카계 미국인의 0.26보다는 높았다.⁸⁾¹⁰⁻¹²⁾ I405V의 V 빈도는 대조군에서 0.45로 CAD군의 0.37보다 유의적으로 높았으나 일본인의 I빈도 0.57보다는 낮았고 Freeman 등이 보고한 유럽인의 0.28~0.35보다는 다소 높았다.¹²⁾¹⁷⁾¹⁸⁾

CAD군에서 세 가지 유전자다형성과 혈관의 협착수로 평가한 CAD의 진전정도와는 유의적인 관련성이 없었다. Goto 등¹⁷⁾이 106명의 일본인 CAD환자를 대상으로 한 연구에서도 혈관의 협착정도를 점수화하여 평가한 Angioscore와 CETP Taq1B와 I405V의 유전형과는 유의적인 관련성을 나타내지 않아 CETP유전형은 관상동맥질환의 진전과는 관련성이 없는 것으로 여겨진다.

각각의 유전자다형성이 혈청 지질농도에 미치는 영향은 기존의 연구결과와 유사하였다. 대조군과 CAD군의 -629AA군의 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 CC군에 비해 높았고 이는 Blankenberg 등⁹⁾의 연구의 결과와 동일한 것으로 -629AA군의 CETP활성은 -629CC군의 CETP활성보다 낮은 것으로 설명된다. 본 연구에서 대조군과 CAD군에서 Taq1B의 B2B2 유전형은 B1B1, B1B2형에 비해 높은 HDL 콜레스테롤 농도를 나타냈다. Gudnason 등¹²⁾은 757명을 대상으로 CETP activity를 측정하여 Taq1B의 B2B2유전형의 CETP activity는 B1B1에 비해 유의적으로 낮고 HDL 콜레스테롤 농도는 유의적으로 높음을 보고하였다. 본 연구에서 I405V의 유전형과 HDL콜레스테롤 농도와는 유의적인 관련

성이 없었다.

CETP 유전자다형성에 따른 CETP활성과 CETP mass의 변화는 여러 연구에서 일관되게 보고되었다. 그러나 CETP유전자다형성과 HDL 콜레스테롤 농도와의 상관성은 대상자들의 성별, 인종, 흡연을 등의 차이에 따라 통계적 유의성이 다르게 보고되고 있다.¹⁶⁾¹⁷⁾ African American에서는 Taq1B 유전형에 따른 HDL 콜레스테롤 농도의 유의적인 차이가 없었으며 Copenhagen City Heart Study 대상자들에서는 I405V 유전형과 HDL 콜레스테롤농도와의 관련성은 여성에서만 유의적인 것으로 보고하였다.¹¹⁾¹³⁾ 본 연구에서 C-629A의 유전형에 따른 혈청 HDL 콜레스테롤의 증가는 대조군에 비해 CAD군에서 보다 유의적이었다. 이는 CAD군의 현재 흡연자의 비율이 23%로 대조군의 54%로 보다 유의적으로 낮았고 -629AA군의 평균 알코올 섭취량이 18.4 g으로 CC, CA군의 48.5, 42.4 g보다 적어 대조군에 비해 대상자의 수가 적음에도 불구하고 통계적으로 유의적인 결과를 나타낸 것으로 여겨진다. 405II 유전형에 비해 VV 유전형을 갖는 경우 CETP activity의 유의적인 감소와 HDL 콜레스테롤 농도의 유의적인 증가가 보고되었으나 Gudnason 등¹²⁾은 CETP activity의 variance에 대한 I405V의 설명력은 3.7%로 Taq1B의 9.1%에 비해 상대적으로 적은 것으로 보고하였고, 본 연구에서도 관련성을 규명하지 못하였다.

세 가지 유전자 다형성 중 Taq1B B2대립인자는 연령, 비만, 중성지방 등의 요인을 보정한 후에도 세 가지 CETP 유전자 다형성 중에서 HDL콜레스테롤 농도 증가에 영향을 주는 유의적인 인자로 분석되었다. Taq1B 유전자 다형성은 Intron에 위치하고 있어 CETP 유전자의 실질적인 기능적 변화에 직접적인 영향을 주지는 않지만 다른 유전자 다형성과의 강한 상관성(linkage disequilibrium)을 통해 CETP 활성화에 미치는 영향이 가장 크기 때문으로 여겨진다.¹²⁾¹⁸⁾

연령증가 역시 HDL콜레스테롤 증가에 영향을 주는 유의적인 인자로 분석되었는데 이는 본 연구에 참여한 정상대조군의 평균 연령이 46.8세였으며 55세 이하가 전체의 75%에 해당하여 노화에 의한 HDL콜레스테롤 농도 감소의 영향이 적었던 것으로 여겨진다.

CETP 세 가지 유전자 다형성과 CAD 발생과의 관련성은 대상자의 HDL 콜레스테롤, 중성지방의 농도에 따라 상반되게 보고되고 있다. CETP 유전자다형성 중 가

장 많은 연구가 진행된 Taq1B의 유전자 다형성과 CAD와의 관련성에 대한 보고도 연구자에 따라, 인종에 따라 다르게 보고되고 있다.

박 등¹⁶⁾은 한국인에서 B1B1유전형은 CAD발생의 독립적인 위험인자로 보고하였으며, VA-HIT study에서는 남성에서 B2B2유전형은 CHD risk를 0.52배 감소시키는 것으로 보고하였다.¹⁹⁾ 그러나 음주, 비만, 중성지방, HDL콜레스테롤 농도를 보정했을 때는 -629AA와 Taq 1B B1B2유전형이 통계적으로 유의하게 CAD에 대한 발생위험을 낮추지 못하는 것으로 나타났다.¹⁸⁾²⁰⁾

본 연구에서는 세 가지 유전자다형성을 함께 포함하여 CAD 발생에 미치는 영향을 분석하기 위해 주요대립인자의 존재여부로 두 군으로 나누어 분석하였을 때 C-629A와 Taq1B 유전형과 CAD 발생간에는 유의적인 관련성이 없는 것으로 나타났다. 각각의 유전자다형성을 wild type을 기준으로 heterozygote, homozygote로 분류하여 다른 위험인자를 보정하여 univariate로지스틱분석을 실시하였을 때도 동일한 결과를 나타냈다(결과는 표로 제시하지 않았음). 초기 미국계 일본인과 Danish를 대상으로 한 연구에서는 CETP activity감소와 관련된 442G와 405V 유전자 다형성이 높은 HDL콜레스테롤 농도에도 불구하고 허혈성 심장질환의 발생위험을 증가시키는 것으로 보고하였다.²⁰⁾ 그러나 Bruce 등²²⁾은 중성지방농도가 165 mg/dL 이상인 경우 405VV는 CHD 유병률의 증가와 관련이 있고 중성지방농도가 정상일 때는 405VV는 CHD 유병률을 낮추는 것으로 보고하였으며, Blankenberg 등⁹⁾은 -629AA와 405VV에 비해 -629CC와 405II유전형을 갖는 경우 평균 4.1년 후의 생존율이 낮고 심장질환의 발생이 높음을 보고하였다.

본 연구에서는 405II 유전형에 비해 V대립인자를 갖는 경우 HDL 콜레스테롤 농도의 차이는 유의적이지 않았지만 다른 위험인자를 보정했을 때 CAD의 발생위험을 낮추는 것으로 분석되었다.

CETP 유전자 다형성과 CAD 발생과의 관련성은 혈액에서의 콜레스테롤 이동의 역동성과 HDL콜레스테롤 농도 이외의 다른 lipoprotein profile의 변화와 밀접한 관련성이 있을 것으로 제시되었다. 최근 CAD발생 위험을 증가시키는 것으로 알려진 small dense LDL의 증가와 CETP 유전자다형성과의 연관성에 대한 연구가 보고되고 있다.²³⁾²⁴⁾ 특히 건강한 한국 성인 남성을 대상으로 한 조 등²⁵⁾의 연구에서는 CETP 유전자의 세 가지 유전

자 다형성 중 I405V 유전자 다형성이 small dense LDL 인 LDL III의 농도의 증가와 유의적인 관련성이 있는 것으로 보고하였다.

결론적으로 CETP C-629A, Taq1B 유전자 다형성 빈도는 인종에 따른 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으나 한국인에서 405V의 빈도는 유럽에 비해 높고 일본인에 비해서는 다소 낮았다.

Taq1B B2대립인자는 HDL 콜레스테롤 농도 증가에 유의한 영향을 미치며 405V인자는 HDL 콜레스테롤 농도외의 다른 혈청 지단백 농도와 관련하여 CAD발생위험을 낮추는 것으로 여겨진다. 앞으로 CETP 유전자 다형성과 LDL, HDL heterogeneity와의 관련성에 대한 연구 및 여성을 대상으로 한 연구를 통해 CETP 유전자 다형성과 CAD발생과의 관련성을 규명하기 위한 연구로 더욱 확대되어야 할 것으로 여겨진다.

요 약

배경 및 목적 :

본 연구에서는 HDL 콜레스테롤 역수송경로에 관여하는 CETP 유전자 다형성과 혈청 지질 농도 및 관상동맥질환 발생과의 관련성에 대해서 알아보려고 하였다.

방 법 :

216명의 정상 대조군과 95명의 관상동맥질환군을 대상으로 혈청지질농도를 측정하고 CETP의 C-629A, Taq1B, I405V 유전자 다형성을 SNP-IT방법으로 분석하였다.

결 과 :

정상 대조군에서 C-629A의 C : A 빈도는 0.51 : 0.49, Taq1B의 B1 : B2 빈도는 0.63 : 0.37로 CAD군과 유의적인 차이가 없었다. 대조군의 I405V의 II : IV : VV 빈도는 30% : 50% : 20%로 CAD군의 42% : 42% : 16%와 유의적인 차이가 없었으나 V빈도는 대조군 0.45로 CAD군의 0.39에 비해 높았다. CAD군의 협착 정도에 따른 CETP 유전자 다형성 빈도는 유의적인 차이가 없었다. CAD군에서 -629AA유전형의 HDL 콜레스테롤 농도는 43.0 ± 11.35 mg/dL로 CC유전형의 33.6 ± 5.2 mg/dL에 비해 유의적으로 높았다. 대조군과 CAD군에서 B2B2유전형의 HDL 콜레스테롤 농도는 다른 두 유전자형에 비해 높았으며, HDL 콜레스테롤 농도에 영향을 주는 연령, 비만, 중성지방, 인슐린저항성 등의 요인을

보정한 후에도 B2 대립인자는 HDL 콜레스테롤 농도에 유의한 영향을 미치는 요인으로 분석되었다. 세 가지 유전자 다형성 중 연령, 비만, 음주, 흡연 등의 다른 위험요인을 통제했을 때 405V 대립인자는 관상동맥질환의 발생위험을 0.4배 낮추는 것으로 나타났다.

결 론 :

CETP Taq1B B2 대립인자는 HDL 콜레스테롤농도와 관련이 있으나 관상동맥질환과의 관련성은 없었다. 405V대립인자는 HDL 콜레스테롤농도와는 관련성이 발견되지 않았으나 CAD발생과 유의한 관련성을 나타냈다.

중심 단어 : CETP ; Polymorphism ; HDL cholesterol ; 관상동맥질환.

본 연구는 2000보건의료기술 연구개발사업의 연구비(00-PJ3-PG6-GN01-0001)의 지원으로 이루어졌음.

REFERENCES

- 1) Ordovas JM. HDL genetics: candidate genes, genome wide scans and gene-environment interactions. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002;16:273-81.
- 2) Wilson PW, Anderson KM, Harris T, Kannel WB, Castelli WP. Determinants of change in total cholesterol and HDL-C with age. *J Gerontol* 1994;49:M252-7.
- 3) National Cholesterol Education Program. Executive summary of the third report of the National Cholesterol education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
- 4) Ymashita S, Sakai N, Hirano K, Arai T, Ishigami M, Maruyama T, Matsuzawa Y. Molecular genetics of plasma cholesteryl ester transfer protein. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:101-10.
- 5) Barter PJ, Rye KA. Cholesteryl ester transfer protein, high density lipoprotein and arterial disease. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:377-82.
- 6) Kakko S, Tamminen M, Paivansalo M, Kauma H, Rantala AO, Lilja M, Reunanen A, Kesaniemi YA, Savolainen MJ. Variation at the cholesteryl ester transfer protein gene in relation to plasma high density lipoproteins cholesterol levels and carotid intima media thickness. *Eur J Clin Invest* 2001;31:593-602.
- 7) Dachet C, Poirier O, Cambien F, Chapman J, Rouis M. New functional promoter polymorphism, CETP/-629, in cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene related to CETP mass and high density lipoprotein cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:507-15.
- 8) Tai ES, Ordovas JM, Corella D, Deurenberg-Yap M, Chan E, Adicomis X, Chew SK, Loh LM, Tan CE. The Taq1B and -629C>A polymorphism at the cholesteryl ester transfer protein locus: associations with lipid levels in a multiethnic population. *Clin Genet* 2003;63:19-30.
- 9) Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Jiang XC, Poirier O, Lackner KJ, Meyer J, Cambien F, Tiret L. Common genetic

- variation of the cholesteryl ester transfer protein gene strongly predicts future cardiovascular death in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1983-9.
- 10) Corella D, Saiz C, Guillen M, Portoles O, Mulet F, Gonzalez JI, Ordovas JM. Association of *Taq1B* polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene with plasma lipid levels in a healthy Spanish population. *Atherosclerosis* 2000;152:367-76.
 - 11) Cuchel M, Wolfe ML, de Lemos AS, Rader DJ. The frequency of the cholesteryl ester transfer protein-*Taq1B2* allele is lower in African-Americans than in Caucasians. *Atherosclerosis* 2002;163:169-74.
 - 12) Gudnason V, Kakkola S, Nicaud V, Savolainen MJ, Kesaniemi YA, Tahvanainen E, Humphries S. Cholesteryl ester transfer protein gene effect on CETP activity and plasma high-density lipoprotein in European populations. *Eur J Clin Invest* 1999;29:116-28.
 - 13) Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. *Circulation* 2000;101:1907-12.
 - 14) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
 - 15) Haffner SM, Kennedy E, Gonzalez C, Stern MP, Miettinen H. A prospective analysis of the HOMA model. *Diabetes Care* 1996;19:1138-41.
 - 16) Park KW, Choi JH, Kim HK, Oh S, Chae IH, Kim HS, Oh BH, Lee HM, Park YB, Choi YS. The association of cholesteryl ester transfer protein polymorphism with high-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease in Koreans. *Clin Genet* 2003;63:31-8.
 - 17) Goto A, Sasai K, Suzuki S, Fukutomi T, Ito S, Matsushita T, Okamoto M, Suzuki T, Itoh M, Okumura-Noji K, Yokoyama S. Cholesteryl ester transfer protein and atherosclerosis in Japanese subjects: a study based on coronary angiography. *Atherosclerosis* 2001;159:153-63.
 - 18) Freeman DJ, Samani NJ, Wilson V, McMahon AD, Braund PS, Cheng S, Caslake MJ, Packard CJ, Gaffney D. A polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene predicts cardiovascular events in non-smokers in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Eur Heart J* 2003;24:1833-42.
 - 19) Brousseau ME, O'Connor JJ Jr, Ordovas JM, Collins D, Otvos JD, Massov T, McNamara JR, Rubins HB, Robins SJ, Schaefer EJ. Cholesteryl ester transfer protein *TaqI B2B2* genotype is associated with higher HDL cholesterol levels and lower risk of coronary heart disease end points in men with HDL deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1148-54.
 - 20) Arca M, Montali A, Ombres D, Battiloro E, Campagna F, Ricci G, Verna R. Lack of association of the common *Taq1B* polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene with angiographically assessed coronary atherosclerosis. *Clin Genet* 2001;60:374-80.
 - 21) Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, Tall AR. Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels. *J Clin Invest* 1996;97:2917-23.
 - 22) Bruce C, Sharp DS, Tall AR. Relationship of HDL and coronary heart disease to a common amino acid polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein in men with and without hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 1998;39:1071-8.
 - 23) Talmud PJ, Edwards KL, Turner CM, Newman B, Palmieri JM, Humphries SE, Austin MA. Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size: use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter. *Circulation* 2000;101:2461-6.
 - 24) Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, Lahoz C, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ. Association of cholesteryl ester transfer protein-*Taq1B* polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1323-9.
 - 25) Cho HK, Jang Y, Cho EY, Park HY, Lee H, Lee JE. Effects of CETP gene polymorphisms on atherogenic lipoprotein phenotypes in Koreans. *Nutritional Sciences (English Version of Korea Journal of Nutrition)* 2003;6:100-5.