

제2형 당뇨병환자에서 Calpain-10 유전자의 다형성과 대사증후군과의 관계

연세대학교 의과대학 내과학교실¹, 연세대학교 의과대학 Brain Korea 21²,
연세대학교 의과대학 의학통계학과³, 인하대학교 의과대학 내과학교실⁴

강은석¹ · 김혜주² · 명성민³ · 이유미¹ · 안철우^{1,2} · 차봉수^{1,2} · 임승길^{1,2} · 김경래^{1,2} · 이현철^{1,2} · 남문석⁴

Association of Haplotype Combinations of Calpain-10 Gene Polymorphisms and the Metabolic Syndrome in Type 2 Diabetes

Eun Seok Kang¹, Hye Joo Kim², Sung Min Myoung³, Yumie Rhee¹, Chul Woo Ahn^{1, 2}, Bong Soo Cha^{1, 2},
Sung Kil Lim^{1, 2}, Kyung Rae Kim^{1, 2}, Hyun Chul Lee^{1, 2}, Moonsuk Nam⁴

*Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine¹, Seoul,
Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University²,
Department of Biostatistics, Yonsei University College of Medicine³,
Department of Internal Medicine, Inha University College of Medicine⁴, Incheon, Korea*

- Abstract -

Objective: Patients with metabolic syndrome are at increased risk of developing cardiovascular disease. The combinations of the haplotype created by the alleles of three single nucleotide polymorphisms (SNPs): SNP-43, SNP-19, and SNP-63 of the Calpain 10 gene (*CAPN10*), have been reported to be associated with the risk of type 2 diabetes (T2DM) in many populations. The aim of this study was to examine the association of the *CAPN10* polymorphisms with metabolic syndrome in Korean patients with T2DM.

Methods: Overall, 382 T2DM patients were enrolled in this study. All the subjects were genotyped according to *CAPN10* SNP-43, SNP-19 and SNP-63. The restriction fragment length polymorphism method was used for the three SNPs. The baseline presence of the components of metabolic syndrome was determined.

Results: 265 (69.4 %) patients were found to have metabolic syndrome. Patients with the 111/121 haplotype combination showed a higher risk of hypertension than the other haplotype combinations (OR=2.334, P=0.010) and also had a significantly higher risk of having metabolic syndrome (OR=1.927, P=0.042).

Conclusion: The results of this study suggest a role of the novel 111/121 haplotype combination created by the *CAPN10* SNPs -43, -19 and -63 in the susceptibility to metabolic syndrome of T2DM patients (**J Kor Diabetes Assoc 29:451-459, 2005**).

Key Words: Calpain-10, Polymorphism, Haplotype, Metabolic Syndrome

서 론

우리나라에서 빠른 경제성장은 생활습관의 서구화를 초

래하였고 에너지 섭취의 증가와 더불어 운동량의 감소는 대사증후군의 유병률을 높이는데 큰 역할을 하였다. 대사증후군의 근본은 인슐린저항성으로 생각되며 고혈당, 고혈압, 이

접수일자: 2005년 5월 4일, 통과일자: 2005년 9월 3일, 책임저자: 남문석, 인하대학교 의과대학 내과학교실

* 본 연구는 2003년도 당뇨병학회 바이엘 연구비 및 2005년도 연세대학교 의과대학 교수연구비(6-2005-0102)에 의해 이루어졌음.

상지혈증, 비만 등을 구성요소로 하는 집합체이다. 대사증후군의 조기진단은 대사증후군이 심혈관질환의 발생에 관련이 있으며 적절한 치료에 의해 치료될 수 있다는 점에서 매우 중요하다¹⁾. 비록 영양과잉과 운동부족 등의 환경적인 요소도 대사증후군의 발병에 중요하지만 유전적인 요소도 중요한 역할을 할 것으로 사료되고 있다. Calpain-10 유전자(CAPN10)는 제2형 당뇨병과 관련되어 있다고²⁾ 알려진 유전자들 중의 하나로 체내에서 칼슘에 의해 활성화되는 세포내 protease의 일종인 Calpain을 encoding한다. 많은 민족에서 Calpain-10 유전자의 단일염기다형성 43, 19, 63번의 조합 중 111/121이 제2형 당뇨병의 위험의 증가와 관련있다고 보고되었다³⁻⁵⁾. 또한, 대사증후군의 유병률은 당뇨병환자에서 일반인보다 훨씬 높다고 보고되고 있다⁶⁻⁹⁾. 현재 Calpain-10 유전자와 제2형 당뇨병과의 관계에 대한 연구는 많이 진행되었으나 대사증후군과의 관계를 본 논문은 없어서 본 저자들은 제2형 당뇨병환자에서 Calpain-10 유전자의 단일염기 다형성으로 이루어진 일배체형(haplotype)조합과 대사증후군의 발생의 유전적 관련을 보았다.

대상 및 방법

연세대학교 의과대학교 세브란스병원, 영동 세브란스병원, 인하대학교병원 당뇨병센터에 내원한 제2형 당뇨병환자 382명(남자 191명, 여자 191명)을 대상으로 하였다. 당뇨병은 세계보건기구의 정의¹⁰⁾에 의하여 진단하였으며 본 연구는 연세대학교 의과대학 윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였고 참여 환자들의 사전 동의를 구한 후 시행하였다.

1. 대상자료수집

대상 환자들의 병력을 기록하고 키, 몸무게 및 혈압을 측정하였다. 모든 환자들은 채혈 전날 자정부터 금식한 후 최소 8시간 후에 채혈을 실시하였다. 공복 및 식후 2시간 혈장 포도당농도는 glucose oxidase 방법(747 automatic analyzer, HITACHI, Tokyo, Japan)을 이용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 중성지방은 효소비색법을 이용한 자동분석기(Au5200, OLYMPUS, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedewald 공식에 의하여 계산하였다¹¹⁾. 공복인슐린은 방사면역측정법(IRMA kit, DAINABOT, Tokyo, Japan)을 이용하였고 HbA1c는 high performance liquid chromatography방법(Variant II, GREENCROSS, Korea)을 이용하여 측정하였다. 인슐린저항성의 지표로는 HOMA-IR(homeostasis model assessment index for insulin resistance)을 이용하여 공복 혈장 포도당(mmol/L)×공복 혈장 인슐린(μU/mL)/22.5의 식으로 구하였다¹²⁾.

2. 대사증후군의 정의

National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel (NCEP-ATP) III 기준과 WHO Western Pacific Region Obesity criteria¹³⁻¹⁵⁾에 따라서 다음의 항목 중 2가지 이상을 가지는 환자들을 대사증후군 환자로 정의하였다. 1) 비만: 아시아인 기준에 맞춘 body mass index (BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ ¹⁴⁾; 2) 고중성지방혈증 $\geq 150 \text{ mg/dL}$ (1.693 mmol/L); 3) 저고밀도지단백콜레스테롤혈증, 남성 $< 40 \text{ mg/dL}$ (1.034 mmol/L), 여성 $< 50 \text{ mg/dL}$ (1.293 mmol/L); 4) 고혈압: $\geq 130/85 \text{ mmHg}$ 또는 고혈압약제를 복용 중인 환자. 제1형 당뇨병환자와 인슐린 치료를 받는 환자, 케톤산혈증의 과거력이 있는 환자, 지질저하제를 복용 중인 환자 그리고 악성질환이 동반된 환자는 본 연구에서 제외하였다.

3. 유전자분석

전혈 5 mL을 EDTA 튜브에 채취하여 QIAamp DNA blood mini kit(QIAGEN, Valencia, CA)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. 건조시킨 genomic DNA를 멸균된 증류수에 녹여 -20°C에 보관하였다. 모든 환자들에서 Calpain-10 유전자형을 이전에 보고된 방법으로 분석하였다^{16,17)}. 각각의 PCR 반응 산물을 3% agarose gel에서 분리하였다.

SNP-43, CAPN10-g.4852G>A (rs3792267): 정방향시발체 5'-CACGCTTGCTGTGAAGTAATGC-3'와 역방향시발체 5'-CTCTGTTCCCATGGTCTGTAG-3'를 이용하여 중합효소연쇄반응을 진행하였다. 144bp의 중합효소연쇄 반응산물을 *Nsi* I (Promega, Madison, WI) 제한효소와 반응을 시켰다(Fig. 1).

SNP-19, CAPN10-g.7920 (32bp-repeats) (rs3842570): 정방향시발체 5'-GTITGGTTCCTC AGCGTGGAG-3'와 역방향시발체 5'-CATGAACCCTGGCAGGGTCTAAG-3'를

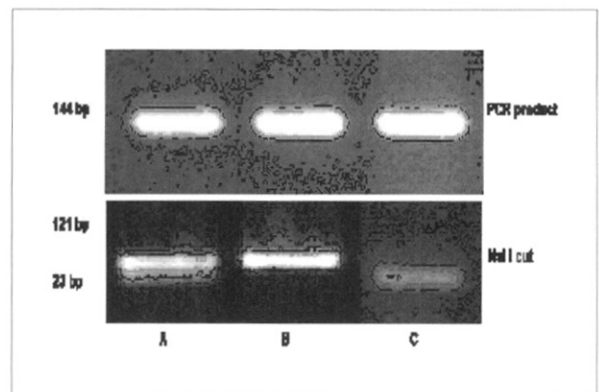


Fig. 1. SNP-43 genotyping by PCR and RFLP. A: Heterozygote (GA), B: Wild type (GG), C: Mutant type (AA).

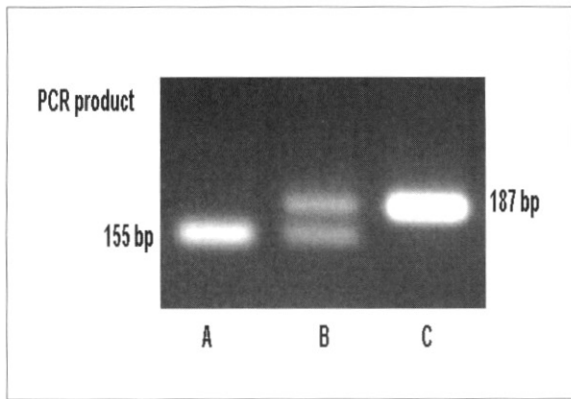


Fig. 2. SNP-19 genotyping by PCR. A: Allele 1 (2 repeat of 32 bp, 155 bp), B: Allele 3 (2 repeat and 3 repeat of 32 bp, 155 bp and 187 bp), C: Allele 2 (3 repeat of 32 bp, 187 bp).

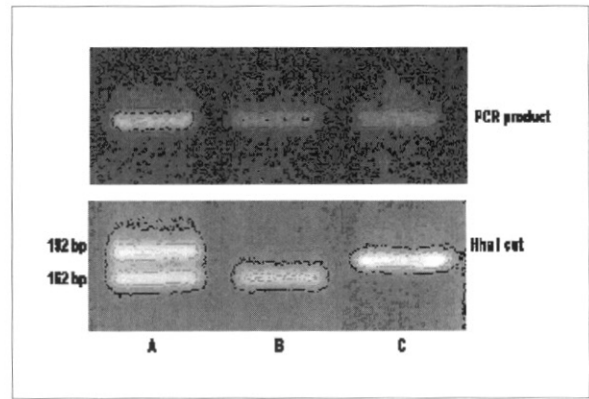


Fig. 3. SNP-63 genotyping by PCR and RFLP. A: Heterozygote (CT, 192 and 162 bp), B: Mutant type (TT, 162 bp), C: Wild type (CC, 192 bp).

Table 1. Clinical Characteristics of the study groups

	Patients with MS	Patients without MS	P
N (male/female)	265 (122/143)	117 (69/48)	
Age (years)	53.1 ± 10.9	53.8 ± 10.9	0.562
Height (m)	1.62 ± 0.09	1.64 ± 0.09	0.119
Weight (kg)	67.2 ± 12.1	60.2 ± 10.1	<0.001
BMI (kg/m ²)	25.5 ± 3.5	22.3 ± 2.5	<0.001
Systolic blood pressure (mmHg)	137.6 ± 17.8	126.6 ± 19.9	<0.001
Diastolic blood pressure (mmHg)	84.1 ± 9.8	77.7 ± 11.0	<0.001
Fasting plasma glucose (mmol/L)	8.33 ± 2.44	8.12 ± 2.51	0.443
HbA1c (%)	8.24 ± 1.66	8.79 ± 3.58	0.292
Total cholesterol (mmol/L)	5.25 ± 1.07	4.91 ± 0.96	0.003
Triglyceride (mmol/L)	2.95 ± 1.47	1.67 ± 0.72	<0.001*
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.10 ± 0.36	1.27 ± 0.29	<0.001*
LDL-cholesterol (mg/dL)	123.5 ± 37.0	118.7 ± 34.4	0.221*
(mmol/L)	3.19 ± 0.96	3.07 ± 0.89	
Insulin (pmol/L)	91.6 ± 89.3	82.4 ± 137.2	0.547
HOMA-IR	4.44 ± 5.23	3.69 ± 6.16	0.293*

MS, metabolic syndrome; BMI, Body mass index; HOMA-IR, Homeostasis model of insulin resistance. P value by Student's unpaired t test. *P values are calculated from log-transformed data.

이용하여 중합효소 연쇄반응을 진행하였다(Fig. 2).

SNP-63, CAPN10-g.1637C>T (rs5030952):

5'-AGCACTCCCAGCTCCTGATC-3'의 정방향시발체와 5'-AAGGGGGGCCAGGGCCTGACGGGGGTGGCG-3'의 역방향시발체를 사용하여 중합효소 연쇄반응을 진행하고 Hha I (Takara Bio, Shiga, Japan) 제한효소와 반응시켰다(Fig. 3).

통계분석

임상지표 및 검사결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 모든 통계분석은 SPSS for Windows 프로그램 (version 12.0; SPSS, Chicago, IL)을 이용하여 시행하였다. 통계적 유의 수준은 P값을 0.05 미만으로 하였다. 43, 19, 63번 위치의 유전자형으로 이루어진 일배체형의 조합은 Haplotyper program (<http://www.people.fas.harvard.edu/~junliu/Haplo>)^(18,19)을 이용하여 maximum likelihood estimation 방법

Table 2. Genotype and haplotype Frequencies of *CAPN10* UCSNP-43, -19 and -63

		N (%)			
		Total	Patients with MS	Patients without MS	P
SNP 43	GG	325 (85.1)	229 (86.4)	96 (82.1)	0.372
	GA	49 (12.8)	32 (12.1)	17 (14.5)	
	AA	8 (2.1)	4 (1.5)	6 (3.4)	
SNP 19	2R/2R	43 (11.3)	30 (11.3)	13 (11.1)	0.758
	2R/3R	183 (47.9)	130 (49.1)	53 (45.3)	
	3R/3R	156 (40.8)	105 (39.6)	51 (43.6)	
SNP 63	CC	200 (52.4)	140 (52.8)	60 (51.3)	0.804
	CT	132 (34.6)	89 (33.6)	43 (36.8)	
	TT	50 (13.0)	36 (13.6)	14 (11.9)	
Haplotype	111	106 (13.9)	78 (14.7)	28 (12.0)	0.596
	112	163 (21.3)	112 (21.1)	51 (21.8)	
	121	361 (47.3)	251 (47.4)	110 (47.0)	
	122	69 (9.0)	49 (9.2)	20 (8.5)	
	221	65 (8.5)	40 (7.6)	25 (10.7)	

MS, metabolic syndrome. Alleles were designed as described by Horikawa et al²¹. SNP 43 1=G, 2=A; SNP 19 1=2R (2 repeat), 2=3R (3 repeat); SNP 63 1=C, 2=T. 211, 212 and 222 haplotype was not observed. P values are obtained by Chi-square test.

으로 추정하였다. 유전자형, 일배체형, 일배체형조합의 분포의 차이는 χ^2 test와 ANOVA test를 이용하여 분석하였다. HOMA, HDL-콜레스테롤, 공복인슐린농도, 혈장 중성지방 농도는 정규분포에 따르지 않으므로 로그값으로 치환한 후 통계분석을 시행하였다. 유전자형에 따른 대사증후군의 위험도는 나이 및 성별을 보정한 logistic regression analysis를 시행하여 odd ratios (ORs)와 95% confidence intervals (CIs)을 구하였다. 본 연구의 일배체형 통계 처리는 컴퓨터 프로그램 (<http://www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps>)을 이용하여 α 값을 0.05로 하고 구하였다.

결 과

대상 환자의 임상적 특징은 Table 1에 나타내었다. 대상 환자의 평균 당뇨병 유병기간은 7.5 ± 6.7 년이었다. 총 382명의 환자 중에서 69.4%인 265명의 환자에서 대사증후군이 진단되었다. 대사증후군이 있는 군과 없는 군 간에 나이, 키 HbA1c, HOMA-IR에는 유의한 차이가 없었다. *CAPN10* SNP의 유전자형과 일배체형의 분포는 Table 2에 나타내었다. 유전자형과 일배체형의 분포는 대사증후군이 있는 군과 없는 군간에 유의한 차이는 없었다. 본 연구에서는 일배체형 121이 가장 흔히 관찰되었다. 211, 212, 222 일배체형은 관찰되지 않았다. 예측한 일배체형 유전과 조합의 분포와 빈도는 Table 3에 나타내었다. 14개의 일배체형

조합이 관찰되었다. 일배체형 조합분석에 의하면 111/121 일배체형 조합을 갖는 환자들에서 다른 일배체형 조합을 갖는 환자들에 비해 유의하게 높은 대사증후군의 유병률을 보였다(OR = 1.927, 95% CI = 1.024-3.626, $P = 0.042$) (Table 3). 다른 일배체형 조합은 대사증후군의 위험도와 유의한 관계가 없었다. 111/121 일배체형 조합을 갖는 환자에서 고혈압의 위험도도 높았다(OR = 2.334, 95% CI = 1.223~4.456, $P = 0.010$) (Table 4). 122/221 일배체형 조합을 갖는 환자들에게서는 고혈압의 위험이 유의하게 낮았고(OR = 0.152, 95% CI = 0.030-0.763, $P = 0.022$) (Table 4) 221/221 일배체형 조합을 갖는 환자들에게서는 저 HDL-cholesterol혈증의 위험이 높았다(OR=8.400, 95% CI = 1.023~68.95, $P = 0.048$) (Table 5). 비만과 고중성지방혈증과 관련된 일배체형 조합은 관찰되지 않았다(Table 4 & Table 5).

고 찰

일반인에 있어서 NCEP-III 또는 WHO 기준^{8-11,20,25})으로 진단한 대사증후군의 유병률은 20-30%로 보고되고 있지만 당뇨병환자들에 있어서는 70-80%로 보고되고 있다. 본 연구에서도 당뇨병환자에게서 대사증후군의 유병률은 69.4%였다. 대상이 당뇨병환자였기 때문에 대사증후군의 기준을 고혈압, 고중성지방혈증, 저고밀도 지단백콜레스테롤, 비만 중 2개 이상을 갖는 환자로 정의하였다. 대사증후군은 당뇨

Table 3. Relative Risk of the Metabolic Syndrome According to the Haplotype Combinations of *CAPN10*

Haplotype combination	Number			OR (95% CI)	P
	Total	Patients with MS	Patients without MS		
111/111	7	3	4	0.323 (0.071-1.469)	0.144
111/112	13	10	3	1.490 (0.403-5.517)	0.550
111/121	69	55	14	1.927 (1.024-3.626)	0.042
111/221	10	7	3	1.031 (0.262-4.059)	0.965
112/112	23	17	6	1.268 (0.487-3.303)	0.627
112/121	71	48	23	0.904 (0.520-1.571)	0.904
112/122	20	12	8	0.646 (0.257-1.625)	0.354
112/221	13	8	5	0.698 (0.223-2.178)	0.535
121/121	88	58	30	0.813 (0.489-1.349)	0.422
121/122	27	19	8	1.052 (0.447-2.478)	0.907
121/221	18	13	5	1.156 (0.402-3.319)	0.788
122/122	7	7	0	NA*	
122/221	8	4	4	0.433 (0.106-1.762)	0.242
221/221	8	4	4	0.433 (0.106-1.762)	0.242
Total	382	265	117		

MS, metabolic syndrome. The *P* value and OR of each haplotype combination relative to the other haplotype combinations as a group are shown. *NA; not applicable

Table 4. Relative Risk of Hypertension and Obesity According to the Haplotype Combinations of *CAPN10*

Haplotype combination	Number			OR (95% CI)	P	Number		OR (95% CI)	P
	Total	Patients with HIBP	Patients without HIBP			Obese Patients	Non-obese Patients		
111/111	7	4	3	0.627 (0.138-2.848)	0.546	1	6	0.259 (0.031-2.169)	0.213
111/112	13	7	6	0.542 (0.178-1.647)	0.280	5	8	0.988 (0.317-3.079)	0.983
111/121	69	56	13	2.334 (1.223-4.456)	0.010	28	41	1.098 (0.645-1.869)	0.729
111/221	10	8	2	1.928 (0.403-9.219)	0.411	4	6	1.056 (0.293-3.805)	0.934
112/112	23	13	10	0.597 (0.254-1.403)	0.237	6	17	0.539 (0.208-1.401)	0.205
112/121	71	42	29	0.627 (0.369-1.067)	0.086	32	39	1.379 (0.819-2.322)	0.226
112/122	20	13	7	0.876 (0.340-2.253)	0.783	9	11	1.313 (0.530-3.248)	0.556
112/221	13	7	6	0.542 (0.178-1.647)	0.280	4	9	0.694 (0.210-2.297)	0.550
121/121	88	63	25	1.260 (0.747-2.126)	0.386	32	56	0.877 (0.535-1.436)	0.602
121/122	27	21	6	1.721 (0.676-4.378)	0.255	7	20	0.531 (0.219-1.289)	0.162
121/221	18	14	4	1.156 (0.402-3.319)	0.358	7	11	1.006 (0.381-2.657)	0.990
122/122	7	6	1	2.893 (0.3452-4.298)	0.328	5	2	4.056 (0.7772-1.183)	0.097
122/221	8	2	6	0.152 (0.030-0.763)	0.022	3	5	0.948 (0.223-4.025)	0.942
221/221	8	3	5	0.277 (0.065-1.177)	0.082	5	3	2.692 (0.6341-1.437)	0.180

P value and OR (odd ratio) of each haplotype combination relative to the other haplotype combinations as a group are shown. HIBP, systolic blood pressure ≥ 130 mmHg and/or diastolic blood pressure ≥ 85 mmHg or taking anti-hypertensive medication. Obese Patients, patients with BMI ≥ 25 kg/m²; Non-obese Patients, patients with BMI < 25 kg/m²

Table 5. Relative Risk of low HDL Cholesterol and hypertriglyceridemia According to the Haplotype Combinations of *CAPN10*

Haplotype combination	Number			OR (95% CI)	P	Number			OR (95% CI)	P
	Total	Patients with low HDL-C	Patients with normal HDL-C			Patients with HyperTG	Patients without HyperTG			
111/111	7	3	4	1.154 (0.255-5.228)	0.852	1	6	0.181 (0.022-1.514)	0.181	
111/112	13	5	8	1.397 (0.449-4.350)	0.564	7	6	1.307 (0.431-3.965)	0.636	
111/121	69	32	37	0.998 (0.592-1.683)	0.994	40	29	1.683 (0.993-2.851)	0.053	
111/221	10	3	7	2.051 (0.522-8.051)	0.303	6	4	1.689 (0.469-6.082)	0.423	
112/112	23	10	13	1.131 (0.483-2.646)	0.777	11	12	1.019 (0.438-2.370)	0.965	
112/121	71	26	45	1.633 (0.960-2.779)	0.070	36	35	1.178 (0.703-1.972)	0.535	
112/122	20	11	9	0.693 (0.280-1.713)	0.427	10	10	1.117 (0.454-2.749)	0.810	
112/221	13	8	5	0.528 (0.170-1.645)	0.271	6	7	0.950 (0.313-2.882)	0.928	
121/121	88	43	45	0.876 (0.544-1.412)	0.588	35	53	0.669 (0.412-1.086)	0.104	
121/122	27	14	13	0.788 (0.360-1.725)	0.552	11	16	0.748 (0.338-1.657)	0.475	
121/221	18	9	9	0.857 (0.333-2.209)	0.750	8	10	0.883 (0.341-2.289)	0.798	
122/122	7	3	4	1.154 (0.255-5.228)	0.852	5	2	2.827 (0.542-14.75)	0.218	
122/221	8	3	5	1.450 (0.342-6.155)	0.614	2	6	0.363 (0.072-1.822)	0.218	
221/221	8	7	1	8.400 (1.023-68.95)	0.048	3	5	0.661 (0.156-2.804)	0.574	

P value and OR (odd ratio) of each haplotype combination relative to the other haplotype combinations as a group are shown. HDL-C; HDL cholesterol, low HDL-C; HDL cholesterol < 40 mg/dL (1.034 mmol/L) in men and < 50 mg/dL (1.293 mmol/L) in women, normal HDL-C; HDL cholesterol ≥ 40 mg/dL (1.034 mmol/L) in men and ≥ 50 mg/dL (1.293 mmol/L) in women, HyperTG, Hypertriglyceridemia; triglyceride ≥ 150 mg/dL (1.693 mmol/L), normal TG; triglyceride < 150 mg/dL.

병과 심혈관질환 발생의 위험을 증가시키지만 치료될 수 있다는 점에서 중요하다^{1, 21-24}. 비록 최근의 Resnick 등²⁵은 대사증후군과 심혈관질환의 위험과는 관계가 없다고 보고하였지만 대부분의 연구에서는 대사증후군환자에서 심혈관질환의 위험이 본 증후군이 없는 환자보다 2배 더 잘 발생한다고 보고되고 있다^{1, 8, 20, 21}. 또한 여러 연구들에 의하면 제2형 당뇨병환자에서 혈당조절보다도 대사증후군의 존재가 더 중요한 심혈관질환 위험인자라고 보고되었다²¹⁻²⁶. 본 연구에서는 인슐린저항성의 정도를 알아보기 위해 HOMA-IR을 사용하였으나 대사증후군의 유무에 따라서 HOMA-IR에는 유의한 차이가 없었다. 이 결과는 아마도 본 저자들이 이전에 보고하였듯이 우리나라의 많은 당뇨병환자들이 비만하지 않고 인슐린분비가 저하되어 있어서 인슐린저항성을 평가하기 위해 HOMA-IR을 이용하는 데는 한계가 있는 것으로 사료된다²⁷. 알려진 바와 같이 제2형 당뇨병환자에서 정확한 인슐린저항성을 평가하기 위해서는 hyperinsulinemic-euglycemic clamp test를 시행하여야 정확한 인슐린저항성 정도를 측정할 수 있을 것²⁷ 다수의 환자에서 선별 목적의 검사에는 HOMA-IR이 그 편리함 때문에 널리 사용되고 있다.

대사증후군은 단순히 여러 심혈관질환의 위험인자들의 조합이 아니며 각각의 구성요소들은 서로 동반되어 있는 경우가 많다. 대사증후군의 분자생물학적 기전은 아직 밝혀지지 않았지만 환경적인 인자뿐 아니라 유전적 인자도 대사증후군의 발병에 중요하리라 사료된다. *CAPN10* 유전자는 2번 염색체 장완의 27에 위치하고 alternative splicing기전에 의하여 적어도 8개의 다른 variant를 encoding한다. *CAPN10* 유전자는 약 31 Kbp크기로 15개의 exon으로 구성되어 있다. Calpain 10은 심장, 췌장, 뇌, 간, 골격근 및 신장 같은 많은 조직에서 발현이 되며² 다수의 세포기능에 필수적인 역할을 할 것으로 사료되고 있다. *CAPN10* 유전자의 특정 단일염기 다형성이 어떻게 당뇨병의 감수성을 증가시키는지 정확한 분자학적 기전은 알지 못하나 이 단일염기 다형성이 지방세포에서의 인슐린저항성²⁸과 췌장에서의 인슐린분비²⁹⁻³¹에 어떠한 역할을 할 것으로 사료된다. 비록 약간의 논란이 있지만³²⁻³⁴ 많은 수의 연구에서 *CAPN10* 유전자의 다형성과 제2형 당뇨병과 관계가 있음을 보고하였다^{2, 4, 35}. 본 연구에서는 당뇨병과 관련이 있다고 알려진 *CAPN10* 유전자의 3 SNP를 연구하였다. 다른 연구와 마찬가지로 121 일배체형이 가장 흔한 일배체형이었고^{2, 4, 35}, Horikawa 등²이

멕시코계 미국인을 대상으로 한 연구에서 제2형 당뇨병과 관계가 있다고 보고한 112/121 일배체형 조합은 대사증후군의 위험과는 관계가 없는 것으로 나타났다. 또한 비만과 고중성지방혈증과는 어떠한 일배체형 조합과도 관계가 없었다. 대부분의 연구에서 비만과 CAPN10 유전자의 다형성과의 연관성을 보여주지 못하였다^{1,30,34,36}. 본 연구에서는 한국인 당뇨병환자에서 111/121 일배체형 조합을 갖는 환자들에서 다른 일배체형 조합을 갖는 환자들에 비해 유의하게 높은 대사증후군의 유병률을 보이며 (OR=1.927, P=0.042, Power= 71.63%) 또한 고혈압의 위험도도 높았다 (OR= 2.334, P= 0.010, power=86.65%).

본 연구의 제한점으로는 당뇨병이 없는 대조군과 당뇨병이 없는 대사증후군 환자에 대한 연구가 이루어지지 못하였다는 점으로 이러한 대상에서도 연구가 이루어져야 보다 정확한 결론을 이끌어낼 수 있을 것으로 사료된다. 환자의 대상이 3차 병원에 내원한 환자들이므로 전체 환자를 대변하지 못할 가능성도 있다. 또한 연구 대상에서 지질저하제를 복용 중인 환자는 제외하여서 많은 수의 잠재적인 대사증후군 환자를 배제하였을 가능성도 있다. 본 연구에서는 비만의 기준으로 허리둘레 대신 BMI 25 kg/m² 이상으로 정의하였다. NCEP ATP III 정의에 의한 허리둘레에 의한 비만 기준은 아시아인에 적용하는 것은 부적절하며³⁷⁻³⁹ 본 연구진은 BMI가 재현성 및 정밀도 면에서 허리-엉덩이 둘레비보다 낮다고 판단하였으며 BMI가 허리둘레와 비례하는 결과를 보여준 다른 연구^{15,25}들을 근거로 비만의 기준으로 BMI를 사용하였다.

결론적으로 본 연구에서는 당뇨병환자에서 대사증후군은 높은 유병률을 보이고 CAPN10 유전자의 111/121 일배체형 조합을 갖는 제2형 당뇨병환자에서 대사증후군이 동반될 가능성이 다른 일배체형 조합을 갖는 환자들에 비해서 높음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 대한당뇨병학회 연구비(바이엘 연구비) 및 연세대학교 의과대학 2005년도 교수연구비에 의해 이루어진 것임 (과제번호: 6-2005-0102).

요 약

연구배경: 대사증후군 환자들은 심혈관계질환의 위험이 높다. Calpain 10 유전자(CAPN10)의 43번, 19번, 63번의 단일염기 다형성으로 이루어진 일배체형 조합은 많은 민족에서 제2형 당뇨병과 연관이 있다고 알려져 있다. 본 연구에서는 한국인 제2형 당뇨병환자에 있어서 Calpain 10 유전자의 다형성과 대사증후군과의 관계를 보고자 하였다.

방법: 총 382명의 제2형 당뇨병환자를 대상으로 하여 Calpain 10 유전자의 SNP-43, SNP-19, SNP-63부위에 대한 유전자 분석을 제한효소절편길이다형성방법으로 시행하였고 환자들의 임상지표를 측정하여 대사증후군을 진단하였다.

결과: 총 382명 중 69.4%에 해당하는 265명에서 대사증후군이 동반되어 있었으며 111/121 일배체형 조합을 갖는 환자들에 있어서 고혈압의 빈도가 유의하게 높았고 (OR= 2.334, P=0.010) 또한 대사증후군의 빈도가 유의하게 높았다 (OR=1.927, P=0.042).

결론: 본 연구의 결과는 제2형 당뇨병환자에 있어서 Calpain 10 유전자의 SNP-43, SNP-19, SNP-63로 일배체형 조합을 이루어 보았을 때 111/121 일배체형 조합을 갖는 환자들에게서 대사증후군과의 관련이 높음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen M-R, Groop L: *Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. Diabetes Care* 24:683-9, 2001
2. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI: *Genetic variation in the Calpain 10 gene (CAPN10) is associated with type 2 diabetes mellitus. Nat Genet* 26:163-75, 2000
3. Lynn S, Evans JC, White C, Frayling TM, Hattersley AT, Turnbull DM, Horikawa Y, Cox NJ, Bell GI, Walker M: *Variation in the Calpain-10 gene affects blood glucose levels in the British population. Diabetes* 51:247-50, 2002
4. Cassell PG, Jackson AE, North BV, Evans JC, Sindercombe-Court D, Phillips C, Ramachandran A, Snehalatha C, Gelding SV, Vijayaravaghan S, Curtis D, Hitman GA: *Haplotype combinations of Calpain 10 gene polymorphisms associate with increased risk of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in South Indians. Diabetes* 51:1622-8, 2002
5. Elbein SC, Chu W, Ren Q, Hemphill C, Schay J, Cox NJ, Hanis CL, Hasstedt SJ: *Role of Calpain-10 gene variants in familial type 2 diabetes in Caucasians. J Clin Endocrinol Metab* 87:650-4, 2002

6. Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM: *NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and the prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. Diabetes Care 52:1210-4, 2003*
7. Meigs JB, Wilson PWF, Nathan DM, D'Agostino RB, Williams K, Haffner SM: *Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in the San Antonio Heart and Framingham Offspring studies. Diabetes 52:2160-7, 2003*
8. Ford ES, Giles WH: *A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. Diabetes Care 26:575-81, 2003*
9. Hanley AJG, Wagenknecht LE, D'Agostino RB, Zinman B, Haffner SM: *Identification of subjects with insulin resistance and β -cell dysfunction using alternative definitions of the metabolic syndrome. Diabetes 52:2740-7, 2003*
10. Report of a WHO Consultation: *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Geneva, 1999*
11. 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 18:499-502, 1972*
12. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 28:412-9, 1985*
13. Alberti KG, Zimmer PZ: *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: part 1, diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 15:539-53, 1998*
14. World Health Organization, the International Association for the Study of Obesity, the International Obesity Task Force: *The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. International Diabetes Institute, Health Communications Australia Pty Ltd, 2000*
15. Deedwania PC, Hunninghake DB, Bays HE, Jones PH, Cain VA, Blasetto JW; *STELLAR Study Group: Effects of rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin, and pravastatin on atherogenic dyslipidemia in patients with characteristics of the metabolic syndrome. Am J Cardiol 95(3):360-6, 2005*
16. Evans JC, Frayling TM, Cassell PG, Saker PJ, Hitman GA, Walker M, Levy JC, O'Rahilly S, Rao PV, Bennett AJ, Jones EC, Menzel S, Prestwich P, Simecek N, Wishart M, Dhillon R, Fletcher C, Millward A, Demaine A, Wilkin T, Horikawa Y, Cox NJ, Bell GI, Ellard S, McCarthy MI, Hattersley AT: *Studies of association between the gene for Calpain-10 and type 2 diabetes mellitus in the United Kingdom. Am J Hum Genet 69:544-52, 2001*
17. Horikawa Y, Oda N, Yu L, Imamura S, Fujiwara K, Makino M, Seino Y, Itoh M, Takeda J: *Genetic variations in Calpain-10 gene are not a major factor in the occurrence of type 2 diabetes in Japanese. J Clin Endocrinol Metab 88:244-7, 2003*
18. Kang ES, Park SY, Kim HJ, Ahn CW, Nam M, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC: *The Influence of Adiponectin Gene Polymorphism on the Rosiglitazone Response in Patients with Type 2 Diabetes. Diabetes Care 28:1139-44, 2005*
19. Niu T, Qin ZS, Xu X, Liu JS: *Bayesian Haplotype Inference for Multiple Linked Single-Nucleotide Polymorphisms. Am J Hum Genet 70:157-69, 2002*
20. McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ, Golden SH, Schmidt MI, East HE, Ballantyne CM, Heiss G: *The metabolic syndrome and 11-year risk of incident cardiovascular disease in the atherosclerosis risk in communities study. Diabetes Care 28:385-90, 2005*
21. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT: *The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. JAMA 288:2709-16, 2002*
22. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, Kitzmiller J, Knowler WC, Lebovitz H, Lernmark A, Nathan D, Palmer J, Rizza R, Saudek C, Shaw J, Steffes M, Stern M, Tuomilehto J, Zimmet P, the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: *Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care 26:3160-7, 2003*
23. Rasmussen SK, Urhammer SA, Berglund L, Jensen JN, Hansen L, Echwald SM, Borch-Johnsen K, Horikawa Y, Mashima H, Lithell H, Cox NJ, Hansen T, Bell GI, Pedersen O: *Variants within the Calpain-10 gene on chromosome 2q37 (NIDDM1) and rel-*

- ationships to type 2 diabetes, insulin resistance, and impaired acute insulin secretion among Scandinavian Caucasians. *Diabetes* 51:3561-7, 2002
24. Patel YM, Lane MD: Role of Calpain in adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1279-84, 1999
 25. Resnick HE, Jones K, Ruotolo G, Jain AK, Henderson J, Lu W, Howard BV; Strong Heart Study: Insulin resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease in nondiabetic American indians: the Strong Heart Study. *Diabetes Care* 26:861-7, 2003
 26. Roberts AW, Evans M: The metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Curr Opin Lipidol* 15:89-91, 2004
 27. Kang ES, Yun YS, Park SW, Kim HJ, Ahn CW, Song YD, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC: Limitation of Validity of the Homeostasis Model Assessment as an Index of Insulin Resistance in Korea. *Metabolism* 54:206-11, 2005
 28. Paul DS, Harmon AW, Winston CP, Patel YM: Calpain facilitates GLUT4 vesicle translocation during insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Biochem J* 15:625-32, 2003
 29. Zhou Y-P, Sreenan S, Pan C-Y, Currie KPM, Bindokas VP, Horikawa Y, Lee J-P, Osrega D, Ahmed N, Baldwin AC, Cox NJ, Fox AP, Miller RJ, Bell GI, Polonsky KS: A 48-hour exposure of pancreatic islets to Calpain inhibitors impairs mitochondrial fuel metabolism and the exocytosis of insulin. *Metabolism* 52:528-34, 2003
 30. Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Weisser M, Machicao F, Haring H: Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in the CAPN10 gene for proinsulin processing and insulin secretion in nondiabetic Germans. *Diabetes* 50:2161-3, 2001
 31. Sreenan SK, Zhou YP, Otani K, Hansen PA, Currie KP, Pan CY, Lee JP, Ostrega DM, Pugh W, Horikawa Y, Cox NJ, Hanis CL, Burant CF, Fox AP, Bell GI, Polonsky KS: Calpains play a role in insulin secretion and action. *Diabetes* 50:2013-20, 2001
 32. Fingerlin TE, Erdos MR, Watanabe RM, Wiles KR, Stringham HM, Mohlke KL, Silander K, Valle TT, Buchanan TA, Tuomilehto J, Bergman RN, Boehnke M, Collins FS: Variation in three single nucleotide polymorphisms in the Calpain-10 gene not associated with type 2 diabetes in a large Finnish cohort. *Diabetes* 51:1644-8, 2002
 33. Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Manaka H, Kato T: Calpain10 gene polymorphisms are related, not to type 2 diabetes, but to increased serum cholesterol in Japanese. *Diabetes Res Clin Pract* 56:147-52, 2002
 34. Tsai HJ, Sun G, Weeks DE, Kaushal R, Wolujewicz M, McGarvey ST, Tufa J, Viali S, Deka R: Type 2 diabetes and three Calpain-10 gene polymorphisms in Samoans: No evidence of association. *Am J Hum Genet* 69:1236-44, 2001
 35. Malecki MT, Moczulski DK, Klupa T, Wanic K, Cyganek K, Frey J, Sieradzki J: Homozygous combination of Calpain-10 gene haplotypes is associated with type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Eur J Endocrinol* 146:695-9, 2002
 36. Baier LJ, Permana PA, Yang X, Pratley RE, Hanson RL, Shen G-Q, Mott D, Knowler WC, Cox NJ, Horikawa Y, Oda N, Bell GI, Bogardus C: A Calpain-10 gene polymorphism is associated with reduced muscle mRNA levels and insulin resistance. *J Clin Invest* 106:69-73, 2000
 37. Lear SA, Chen MM, Frohlich JJ, Birmingham CL: The relationship between waist circumference and metabolic risk factors: cohorts of European and Chinese descent. *Metabolism* 51:1427-32, 2002
 38. Lin WY, Lee LT, Chen CY, Lo H, Hsia HH, Liu IL, Lin RS, Shau WY, Huang KC: Optimal cut-off values for obesity: using simple anthropometric indices to predict cardiovascular risk factors in Taiwan. *Int J Obes Relat Metab Disord* 26:1232-8, 2002
 39. Kang ES, Kim HJ, Ahn CW, Park CW, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC: Relationship of Serum High Sensitivity C-Reactive Protein to Metabolic Syndrome and Microvascular Complications In Type 2 Diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 69:151-9, 2005