

제 2형 당뇨병 환자에서
PPAR γ 2 유전자 다형성이
rosiglitazone에 의한 치료 효과에
미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

박 소 영

제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 2
유전자 다형성이 rosiglitazone에
의한 치료 효과에 미치는 영향

지도 이 현 철 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2004년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

박 소 영

박소영의 석사 학위논문을 인준함

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

연세대학교 대학원

2004년 6월 일

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 항상 깊은 관심과 자상한 지도를 해주신 이현철 교수님께 진심으로 감사드리며, 본 연구를 위하여 각별한 조언을 아끼지 않으신 차봉수 교수님, 김경섭 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 아울러 연구계획 수립 및 자료 수집에 도움을 주신 강은석 선생님께 깊은 감사를 드립니다. 언제나 사랑으로 저를 아껴주시고 지켜주시는 부모님께 고개 숙여 감사드리며 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

차 례

국문요약	1
I. 서 론	4
II. 대상 및 방법	8
1. 연구 대상	8
2. 연구 방법	9
3. 통계 및 분석	13
III. 결 과	14
1. 연구대상 환자들의 임상적 특징	14
2. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따른 rosiglitazone의 혈당조절 효과	16
3. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이 혈중 지질농도에 미치는 효과	19
4. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이	

인슐린 저항성 개선에 미치는 효과	20
5. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따른 rosiglitazone	
치료 반응을 비교	22
6. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이	
혈중 adiponectin level에 미치는 영향	23
IV. 고 찰	24
V. 결 론	31
참고문헌	32
영문요약	42

그림 차례

Figure 1. Genotyping of the PPAR γ 2 gene	
polymorphism alleles	14
Figure 2. Changes of fasting plasma glucose	
concentrations and HbA1c after 3-month	
treatment with rosiglitazone (Pro12Pro	
vs. Pro12Ala)	18

표 차례

Table 1. Baseline clinical and biochemical characteristics (Pro12Pro vs. Pro12Ala)	15
Table 2. The effects of rosiglitazone on glucose control after 3-month treatment between Pro12Pro and Pro12Ala	17
Table 3. Plasma lipid parameters at the baseline and 3 months after treatment with rosiglitazone between genotypes	19
Table 4. Changes of metabolic parameters in rosiglitazone treated groups	21
Table 5. The comparison of responsive rate to rosiglitazone therapy according to	

PPAR γ 2 gene polymorphism 22

Table 6. Plasma adiponectin levels at the baseline
and 3 months after treatment with rosiglitazone
between genotypes 23

국문 요약

제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 2 유전자 다형성이 rosiglitazone에 의한 치료 효과에 미치는 영향

Peroxisome proliferator-activated receptors- γ (PPAR γ)는 핵수용체이자 전사인자로 여러 유전자의 발현을 조절하고, 지방세포의 분화, 당 항상성의 유지에 관여하며, 인슐린 감작제인 thiazolidinedione (TZD)계통 약물의 중요한 표적이 된다. PPAR γ 2 유전자에서 보이는 Pro12Ala 다형성과 당뇨병, 체질량지수, 인슐린 감수성 등과의 연관성에 대한 연구들은 많이 이루어졌으나 유전자 다형성이 약물의 효과에 미치는 영향을 전향적으로 연구한 논문은 거의 없다. 본 연구는 한국인 제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 2 유전자의 변이가 rosiglitazone의 혈당조절에 미치는 영향 및 adiponectin의 변화에 미치는 효과에 대하여 알아보고자 하였다.

경구용 혈당강하제로 치료하던 제 2형 당뇨병 환자 164명(남자 86명, 여자 78명)을 대상으로 하여 3개월간 기존의 약제의 변화 없이 rosiglitazone을 매일 4 mg씩 3개월간 투여한 후, 체질량지수, 공복혈당, 당화혈색소, 대사적지표, adiponectin 등을 측정하였고, 유전자 검사를 통하여 Pro12Ala 다형성 여부가 치료 효과에 미치는

영향을 분석하였다.

대상군 164명 중, Pro12Pro군은 154명, Pro12Ala군은 10명이었으며 Ala12Ala는 관찰되지 않았다. Pro12Ala군은 전체 환자 중에서 6%를 차지하였고, 대립유전자의 빈도(allele frequency)는 0.03이었다. 3개월간 rosiglitazone을 투여한 후, 공복혈당은 Pro12Pro군에서 23.4 ± 52.6 mg/dl, Pro12Ala 군에서 58.8 ± 29.7 mg/dl ($p=0.004$) 감소하였고, 당화혈색소는 Pro12Pro군에서 $0.58 \pm 1.81\%$, Pro12Ala군에서 $1.72 \pm 1.74\%$ ($p=0.014$) 감소하여, Pro12Ala군이 rosiglitazone 투여 후에 의미있는 혈당강하 효과를 나타내었다. 3개월간의 공복혈당의 변화와 당화혈색소의 변화를 기준으로 공복혈당이 기저치에서 20% 이상 감소하거나 당화혈색소가 기저치 절대값에서 1% 이상 감소한 경우를 반응군으로 정의하였을 때, 전체 164명의 환자중에서 rosiglitazone에 반응한 환자는 99명으로 60.4%이었다. Pro12Pro군내에서 치료에 반응한 비율은 58.4%인데 반하여, Pro12Ala 다형성군은 90%로 다형성군이 rosiglitazone에 대한 치료 효과가 뛰어남을 나타내었다($p=0.048$). Adiponectin의 경우, Pro12Pro군에서 3.58 ± 5.45 $\mu\text{g/ml}$ 증가하였고, Pro12Ala 군에서 6.92 ± 2.77 $\mu\text{g/ml}$ 증가하였으나, 통계학적으로 의미는 없었다($p=0.482$). 따라서 Pro12Pro군에 비하여 Pro12Ala 다형성이 rosiglitazone에 의한 혈당강하에는 큰 효과를 나타내었지만, 혈

중 adiponectin 농도에 대해서는 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

한국인 제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 2 유전자 다형성이 rosiglitazone의 혈당 조절에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 보다 많은 환자를 대상으로 한 연구를 통하여 확인되어야 할 것이다.

핵심되는 말: PPAR γ 2, Pro12Ala, rosiglitazone, 약물유전학

제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 2 유전자 다형성이
rosiglitazone에 의한 치료 효과에 미치는 영향

<지도교수 이 현 철>

연세대학교 대학원 의학과

박 소 영

I . 서론

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)는 nuclear receptor superfamily의 일종으로 PPAR α , PPAR δ/β , PPAR γ 등이 알려져 있다. PPAR α 는 간, 심장, 근육, 신장 등에서 표현되어 지방산 이화작용에 관여한다. PPAR γ 는 지방세포, 대식세포에서 표현되어 지방세포 특이 유전자를 조절하고, 지방세포의 분화, 지방의 저장, 당 항상성 유지에 관여하며, 인슐린 감작제인 thiazolidinediones (TZD)의 중요한 표적이 된다¹. 제 2형 당뇨병 환자에서 TZD는 PPAR γ 를 활성화시킴으로써 혈당강하 효과 외에 중성지방의 감소, HDL-cholesterol과 LDL-cholesterol의 증가, LDL-cholesterol 산화작용 감소 및 LDL-cholesterol의 크기 감소 등의 지질 대사 이상을 개선시키고, 인슐린 감수성을

증진시키지만, 그 기전에 대해서는 아직 밝혀야 될 점들이 남아있다².

PPAR γ 유전자는 3번 염색체에 위치하고 있으며, 몇 가지의 유전적 변이 형태가 알려져 있다. Gain-of-function mutation (Pro115Gln)은 비만과 관련이 있으나, 인슐린 저항성과는 관련이 없다³. Loss-of-function mutation (Val290Met, Pro467Leu)는 정상 체중을 가졌으나 심한 인슐린 저항성을 가진 사람들에서 보고되었다⁴. 그리고 가장 많은 비율을 차지하는 것이 Pro12Ala 다형성(polymorphism)으로, 이는 PPAR γ 유전자의 exon B에 있는 코돈 12에서 CCA가 GCA로 바뀌는 missense mutation으로 인한다. 1997년 Pro12Ala 다형성이 처음으로 보고된 이후, 인종에 따라 1 - 12%까지 다양한 유병률이 보고되고 있다⁵.

Pro12Ala 다형성과 비만, 체중 변화, 체지방량, 당뇨병, 인슐린 감수성 등과의 관련성에 대하여 많은 연구가 진행되었다⁶⁻¹². 제 2형 당뇨병과의 연관성에 관한 연구를 통해서, 정상 당 내성을 갖고 있는 군보다 제 2형 당뇨병을 갖고 있는 군에서 Ala 대립유전자(allele)의 빈도가 낮다는 결과들이 발표되었고, 여러 인구 기초 조사들로부터 Ala 대립유전자를 가지고 있는 군은 제 2형 당뇨병의 발생이 25% 감소할 것이라고 제안되었다⁶. 그리고 616명의 정상 당 내성을 갖고 있는 스웨덴인들을 대상으로 한

연구에서 Ala 대립유전자를 갖고 있는 군이 인슐린 감수성이 7% 높다는 보고가 있으며¹³, 중국인/일본인들을 대상으로 한 연구에서도 Ala 대립유전자를 갖고 있는 군에서 더 높은 인슐린 감수성이 관찰되었다¹⁴. 특히 인슐린 감수성의 차이는 비만한 군에서 더욱 두드러졌다. 이런 결과는 PPAR γ 가 표현되는 지방세포에서 Ala 변이(variant)에 의한 전사 능(transcriptional activity)의 감소 및 변질(alteration)이 지방 분해를 억제하는 인슐린의 기능을 강화시킴으로써, 유리 지방산의 방출을 억제하고, 감소된 유리 지방산이 근육에서의 당 이용 및 간에서의 당 생성을 억제시키기 때문인 것으로 생각된다¹⁵. Hara 등¹⁶에 의하면 당뇨병군과 비당뇨병군으로 나누어서 Ala 대립유전자 여부에 따른 인슐린 저항성, β 세포 기능을 조사하였을 때 두 군에서는 특별한 차이를 보이지 않았으나, 체질량지수에 따라 대상군을 나누었을 때 Ala 대립유전자가 있는 비만한 군에서 인슐린 감수성이 더 높고, 혈중 leptin도 더 높게 측정되었다. 그러나 제 2형 당뇨병 및 비만한 229명의 한국인을 대상으로 한 연구에서는 Pro12Ala 다형성과 체질량지수, 인슐린 저항성 사이의 연관성이 보이지 않아, Pro12Ala 다형성이 한국인에 대해서는 비만 또는 당뇨병에 대한 중요한 결정인자가 아닐 수 있다고 제시되었다¹⁷.

Adiponectin은 지방조직 특이 혈장 당단백질로, 주로

지방세포에서 표현되고 지방조직에서 분비된다. Adiponectin은 항염증 및 항동맥경화 관련 분자로서, 비만, 제 2형 당뇨병, 그리고 관상동맥질환 등에서 낮게 측정된다¹⁸⁻²⁰. 그리고 adiponectin은 혈당, 인슐린, 중성지방, 체질량지수와 음의 상관관계를 가지며, HDL-cholesterol과는 양의 상관관계를 갖는다. 따라서 adiponectin은 인슐린 저항성 증후군의 중요한 표지자가 될 수 있으며, 제 2형 당뇨병의 병태생리에 있어서 중요한 역할을 하고 있다. Adiponectin의 표현은 지방세포의 분화 과정에서 조절되고 활성화된다. PPAR γ 는 지방세포 분화의 가장 중요한 조절 인자로서, 지방세포 분화 과정에서 adiponectin의 표현을 더욱 증강시키는 역할을 수행할 수 있다²¹.

본 연구는 한국인 제 2형 당뇨병 환자에서 PPAR γ 유전자의 변이에 따른 TZD의 혈당 조절 및 adiponectin의 변화에 미치는 영향에 대하여 알아보았다.

II. 대상 및 방법

1. 연구대상

2003년 12월까지 연세대학교 세브란스병원 당뇨병센터 및 관동대학교 명지병원 내분비내과 외래에 내원하거나 입원한 제 2형 당뇨병 환자 중 경구용 혈당강하제로 치료하던 환자 164명을 대상으로 하였다.

미국 당뇨병 학회의 진단 기준에 따라 제 2형 당뇨병을 진단 받은 30세-80세 사이의 환자들 중에서, 지난 3개월간 약제 변화가 없었고 지난 3개월간 rosiglitazone을 사용하지 않았던 환자를 대상으로 하여, 기존 약제와 함께 3개월간 매일 rosiglitazone 4 mg을 투여한 뒤, 그 효과를 보았다. 대상군은 제 2형 당뇨병 환자만을 포함하였으며 제 2형 당뇨병 환자 중 인슐린을 사용하는 경우는 연구대상에서 제외하였다. 또한 체질량지수(BMI: body mass index)가 너무 크거나($BMI \geq 32 \text{ kg/m}^2$), 너무 작은($BMI \leq 18.5 \text{ kg/m}^2$) 환자는 adiponectin 농도에 영향을 줄 수 있으므로 제외하였다. 그리고, 고혈압을 제외한 심혈관질환자(허혈성 심질환, 울혈성 심부전, 말초동맥질환), 다른 중증의 질환 동반자, GAD 항체 양성인 환자는 본 연구에서 제외하였다.

2. 연구방법

가. 기초 자료 수집

제 2형 당뇨병 환자 164명을 대상으로 당뇨병 진단 기간, 가족력 등을 문진하고 처음 내원시와 3개월 후에 키, 몸무게, 허리둘레를 측정하고 체질량지수를 계산하였다. 그리고 임상 화학 검사로써 처음 내원시 및 3개월 후에 식전, 식후 혈당, 당화혈색소, 식전 C-peptide, insulin 등을 측정하였으며, 총콜레스테롤, HDL-cholesterol, 중성지방을 측정하였고, LDL-cholesterol은 Fridelwald 공식²²에 의하여 계산하였다.

나. Genomic DNA 분리 및 DNA sequencing

(1) Genomic DNA 분리

모든 대상군에서 10 ml 말초 혈액을 채혈하여 단핵구내의 DNA를 분리하였다. 건조시킨 DNA를 autoclaved distilled water (D.W.)에 녹여 분광광도계로 측정한 후 -70℃에 보관하였다.

(2) Primer 제작

PPAR γ 유전자의 코돈 12를 포함하는 뉴클레오타이드가 증폭되도록 primer 제작을 의뢰(CoreBio, Seoul, Korea)하여 합성하였다. Sense primer는 5`-GCCAATTCAAGCCCAGTC-

3`이었고, antisense primer는 5`-GATATGTTTGCAGACAG TGTATCAGTGAAGGAATCGCTTTCCG-3`이었다.

(3) 연쇄중합반응(PCR)

연쇄중합반응용액은 PCR tube에 1 ng의 genomic DNA, 1 pM antisense primer, 1 pM sense primer, 250 μ M dNTP, 1.5 mM $MgCl_2$, 1 unit의 taq DNA polymerase, PCR 완충액(10 mM Tris-HCL, 40 mM KCl, 0.1% Triton X-100)을 넣고 총 반응액은 20 μ L가 되도록 하였다. DNA 증폭을 위한 PCR은 반응혼합액을 95 $^{\circ}$ C 5분간 가열하여 template DNA를 단일체로 변성(denaturation) 시키고 이후부터 변성을 95 $^{\circ}$ C에서 1분, 결합(annealing)을 56 $^{\circ}$ C에서 1분, 연장(extension)을 72 $^{\circ}$ C에서 1분 동안 시행하도록 한 주기를 설정하고 30주기 동안 DNA를 증폭한 후 마지막 연장은 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 유지하였다.

(4) Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 분석

BstU-I (Biolabs, London, UK)는 C \rightarrow G 치환이 존재시 CG-GC 사이를 절단하는 효소로써, PPAR γ 2 Pro12Ala 확인을 위해 PCR 생성물 10 μ L를 BstU-I 및 반응용 완충액 2 μ L와 혼합한 후 60 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 용액을 각각 2.5% 한천 겔을 이용하여 100 Volt에서 30분간 전기영동하고 ethidium bromide 용액으로 염색하여 자외선 투사기에서 관찰하고

플라로이드 카메라로 촬영하여 제한효소에 의해 절단된 DNA 분절로 이루어진 띠를 관찰하였다. 정상동형접합체(normal homozygotes)는 270bp만 관찰되었고, 이형접합체 (Pro12Ala heterozygotes)는 270, 227bp가 관찰되었다.

다. Adiponectin 측정

혈중 adiponectin 농도는 human adiponectin RIA Kit (¹²⁵I-Adiponectin RIA kit, LINCO Research, St. Charles, MO, USA)를 이용하여 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

Day 1

- (1) 10 X assay buffer 50 ml에 DW 450 ml를 섞어서 500 ml의 1 X assay buffer를 만들었다.
- (2) Standard preparation으로 8개 glass tube에 labeling (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 ng/ml)을 한 후 각각 0.5 ml의 assay buffer를 넣었다. 200 ng/ml의 standard에서 0.5 ml을 뽑아 100 ng/ml tube에 넣고 잘 mix한 후에 다시 100 ng/ml tube에서 0.5 ml을 뽑아 50 ng/ml tube에 넣고 잘 섞었다. 위와 같은 serial dilution을 0.78 ng/ml tube까지 하였다.
- (3) Quality control vial에 1 ml의 D.W.를 넣고 잘 mix 하였다.
- (4) Sample serum 10 μ l에 5,000 μ l의 assay buffer를 혼합해

500배 희석하였다.

(5) Assay buffer 300 μ l를 NSB tube (3번, 4번)에 넣었다

(6) Assay buffer 200 μ l를 reference (Bo) tube (5번, 6번)에 넣었다.

(7) Assay buffer 100 μ l를 7번 tube부터 sample 담긴 나머지 모든 tube에 넣었다.

(8) 125 I-Adiponectin 100 μ l씩을 모든 tube에 넣었다

(9) Adiponectin antibody를 total count tube (1번, 2번), NSB tube (3번, 4번)를 제외한 모든 tube에 넣었다.

(10) Room temperature에서 20-24시간 incubation하였다.

Day 2

(11) Total count tubes (1-2)를 제외한 모든 tube에 rabbit carrier를 10 μ l 넣었다.

(12) Total count tubes를 제외한 모든 tube에 cold (4°C) precipitating reagent를 1.0 ml을 넣고 vortex하고 4°C에서 20분간 incubation하였다

(13) Total count tubes (1-2)를 제외한 모든 tube를 2,000-3,000 G로 4°C에서 20분 간 원심분리하였다.

(14) Total count tubes (1-2)를 제외하고 즉시 supernate를 버리고 튜브를 뒤집어서 15-60 초간 말렸다.

(15) 모든 tube를 gamma counter에서 1분 간 count하였다.

라. 치료 반응 기준

3개월간의 공복혈당의 변화와 당화혈색소의 변화를 기준으로 공복혈당이 기저치에서 20% 이상 감소하거나 당화혈색소가 기저치에서 절대값으로 1% 이상 감소한 경우를 반응군으로 정의하였다. 비반응군은 반응군에 해당하지 않는 경우로 정의하였다²³.

3. 통계 및 분석

모든 자료의 통계처리는 개인용 컴퓨터 통계 프로그램 SPSS (Windows release 11.5, SPSS, Chicago, IL, USA) package를 이용하였으며, 기술통계값은 평균±표준편차, 또는 전체에 대한 백분율로 표현하였다. Pro12Pro군과 Pro12Ala군의 임상적 변수 및 rosiglitazone 치료 효과에 영향을 주는 요인 분석에는 unpaired *t*-test, Mann-Whitney test, paired *t*-test, *chi*-square test를 이용하여 비교하였으며 *p*-value가 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 처리하였다.

III. 결과

1. 연구대상 환자들의 임상적 특징

3개월간 rosiglitazone을 투여한 환자는 전체 164명이었으며, 남자 86명, 여자 78명이었다. 유전자 검사 결과, 전체 환자 중 Pro12Ala 다형성을 가진 환자는 10명이었으며, Ala12Ala군은 관찰되지 않았다(Figure 1). Pro12Ala군은 전체 환자 중에서 6%를 차지하였고, Ala 대립유전자의 빈도(allele frequency)는 0.03이었다. Pro12Ala군의 평균 나이는 62.9 ± 8.8 세로서 Pro12Pro군에 비하여 높았으며, LDL-cholesterol을 제외하고, 기본적인 임상적 특징은 두 군에서 큰 차이를 보이지 않았다(Table 1).

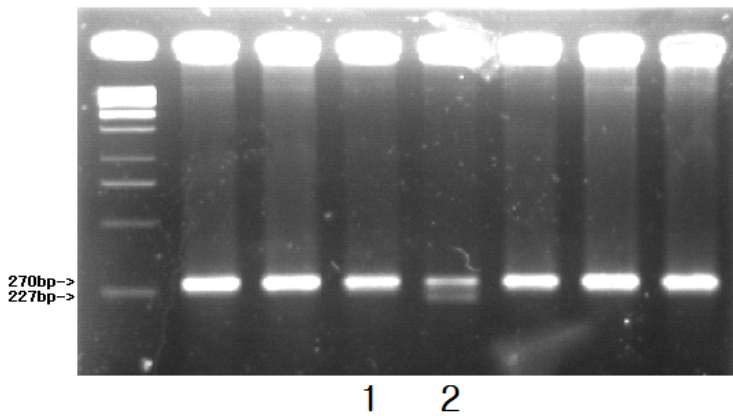


Figure 1. Genotyping of the PPAR γ 2 gene polymorphism alleles. Lane 1 contains normal homozygote (270bp) and lane 2 contains heterozygotes (270bp and 227bp).

Table 1. Baseline clinical and biochemical characteristics
(Pro12Pro vs. Pro12Ala)

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	<i>p</i> -value
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
Age (yrs)	56.6±9.2	56.2±9.1	62.9±8.8	0.044
Duration of diabetes (yrs)	6.84±5.67	6.75±5.45	8.29±8.75	0.861
Body weight (kg)	69.3±10.7	69.1±10.5	73.2±13.1	0.336
BMI (kg/m ²)	25.9±2.6	25.8±2.6	26.8±2.5	0.371
Waist circumference (cm)	88.9±7.4	88.8±7.4	90.4±7.1	0.539
FPG (mg/dl)	160.5±46.3	159.2±46.6	179.5±43.9	0.137
PP2hrG (mg/dl)	235.5±74.8	236.3±76.7	224.3±41.8	0.695
HbA1c (%)	8.02±1.48	7.97±1.47	8.81±1.54	0.075
Total cholesterol (mg/dl)	186.8±31.7	185.6±31.8	204.8±24.4	0.057
HDL-cholesterol (mg/dl)	48.0±16.7	47.9±16.9	50.6±14.4	0.399
LDL-cholesterol (mg/dl)	103.9±27.3	103.0±27.7	118.4±14.6	0.041
Triglyceride (mg/dl)	181.0±111.6	181.2±114.0	178.9±70.4	0.536
hsCRP (mg/L)	2.03±3.25	2.06±3.31	1.67±2.14	0.928
Fasting insulin (μU/ml)	7.99±5.44	7.92±5.43	9.01±5.75	0.417
PP2hr insulin (μU/ml)	33.47±32.42	33.46±32.76	33.61±28.21	0.949
Fasting C-peptide (ng/ml)	1.72±0.59	1.69±0.55	2.16±0.86	0.099
PP2hr C-peptide (ng/ml)	3.59±1.37	3.55±1.30	4.22±2.24	0.633
HOMA-IR	3.05±2.09	2.99±2.10	3.82±1.91	0.106
Leptin (ng/ml)	5.81±3.59	5.80±3.64	6.04±2.96	0.594
Adiponectin (μg/ml)	5.17±4.37	5.19±4.46	4.80±2.70	0.700

Data are means ± SD.

Yrs: years, FPG: fasting plasma glucose,

PP2hrG: postprandial 2 hour glucose, PP2hr: postprandial 2 hour,

hsCRP: high sensitivity C-reactive protein

HOMA-IR: homeostasis model assessment of insulin resistance

2. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따른 rosiglitazone의 혈당 조절 효과

3 개월간 rosiglitazone 을 투여한 후, Pro12Pro 군과 Pro12Ala 다형성을 가진 군에서의 혈당 조절 효과를 살펴보았다. 공복혈당은 Pro12Pro 군에서 23.4 ± 52.6 mg/dl, Pro12Ala 군에서 58.8 ± 29.7 mg/dl ($p=0.004$) 의미있게 감소하였고, 당화혈색소는 Pro12Pro 군에서 $0.58 \pm 1.81\%$, Pro12Ala 군에서 $1.72 \pm 1.74\%$ ($p=0.014$) 감소하여, Pro12Ala 군이 rosiglitazone 투여 후에 의미있는 혈당강하 효과를 나타내었다(Table 2, Figure 2).

Table 2. The effects of rosiglitazone on glucose control after 3-month treatment between Pro12Pro and Pro12Ala

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	<i>p</i> -value
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
FPG (mg/dl)				
Baseline	160.5±46.3	159.2±46.6	179.5±43.9	0.137
3 months after Tx	134.7±39.9	135.6±40.8	120.7±20.6	0.253
Δ FPG	25.5±52.2	23.4±52.6	58.8±29.7	0.004
PP2hrG (mg/dl)				
Baseline	235.5±74.8	236.3±76.7	224.3±41.8	0.695
3 months after Tx	200.1±68.0	201.8±68.7	176.8±54.8	0.253
Δ PP2hrG	36.0±75.5	35.3±76.7	47.5±54.0	0.340
HbA1c (%)				
Baseline	8.02±1.48	7.97±1.47	8.81±1.54	0.075
3 months after Tx	7.51±1.20	7.54±1.22	7.09±0.61	0.362
Δ HbA1c	0.65±1.82	0.58±1.81	1.72±1.74	0.014

Data are means ± SD.

Δ : difference between baseline and 3-month follow-up data,

FPG: fasting plasma glucose, PP2hrG: postprandial 2 hour glucose,

Tx: treatment

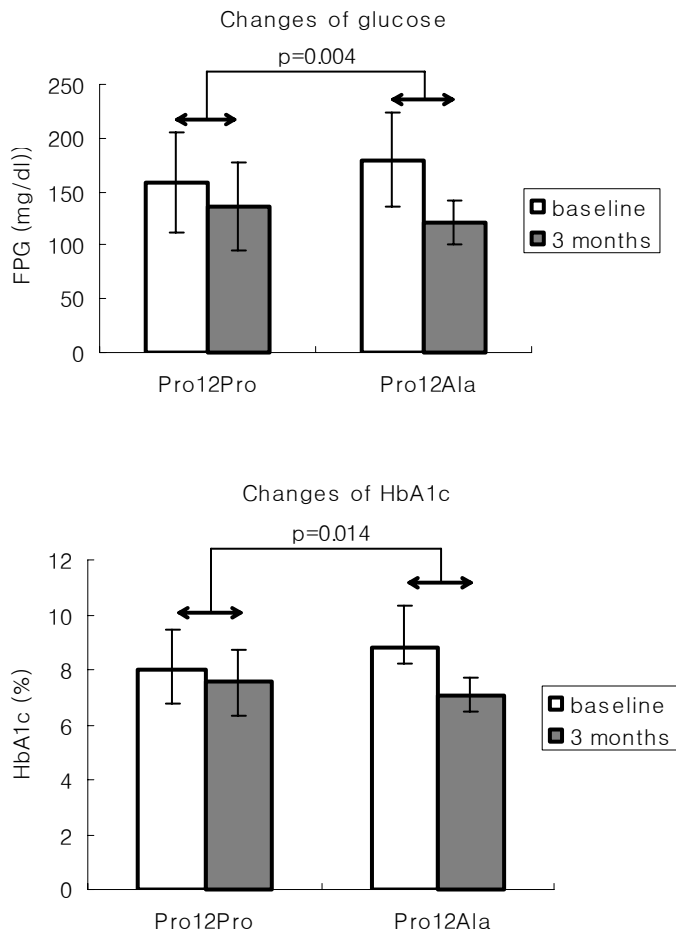


Figure 2. Changes of fasting plasma glucose concentrations and HbA1c after 3-month treatment with rosiglitazone (Pro12Pro vs. Pro12Ala). After 3 months of rosiglitazone treatment, patients with Pro12Ala variant showed greater decrement in fasting plasma glucose and HbA1c than patients with Pro12Pro variant.

3. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이 혈중 지질농도에 미치는 효과

양 군에서 3개월간 rosiglitazone을 투여 후 총콜레스테롤, LDL-cholesterol이 약간 증가하는 양상이었으나 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 중성 지방의 경우 Pro12Pro군에서 증가하는 추세를 보이고, Pro12Ala 다형성군에서 감소 추세를 보였으나 통계학적으로 의미는 없었다(Table 3).

Table 3. Plasma lipid parameters at the baseline and 3 months after treatment with rosiglitazone between genotypes

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	<i>p</i> -value
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
Total cholesterol (mg/dl)				
Baseline	186.8±31.7	185.6±31.8	204.8±24.4	0.057
3 months after Tx	200.5±34.8	199.5±35.1	215.7±25.7	0.127
HDL-cholesterol (mg/dl)				
Baseline	48.0±16.7	47.9±16.9	50.6±14.4	0.399
3 months after Tx	47.2±11.3	46.9±10.9	52.4±15.9	0.342
LDL-cholesterol (mg/dl)				
Baseline	103.9±27.3	103.0±27.7	118.4±14.6	0.041
3 months after Tx	112.9±38.3	111.8±38.7	128.1±29.7	0.171
Triglyceride (mg/dl)				
Baseline	181.0±111.6	181.2±114.0	178.9±70.4	0.536
3 months after Tx	192.7±124.8	193.8±126.7	175.9±96.0	0.779

Data are means ± SD.

4. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이 인슐린 저항성 개선에 미치는 효과

Rosiglitazone 투여 후 전체 환자에서 체중과 체질량지수(BMI)가 증가하는 추세를 보였고, 허리둘레는 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 그리고 Pro12Pro군과 Pro12Ala 다형성군에서 3개월간 rosiglitazone 투여 후 공복 인슐린농도 및 공복 C-peptide는 감소하는 경향을 보이나 통계적으로 유의한 변화는 없었다($p=0.593$, $p=0.928$, respectively). HsCRP는 Pro12Pro군에서 2.06 ± 3.31 mg/L에서 1.50 ± 3.66 mg/L로 감소하였고, Pro12Ala군에서는 1.67 ± 2.14 mg/L에서 1.18 ± 2.18 mg/L로 감소하여 양군에서 감소 추세를 보였으나, 통계학적으로 의미는 없었다($p=0.453$). HOMA-IR의 경우 Pro12Pro군과 Pro12Ala군 모두에서 치료 후에 의미있는 변화를 보이지 않았다($p=0.512$, Table 4).

Table 4. Changes of metabolic parameters in rosiglitazone treated groups

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	<i>p</i> -value
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
Body weight (kg)				
Baseline	69.3±10.7	69.1±10.5	73.2±13.1	0.336
3 months after Tx	71.0±10.3	70.6±10.3	77.2±8.2	0.116
BMI (kg/m ²)				
Baseline	25.9±2.6	25.8±2.6	26.8±2.5	0.371
3 months after Tx	26.4±2.6	26.3±2.6	27.4±2.3	0.313
Waist C. (cm)				
Baseline	88.9±7.4	88.8±7.4	90.4±7.1	0.539
3 months after Tx	86.2±12.2	85.8±12.3	92.5±9.1	0.161
hsCRP (mg/L)				
Baseline	2.03±3.25	2.06±3.31	1.67±2.14	0.928
3 months after Tx	1.48±3.59	1.50±3.66	1.18±2.18	0.453
Fasting insulin (μU/ml)				
Baseline	7.99±5.44	7.92±5.43	9.01±5.75	0.417
3 months after Tx	6.91±4.91	6.92±5.01	6.75±2.85	0.593
Fasting C-peptide(ng/ml)				
Baseline	1.72±0.59	1.69±0.55	2.16±0.86	0.099
3 months after Tx	1.62±0.63	1.62±0.62	1.70±0.83	0.928
HOMA-IR				
Baseline	3.05±2.09	2.99±2.10	3.82±1.91	0.106
3 months after Tx	2.50±1.81	2.49±1.84	2.62±1.41	0.512

Data are means ± SD.

BMI: body mass index, Waist C: waist circumference

5. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따른 rosiglitazone 치료 반응을 비교

Pro12Ala 유전자 다형성 여부에 따른 rosiglitazone의 치료 반응을 비교하였다. 3개월간의 공복혈당의 변화 및 당화혈색소의 변화를 기준으로 공복혈당이 기저치에서 20% 이상 감소하거나 당화혈색소가 기저치에서 절대값으로 1% 이상 감소한 경우를 반응군으로 정의하였을 때, 전체 164명의 환자중에서 rosiglitazone에 반응한 환자는 99명으로 60.4%였으며, 남자 46명, 여자 53명이었다. Pro12Pro군내에서 rosiglitazone에 대한 치료에 반응한 비율은 58.4%인데 반하여, Pro12Ala 다형성군은 90%로 Pro12Ala군이 rosiglitazone에 대한 치료 효과가 뚜렷하였다($p=0.048$, Table 5).

Table 5. The comparison of responsive rate to rosiglitazone therapy according to PPAR γ 2 gene polymorphism

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	<i>p</i> -value
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
Responder (%)	99 (60.4)	90 (58.4)	9 (90)	0.048

Data are means \pm SD.

6. PPAR γ 2 유전자 다형성에 따라 rosiglitazone이 혈중 adiponectin level에 미치는 영향

PPAR γ 는 지방세포 특이 유전자를 조절하고, adiponectin은 지방 조직 특이 혈장 당단백질로, 주로 지방세포에서 표현되고 지방 조직에서 분비된다. PPAR γ 유전자의 다형성에 따른 adiponectin의 변화를 살펴보면, 모든 군에서 치료 전에 비하여 치료 후에 adiponectin이 증가하였으나 통계학적으로 의미는 없었다($p=0.482$, Table 6).

Table 6. Plasma adiponectin level at the baseline and 3 months after treatment with rosiglitazone between genotypes

	Total	Pro12Pro	Pro12Ala	p
Sex (M/F)	164 (86/78)	154 (80/74)	10 (6/4)	
Adiponectin ($\mu\text{g/ml}$)				
Baseline	5.17 \pm 4.37	5.19 \pm 4.46	4.80 \pm 2.70	0.700
3 months after Tx	8.82 \pm 6.23	8.83 \pm 6.32	8.72 \pm 4.95	0.840
Δ Adiponectin	3.60 \pm 5.32	3.58 \pm 5.45	6.92 \pm 2.77	0.482

Data are means \pm SD.

IV. 고찰

PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ)는 nuclear hormone receptor family의 하나로 지방세포의 분화와 유전자 표현에 관여한다. PPAR γ 에 대한 리간드는 내인성 인자와 TZD와 같은 합성 인자로 구분되며, 이들은 지방세포의 합성과 인슐린 활성도를 증가시키는 역할을 한다^{24,25}.

PPAR γ 유전자에는 γ 1, γ 2 2가지가 있으며, PPAR γ 1은 지방조직, 심장, 간, 근육 등에서 발현되는데 비하여, PPAR γ 2는 지방조직에서 특이적으로 표현되어 지방세포 분화를 조절하는데 있어 중요한 역할을 갖는다²⁶. PPAR γ 1과 달리 PPAR γ 2는 NH₂-terminus에 부가적으로 84개의 핵산과 28개의 아미노산을 가지고 있고, 이 아미노산들이 리간드-독립적인 활성 기능을 담당하고 있다²⁷. PPAR γ 유전자의 exon B에 있는 코돈 12의 position 34에서 CCA의 cytosine이 GCA의 guanine으로 바뀌는 유전자 다형성이 Pro12Ala로써, proline이 alanine으로 치환되어 나타나며, 백인에게 가장 흔한 유전자 변이로 알려져 있다²⁸. 기능적으로 Ala 변이는 PPAR-response element에 대하여 친화성이 떨어지고, 표적 유전자를 활성화시키는 능력이 떨어진다고 한다⁶. 이러한 유전자 다형성과 비만, 제 2형 당뇨병과의 관련성에 대한 연구들이 보고되고 있으며, 그외,

체질량지수, 인슐린 저항성, 혈중 지질 농도와의 관계에 대해서도 연구되어져 왔다⁶⁻¹².

본 연구는 한국인에서 TZD의 표적으로 알려져 있는 PPAR γ 2 유전자의 Pro12Ala 변이가 당뇨병 치료에 대하여 어떠한 영향을 주는 지 알아보고자 하였다.

연구에 포함된 전체 환자의 유전자를 분석한 결과 164명의 환자 중 Pro12Pro군은 94%, Pro12Ala군은 6%이었고, Ala12Ala군은 관찰되지 않았다. Ala 대립유전자 빈도(allele frequency)는 0.03이었다.

한국인 당뇨병 환자에서 Pro12Ala 다형성과의 관련성을 살펴본 결과, 유전자 다형성과 당뇨병 사이에 연관성을 발견하지 못하였으며, 마찬가지로 PPAR γ 유전자형이 비만, 고혈압, 고지혈증, 혈중 인슐린과도 연관성이 없다고 보고하였다¹⁷. 그러나, 비만한 한국인을 대상으로 한 연구에서는, Pro12Ala 다형성군이 Pro12Pro군보다 통계학적으로 유의하게 비만하였고, 피하지방량도 유의하게 많은 것으로 나타나서, 비만군내에서는 Pro12Ala 다형성이 비만과 관련이 있으며 체지방분포에도 영향을 미칠 수 있음을 제시하였다²⁹. Swarbrick 등²⁸의 연구에서도 Pro12Ala 다형성군이 체질량지수, waist hip ratio에서 차이가 없어 비만에 대한 예측인자가 될 수 없다고 하였으나, 고지혈증에 대해서는 비만한 Pro12Ala군에서

HDL-cholesterol이 감소하고, 중성 지방이 더 높게 나왔으며, 마른 대상군에서는 Pro12Ala 다형성과 고지혈증 사이에 통계적인 의미가 없는 것으로 나타나서 비만군에서만 Pro12Ala 다형성에 의한 영향을 받음을 제시하였다. 본 연구에 포함된 대상군의 체질량지수는 20-31.5 kg/m² (평균 25.9±2.59 kg/m²)로써 서구의 연구에 비하여 상대적으로 체질량지수가 낮은 환자들이 대상군에 포함되었고, 이로 인하여 Pro12Ala 다형성이 비만, 인슐린 저항성, 지질 농도 등과 연관성이 보이지 않는다는 다른 연구 결과와 일치하는 것으로 사료된다.

Pro12Ala 다형성과 관련된 당뇨병 또는 비만 환자들의 임상적 특징에 대한 연구 외에, TZD와 PPAR γ 유전자 사이의 약물 유전학에 대한 연구가 보고되었다. Blucher 등³⁰은 6개월간 pioglitazone을 투여한 후, Pro12Pro군과 Pro12Ala 다형성을 가진 군에서의 치료 효과를 살펴보았다. 기저치에 비해서 치료후 공복시 혈당이 20% 이상 감소하거나, 당화혈색소가 15% 이상 감소한 경우를 치료 반응군으로 정의했을 때, Pro12Pro군 및 Pro12Ala군에서의 치료 반응율은 각각 51% 및 49%로, 양 군에서 차이가 없었다. 반면에 본 연구에서의 치료 반응 기준은 Iwamoto 등²³이 제시한 기준에 따라 공복시 혈당이 20% 이상 감소하거나, 당화혈색소가 절대값으로 1% 이상 감소한 경우를 치료 반응군으로 분류하였으며, Pro12Pro군과

Pro12Ala군의 반응율은 각각 58.4%, 90%로써 Pro12Ala군이 rosiglitazone에 대하여 월등한 치료 효과가 있음을 보여주었다.

TZD에 대한 치료 반응을 알아본 여러 연구들에 의하면, 보고자에 따라 TZD의 치료 반응율은 치료 반응 기준에 따라 50-80%로 보고되는 등 다양한 결과를 나타내었다^{30,31}. Blucher 등³⁰에 의하면 치료 반응율의 기준을 공복 혈당이 20% 이상 감소하는 경우로 할 때, 치료 반응율은 51.9%이었으나, 공복 혈당이 10% 이상 감소하는 경우를 기준으로 하면 치료 반응율이 75.5%로 증가하였다. 그리고 치료 반응 기준을 당화혈색소가 15% 감소하는 경우로 할 때 치료 반응율은 61.1%이었으나, 당화혈색소가 0.5-1% 이상 감소하는 경우에는 치료 반응율이 87.9%로 증가하여 치료 효과를 판정하는 반응율의 기준에 따라 서로 다른 결과가 나올 수 있음을 보여주었다. 치료 반응의 기준을 완화시킬수록 반응율은 증가하지만, 그 수치는 rosiglitazone에 대한 치료 효과를 과장할 수 있는 가능성이 있으므로, 치료 반응을 평가할 때 이에 대한 주의가 필요할 것이다.

대사성 지표에 대하여 rosiglitazone에 대한 치료 효과를 살펴보면, Pro12Pro군 및 Pro12Ala군 모두에서 체중, 체질량지수, 허리둘레 등 신체 계측 결과는 치료전과 후에 차이가 없는 것으로 나타났으며, 혈중 지질 변화 및 인슐린, C-peptide도 차이가 없었다. 인슐린 저항성의 지표인 HOMA-IR은 모든 환자에서 감소 추세를 보여

rosiglitazone에 의한 인슐린 저항성 개선이 혈당 조절에 영향을 미쳤을 수 있음을 추측할 수 있으나 통계학적으로 의미는 없었다.

Adiponectin의 경우, PPAR γ 유전자 변이에 관계없이 Pro12Pro군, Pro12Ala군 모두에서 3개월간 rosiglitazone 치료 후에 혈중 adiponectin이 증가하였으나 통계학적으로 의미는 없었다. 본 연구는 서구와 달리 비비만형 당뇨병이 많은 한국인 당뇨병 환자에서 PPAR γ 유전자 Pro12Ala 다형성이 rosiglitazone 투여 후에 adiponectin의 변화에 미치는 효과를 살펴본 첫번째 연구였으나, Pro12Ala 다형성과 adiponectin 변화 사이에 연관성은 보이지 않았다.

Adiponectin은 지방세포 관련 단백질로서, 그 기능에 대해서는 아직 밝혀지지 않은 점들이 남아있다. 여러 in vitro 연구들은 adiponectin의 항염증 및 항동맥경화증 관련 효과에 대하여 보고하고 있다¹⁸⁻²⁰. 하지만 in vivo상에서 이러한 생화학적 기능들과 adiponectin 사이의 관련성에 대한 증거들은 부족한 상태이다. 이전 연구에서 adiponectin 농도의 감소는 인슐린 저항성 및 대사증후군의 다양한 임상적 증상들과 관련이 있는 것으로 보인다^{18,32,33,34}. 하지만 낮은 adiponectin 농도가 대사증후군을 가진 환자들에게 직접적으로 동맥경화증을 악화시키는지에 대해서는 보다 추가적인 연구가 필요한 상태이다²¹. Hirose 등³⁵에 의하면 제 2형 당뇨병 환자에

게 pioglitazone 투여 후 모든 환자에서 adiponectin이 증가하였으며, 이는 공복혈당, 당화혈색소, HOMA-IR과 관계가 없다고 보고하였다. 이들은 pioglitazone에 의한 adiponectin의 증가 기전으로 adiposity의 변화, 혈당 조절의 변화, 직접적인 지방세포의 자극, TNF- α 의 감소에 의한 가능성을 제시하였으며, 본 연구에서 혈당 조절과 관계없이 모든 군에서 adiponectin이 증가한 결과와 연관성이 있는 것으로 보인다.

Yamauchi 등³⁶은 in vivo 상에서 heterogenous PPAR γ deficiency가 인슐린 저항성을 개선시키는 기전으로써, leptin의 증가와 함께 지방 산화의 촉진을 통하여 백색 지방조직과 근육 및 간에서의 중성지방을 감소시킴으로써 고지방 식이하에서 발생하는 비만과 인슐린 저항성의 위험성을 감소시킨다고 제시하였다. 그리고 rosiglitazone을 투여한 군과 비슷하게 heterogenous PPAR γ deficiency 군에서 adiponectin mRNA의 발현이 증가함으로써 인슐린 저항성이 개선되었으나, PPAR γ 효현제와 heterogenous PPAR γ deficiency가 adiposity 및 에너지 소모에 미치는 효과는 서로 상반된 것으로 보인다고 하였다. 이에 대한 기전으로 PPAR γ 의 활동성에 대해 직접적으로 작용하는지 여부가 결정인자가 될 수 있다고 제시하였다. 본 연구에서 adiponectin level의 변화에는 rosiglitazone에 의한 adiposity의 변화, 혈당 조절의 변화, 직접적인 지방세포의 자

극 등 여러가지 인자가 작용하였을 것으로 사료되며, Pro12Pro군과 Pro12Ala군 모두에서 adiponectin이 증가한 점에서 볼 때, adiponectin 농도의 변화에 대하여 Pro12Ala 다형성이 부가적인 영향을 주지 않은 것으로 사료된다.

결론적으로 제 2형 당뇨병을 가진 한국인에서 rosiglitazone은 인슐린 저항성 개선 및 혈당 조절 효과를 나타내었으며, PPAR γ 2 유전자 변이에 따른 rosiglitazone의 혈당 조절에 미치는 영향에 대하여 분석했을 때, Pro12Ala 다형성이 rosiglitazone에 대한 치료 효과에 대하여 더욱 민감한 반응을 보이는 인자로서 작용하였다. 그러나 PPAR γ 2 유전자에 의하여 전사되어지는 지방세포 관련 단백질인 adiponectin은 rosiglitazone을 투여한 Pro12Pro군, Pro12Ala군 모두에서 증가하여 Pro12Ala 유전자 다형성보다는 rosiglitazone에 의한 효과가 adiponectin 발현에 더 연관되어져 있다고 사료된다. 향후 PPAR γ 2 유전자의 다형성이 치료 효과에 영향을 주는 유전적 인자로서의 이용 가능성은 보다 많은 환자를 대상으로 한 대규모 다기관 임상실험 연구를 통하여 확인되어야 할 것이다.

V. 결론

본 연구에서는 약제 변화가 없었던 제 2형 당뇨병 환자에게 rosiglitazone을 3개월간 투여한 후 PPAR γ 2 유전자를 분석한 결과, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 전체 164명의 환자중, Pro12Pro군은 94%, Pro12Ala군은 6% 이었고, Ala 대립유전자의 빈도(allele frequency)는 0.03이었다. Pro12Pro군과 Pro12Ala군의 기본적인 임상적 특징을 비교한 결과, Pro12Ala 다형성과 비만, 인슐린 저항성, 지질농도 사이의 연관성은 보이지 않았다. 한국인 제 2형 당뇨병 환자에서 Pro12Ala 다형성은 체질량지수, 인슐린 저항성, 혈중 지질에 대하여 영향을 미치지 않았다.

2. 3개월간 rosiglitazone 투여시 Pro12Ala 다형성과 adiponectin level의 변화 사이에 연관성은 보이지 않았다.

3. 3개월간 rosiglitazone을 투여 후 치료 효과를 살펴본 결과, Pro12Pro군에 비하여 Pro12Ala군에서 혈당 조절이 의미있게 잘 되었다. 결론적으로 Pro12Ala 유전자 다형성은 rosiglitazone에 대한 약물 반응에 대해 예측할 수 있는 유전 인자로 작용할 수 있는 가능성을 보여주었다.

참고문헌

1. Lee CH, Olson P, Evans RM. Minireview : Lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology* 2003;144:2201-2207.
2. Tack CJ, Demacker PN, Smits P, Stalenhoef AF. Troglitazone decreases the proportion of small, dense LDL and increases the resistance of LDL to oxidation in obese subjects. *Diabetes Care* 1998;21:796-799.
3. Ristow M, Muller-Wieland D, Pfeiffer A, Krone W, Kahn CR. Obesity associated with a mutation in a genetic regulator of adipocyte differentiation. *N Eng J Med* 1998;339:953-959.
4. Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, Agostini M, Schwabe JW, Soos MA, et al. Dominant negative mutations in human PPAR-gamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature* 1999;402:880-883.

5. Stumvoll M, Harling H. The peroxisome proliferators-activated receptor- γ 2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes* 2002;51:2341-2347.
6. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, et al. A Pro12Ala substitution in PPAR γ 2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998;20:284-287.
7. Beamer BA, Yen CJ, Andersen RE, Muller D, Elahi D, Cheskin LJ, et al. Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes* 1998;47:1806-1808.
8. Valve R, Sivenius K, Miettinen R, Pihlajamaki J, Rissanen A, Deeb SS, et al. Two polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene are associated with severe overweight among obese women. *J Clin Endocrinol*

Metab 1999;84:3708–3712.

9. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, et al. The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. Nat Genet 2000;26:76–80.
10. Clement K, Hercberg S, Passinge B, Galan P, Varroud-Vial M, Shuldiner AR, et al. The Pro115Gln and Pro12Ala PPAR gamma gene mutations in obesity and type 2 diabetes. Int J Obesity Relat Metab Disord 2000;24:391–393.
11. Lindi V, Siveniues K, Niskanen L, Laakso M, Uusitupa M. Effect of Pro12Ala polymorphism of PPAR γ 2 gene long-term weight change in Finnish non-diabetic subjects. Diabetologia 2001;44:925–926.
12. Nicklas BJ, Rossum EFC, Berman DM, Ryan AS, Dennis KE, Shuldiner AR. Genetic variation in the peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene (Pro12Ala) affects

metabolic responses to weight loss and subsequent weight regain. *Diabetes* 2001;50:2172-2176.

13. Ek J, Andersen G, Urhammer SA, Hansen L, Carstensen B, Borch-Johnson K, et al. Studies of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2) gene in relation to insulin sensitivity among glucose tolerant Caucasians. *Diabetologia* 2001;44:1170-1176.

14. Chuang L-M, Hsueh W, Chen Y-DI, Ho LT, Sheu WHH, Pei D, et al. Sibling-based association study of the PPAR γ 2 Pro12Ala polymorphism and metabolic variables in Chinese and Japanese hypertension families: a SAPPHIRr study. *J Mol Med* 2002;79:656-664.

15. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM (review). *Diabetes* 1997;46:3-10.

16. Hara K, Okada T, Tobe K, Yasuda K, Mori Y, Kadowaki H, et

al. The Pro12Ala polymorphism in PPAR γ 2 may confer resistance to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271:212-216.

17. Oh EY, Min KM, Chung JH, Min YK, Lee MS, Kim KW, et al. Significance of Pro12Ala mutation in peroxisome proliferators-activated receptor- γ 2 in Korean diabetic and obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1801-1804.

18. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473-2476.

19. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000;102:1296-1301.

20. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A,

Okamoto Y et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001;103:1057-1063.

21. Yang WS, Matsuzawa Y, Jeng CY, Wang JP, Wu TJ, Chen CL, et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients. *Diabetes care* 2002;25:376-380.

22. 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.

23. Iwamoto Y, Kosaka K, Kuzuya T, Akanuma Y, Shigeta Y, Kaneko T. Effects of troglitazone: a new hypoglycemic agent in patients with NIDDM poorly controlled by diet therapy. *Diabetes Care* 1996;19:151-156.

24. Spiegelman BM. PPAR- γ : adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor (review). *Diabetes* 1998;47:507-514.
25. Douglas JA, Erdos MR, Watanabe RM, Braun A, Johnston CL, Oeth P, et al. Brief genetics report: The peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 Pro12Ala variant association with type 2 diabetes and trait differences. *Diabetes* 2001;50:886-890.
26. Auwerx J. PPAR γ , the ultimate thrifty gene. *Diabetologia* 1999;41:1033-1049.
27. Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPAR γ gene. *J Biol Chem* 1997;272:18779-18789.
28. Swarbrick MM, Chapman CML, McQuillan BM, Hung J, Thompson PL, Beilby JP. A Pro12Ala polymorphism in the

human peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. European Journal of Endocrinology 2001;144:277-282.

29. 서영성, 김대현, 김승기, 이인규, 김홍식. 한국인 비만자에서 PPAR γ 2 유전자 Pro12Ala 다형성과 체지방 분포. 대한비만학회지 2001;10:174-181.

30. Bluher M, Lubben G, Paschke R. Analysis of the relationship between the Pro12Ala variant in the PPAR- γ 2 gene and the response rate to therapy with pioglitazone in patients with type 2 diabetes. Diabetes care 2003;26:825-831.

31. Edelman SV. Troglitazone: a new and unique oral anti-diabetic agent for the treatment of type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome. Clin Diabetes 1997;45:60-65.

32. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. Biochem Biophys Res Commun

1999;257:79-83

33. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1595-1599.
34. Weyer C, Funahashi, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1930-1935.
35. Hirose H, Kawai T, Yamamoto Y, Taniyama M, Tomita M, Matsubara K, et al. Effects of pioglitazone on metabolic parameters, body fat distribution, and serum adiponectin levels in Japanese male patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51:314-317.
36. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Murakami K, Motojima K,

Komeda K, et al. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) deficiency and PPAR γ agonist improve insulin resistance. The journal of biological chemistry 2001;276:41245-41254.

Abstract

The influence of the PPAR γ 2 gene polymorphism on the treatment response of rosiglitazone in patients with type 2 diabetes.

So Young Park

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Hyun Chul Lee)

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) regulates the transcription of adipocyte-specific genes and is involved in adipocyte differentiation and glucose homeostasis. Mechanisms of the thiazolidinedione (TZD) of insulin-sensitizing effects are mediated by PPAR γ . Pro12Ala polymorphism in PPAR γ 2 gene has been reported to be associated with body mass index, insulin sensitivity, and diabetes mellitus.

We investigated the effects of PPAR γ 2 gene variants on the

blood glucose response and serum adiponectin level by rosiglitazone treatment in patients with type 2 diabetes (T2DM).

A total of 164 T2DM patients were treated with rosiglitazone (4 mg/day) for 3 months. Previous medications were not changed. We checked clinical and metabolic parameters and serum adiponectin level before and after 3 month treatment. We analyzed the association between the PPAR γ 2 genotype and the blood glucose response and serum adiponectin level.

The PPAR γ 2 genotype distribution was as following. 154 patients (94%) had Pro12Pro, 10 patients (6%) had Pro12Ala, and there was no Ala12Ala genotype. The allele frequency of the Pro12Ala PPAR γ 2 variant was 0.03. After 3-month treatment with rosiglitazone, fasting plasma glucose was decreased by 58.8 ± 29.7 mg/dl ($p=0.004$) and HbA1c by $1.72 \pm 1.74\%$ ($p=0.014$) in patients with Pro12Ala variant compared with Pro12Pro variant (23.4 ± 52.6 mg/dl, $0.58 \pm 1.81\%$ respectively). In both groups, serum adiponectin levels were increased after 3-month treatment. But there was no statistical difference between both groups ($p=0.482$).

Subjects with Pro12Ala genotype showed greater blood

glucose lowering response compared with Pro12Pro variant. We suggest that the Pro12Ala polymorphism in PPAR γ 2 gene may be a predictable genetic marker for the drug-treatment response of rosiglitazone.

Key Words : PPAR γ 2, pharmacogenomics, rosiglitazone,

Pro12Ala