제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 유전자 다형성이 당뇨병성 미세혈관 합병증에 미치는 영향

연세대학교 대학원
의 학 과
박 종 숙

제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 유전자 다형성이 당뇨병성 미세혈관 합병증에 미치는 영향

지도교수 김 경 래

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2004 년 12 월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

박 종 숙

박종숙의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2004 년 12 월 일

감사의 글

먼저 본 논문의 연구 계획에서 완성에 이르기까지 전 과정을 무사히 마칠 수 있도록 지도편달해 주시고 조언을 아끼지 않으신 김경래 선생님께 감사드리며 연구의 적절한 방향과 문제점을 제시해주신 안철우 선생님, 이명식 선생님께도 진심으로 감사와 존경을 표합니다.

연구를 진행하는 동안 많은 도움을 주었던 내분비 식구, 김똘미 선생님, 민호, 진아에게도 고마운 마음을 전하고 의국 동기인 병승, 영, 철식, 주영, 희정, 덕용, 태희, 재필에게도 진심으로 감사드립니다.

마지막으로 저를 위해 매일 기도해 주시는 부모님, 시부모님, 사랑하는 남편과 아들에게 이 논문을 바칩니다.

저자 씀

차례

그림 및 표 차례

국문요약 1

I. 서론 3

II. 대상 및 방법 5

1. 연구대상 5

2. 연구방법 5

가. 신체 계측 및 임상적 특성 조사 5

나. 생화학적 특성 조사 5

다. Apo E 유전자형의 결정 6

라. ACE 유전자형의 결정 7

마. 인슐린 저항성 검사 7

바. 당뇨미세혈관 합병증 검사 8

(1) 당뇨병성 신증에 대한 검사 8

(2) 당뇨병성 망막병증에 대한 검사 8

(3) 당뇨병성 신경병증에 대한 검사 8

사. 통계학적 검사 8

III. 결과 10

1. Apo E 유전자형에 따른 빈도 10
2. Apo E 아형에 따른 각 환자군의 특징 10
3. Apo E 아형에 따른 혈청 지질의 차이 11
4. Apo E 아형과 인슐린 저항성과의 관계 12
5. Apo E 아형과 당뇨병성 신증과의 관계 13
6. Apo E 아형과 당뇨병성 망막병증과의 관계 14
7. Apo E 아형과 당뇨병성 신경병증과의 관계 14
8. ACE 유전자형에 따른 빈도 및 임상적 특성 15
9. ACE 아형과 당뇨병성 신증과의 관계 15
10. ACE 아형과 당뇨병성 망막병증과의 관계 16
11. ACE 아형과 당뇨병성 신경병증과의 관계 18
12. Apo E 유전자형 및 ACE 유전자형간의 상호 작용 18
IV. 고찰 20
V. 결론 25
참고문헌 26
영문요약 33

그림 차례

그림 1. 제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 빈도 ———————10

그림 2. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 신증 빈도수 ————13

그림 3. ACE 아형에 따른 당뇨병성 신증 빈도수 ————16

표 차례

표 1. 대상자들의 임상적 특성———————————11

표 2. Apo E 아형에 따른 혈청 지질 ———————————12

표 3. Apo E 아형에 따른 HOMA-IR ———————————12

표 4. Apo E 아형에 따른 현성 신증 여부의 로지스틱 회귀분석———————————14

표 5. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 망막병증의 빈도수 ———————————14

표 6. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 신경병증의 빈도수 ——— 15
표 7. ACE 유전자형에 따른 각 아형의 빈도 및 임상적 특성 ——— 17
표 8. ACE 아형에 따른 당뇨병성 망막병증의 빈도수 ——— 17
표 9. ACE 아형에 따른 당뇨병성 망막병증의 빈도수 ····· 18
표 10. 현성 당뇨병성 신증에 대한 Apo E 유전자형 및 ACE 유전자형간의 상호 작용 ····· 19

국문요약

제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 유전자 다형성이 당뇨병성 미세혈관 합병증에 미치는 영향

목적: 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 하여 apo E 유전자 및 ACE 유전자 다형성을 조사함으로써 당뇨병에 동반된 미세혈관 합병증에 미치는 영향을 알아보고 apo E 유전자와 혈중 지질 (remnant lipoproteins 포함) 및 인슐린 저항성과의 상관 관계를 밝히고자 한다.

대상 및 방법: 영동세브란스병원 내분비대사 내과 외래를 방문한 제 2 형 당뇨병 환자 중 유병기간 8 년 이상인 118 명을 대상으로 하였다. Apo E 유전자 및 ACE 유전자형에 따라 분류하여 임상적 및 생화학적 특성을 조사하였고 당뇨병성 미세혈관 합병증을 검사하였다.

결과: Apo E 아형에 따른 혈청 지질은 E2 군에서 중성지방이 높았으며 E4 군이 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤이 높았다. Apo E 아형에 따른 미세혈관 합병증 여부는 당뇨병성 망막병증 및 신경병증과는 유의한 차이를 보이지 않았으나 E2 군이 당뇨병성 신증의 빈도가 높았고 ACE 아형에 따른 임상적 특성 및 미세혈관 합병증의 유의한 차이는 없었다. 당뇨병성 신증에 대해 apo E 유전자형 및 ACE 유전자형간의 상호 작용은 없었다.

결론: Apo E2 유전자형이 당뇨병성 신증과 양의 상관 관계를 가지는 위험 요인이며 중성지방이 이에 관여하는 인자로 생각된다.

핵심되는 말: Apo E 유전자, ACE 유전자, 제 2 형 당뇨병, 당뇨병성 미세혈관 합병증

제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 유전자 다형성이 당뇨병성 미세혈관 합병증에 미치는 영향

<지도교수 **김경래**>

연세대학교 대학원 의학과

박 종 숙

I. 서 론

과학문명의 발달과 급속한 경제성장에 따른 서구화 및 산업화의 영향은 개발도상국인 우리나라에서도 당뇨병과 비만증의 급격한 증가를 불러 왔는데 1970 년에는 1% 미만이라고 추정되던 당뇨병의 유병율이 현재는 총 환자수 150-200 만 이상으로 추정되고, 이러한 추세는 향후 10-20 년간 지속될 것으로 예상되어 당뇨병은 우리나라 보건 의료상 가장 중요한 질병의 하나로 대두되고 있다 [1]. 그러나 당뇨병의 합병증의 기전이 아직도 정확히 규명되어 있지 않은 실정이다. 그 중에 당뇨병성 신증, 망막병증, 신경병증과 같은 미세혈관 합병증은 삶의 질을 저하시키고 이환율과 사망률을 증가시키는 주요한 원인이 되고 있다.

따라서 미세혈관 합병증의 병인을 규명하여 발생을 예방하는 것은 매우 시급한 과제이다. 고혈당이 당뇨병성 신증의 발생에 중요한 역할을 하지만 역학 및 가족력 조사를 통해 유전적 요인도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 [2]. 또한 지질 대사의 이상이 당뇨병성 신증의 발생에 관여한다는 보고도 있다 [3]. 따라서 지질 대사를 조절하는 유전자가 당뇨병성 신증을 일으키는데 관여하는 유전자 중의 하나로 여겨지며 이중 apolipoprotein E (apo E) 유전자 다형성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다 [4,5].

현재까지 apo E 유전자 다형성과 제 1 형 및 제 2 형 당뇨병 환자에서 당뇨병성 신증에 관한 연구가 많이 진행중이나 명확히 결론이 나지 않았다. 알려진 바에 따르면 연관성이 없다는 보고가 있고 [6,7] e2 allele 와 당뇨병성 신증과 관련이 있다는 보고도 있으며 [8-10] e4 allele 와 당뇨병성 신증, 망막병증 및 신경병증과 연관이 있다는 보고도 있다 [11-14]. 특히 apo E 유전자와 혈중 지질 (remnant lipoproteins 포함)과의 연관성을 근거로 당뇨병성 신증의 발생 및 진행을 설명하려는 시도는 있으나 [10] 이러한 관련성을 설명할 수 있는 명백한 기전은 제시하지 못하고 있다. 그 외에 당뇨병성 신증에 연관된 유전자로는 ACE 유전자 다형성이 연구되는 중이며 연관성이 없다고 보고된 연구도 있고 [15,16] ID 군 및 DD 군과 당뇨병성 신증의 병인기전과 관련성이 보고된 것도 있다 [17-20].

한국인 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 당뇨병성 신증과 유전적 요인과의 관련성에 대한 연구는 거의 없는 실정이므로 [21,22] 이번 연구에서 이환 기간이 8 년 이상인 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 하여 apo E 유전자 및 ACE 유전자 다형성을 조사함으로써 당뇨병에 동반된 미세혈관 합병증에 미치는 영향을 알아보고 실제로 관련이 있다면 두 유전자가 미세혈관 합병증 발생에 상승 효과가 있는지 알아보고자 한다. 끝으로 apo E 유전자와 혈중 지질 (remnant lipoproteins 포함)[10,23,24] 및 인슐린 저항성과의 [25,26] 상관 관계를 밝힘으로써 미세혈관 합병증의 기전을 규명하고 나아가 병인에 근거한 새로운 치료 지침을 제시하는데 기반이 되고자 한다.

II. 대상 및 방법

1. 연구 대상

2003 년 4 월부터 2003 년 12 월까지 연세대학교 의과대학 영동세브란스 병원 내분비대사 내과 외래를 방문한 제 2 형 당뇨병 환자 중 유병기간 8 년 이상인 118 명을 대상으로 하였다. 혈압약을 복용하거나 혈압이 130/85 mmHg 이상인 경우 고혈압으로 정의하였고 고지혈증 치료제를 복용하고 있는 경우 채혈하기 2 주전에 복용을 중지시키고 검사를 진행하였다.

2. 연구 방법

가. 신체 계측 및 임상적 특성 조사

(1) 신체 계측:
신체 계측으로 신장과 체중을 측정하고 체질량 지수는 다음 공식을 이용하여 산출하였다.
체질량 지수[27](BMI, kg/m^2) = Bwt(kg)/Ht$(m)^2$

(2) 임상적 특성 조사:
수축기 및 이완기 혈압 측정, 당뇨병의 유병 기간, 동반된 질환 및 복용하고 있는 약제 등을 조사하였다.

나. 생화학적 특성 조사

(1) 생화학적 검사:

혈액 검사를 위해 12 시간 금식을 유지한 후 아침 공복에 혈액을 채취하였다. 혈당은 포도당 산화 효소법으로, C-peptide 와 인슐린은 방사면역법으로 각각 측정하였고 당화혈색소는 high performance liquid chromatography 를 이용했다. 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 콜레스테롤, Lp(a)를 측정하였고 LDL 콜레스테롤은 Friedewald 공식을 이용해 다음과 같이 계산하였다[28].

LDL 콜레스테롤(mg/dL)= 총 콜레스테롤 - HDL 콜레스테롤 - 중성지방/5

(2) Remnant lipoprotein

Nakajima의 방법을 이용하여 측정하였다[29]. 12시간 금식을 유지한 후 아침 공복에 채혈한 혈액을 EDTA plasma (1 mg/mL EDTA)에 넣고 혈청만 분리한 후 -70℃에 냉동 보관하였다. 해동한 혈청을 human apo A1과 apo B 100 단클론항체가 포함된 gel column을 통과시킨 다음 이에 결합되지 않는 albumin과 apo E가 풍부한 지단백을 PBS 용액 (mmol/L:138 NaCl, 2.7 KCL, 8.1 $NaHPO_4$, 1.1 KH_2PO_4, pH 7.4)에 섞고 원심분리하여 (d<1.006) remnant lipoprotein을 분리한 후 Hitachi 747 분석기 (Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 효소학적 방법으로 농도를 측정하였다.

다. Apo E 유전자형의 결정

Hixon 의 방법에 따라 검사를 진행하였다 [30]. DNA 추출은 Easy DNA kit (Invitrogen Inc, San Diego, CA, USA)를 사용하였으며 말초혈액 0.2 mL 에서 DNA 를 추출한 후 HhaI restriction endonuclease 로 apo E genomic DNA fragment 를 준비한 후 dNTP (Pharmacia Biotech), 0.2 mM F4 (5'-ACA GAA TTC GCC CCG GCC TGG TAC AC-3 '), 0.2 mM F6 (5'-TAA GCT TGG CAC GGC TGT CCA AGG A-3') primer, 0.2 uM genomic DNA, 100 ng $MgCl_2$, 2 mM KCL, 50 mM Tris HCl 용액에 섞었다. 95℃ 에서 5 분간 denaturation 하고 72℃ 에서 1.5U 의 Taq polymerase (Perkin Elmer)를

섞었다. 95℃ 에서 40 초간, 60℃ 에서 30 초간, 72℃ 에서 30 초간 35 회 amplification 하고 72℃ 에서 10 분간 last extension 을 시행한 후 종료하였다. PCR 생성물은 4% metaphor TM agarose 와 ethidium bromide gel 을 이용해서 유전자형을 결정하였다. 여섯 가지 유전자형을 확인 후 E2 군, E3 군, E4 군으로 나누어 비교 분석하였다.

라. ACE 유전자형의 결정

DNA 추출은 Easy DNA kit (Invitrogen Inc, San Diego, CA, USA)를 사용하였으며 말초혈액 0.2mL 에서 DNA 를 추출한 후 각 DNA 의 농도는 spectrophotometer 260 nm (λ)에서 측정하였다 [31]. ACE 유전자의 insertion/deletion (I/D) 다형성은 ACE 유전자의 intron 16 에 위치한 287 base pair (bp)의 존재 유무를 polymerase chain reaction (PCR)을 이용하여 결정하였다. Thermocycler (Perkin Elmer 9600, Foster City, CA, USA)를 이용하여 predenaturation 을 94℃ 에서 45 초, primer annealing 을 65℃ 에서 45 초, 그리고 extension 을 72℃ 에서 45 초의 과정을 30 회 시행하고 72℃ 에서 5 분간 last extension 을 시행한 후 종료하였다. PCR 생성물은 ethidium bromide 가 포함된 2% agarose gel 에서 전기영동한 후 UV transilluminator 를 이용하여 판독하였다. Primer 로 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3' 와 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3' 을 이용하여 PCR product 를 확인하여 190 bp fragment 를 deletion (D), 490 bp fragment 를 insertion (I)으로 판독하였다. ID 형이 DD 형으로 판독되는 것을 피하기 위해 dimethyl sulfoxide 를 7.5% 농도로 사용하였다. 전 환자를 ACE 유전자형에 따라 II 군, ID 군, DD 군으로 나누어 각각 비교 분석하였다.

마. 인슐린 저항성 검사

인슐린 저항성을 측정하기 위해 homeostatic model 을 사용하였다.

HOMA-IR[32] = fasting insulin X glucose/22.5

바. 당뇨미세혈관 합병증 검사:

(1) 당뇨병성 신증에 대한 검사

검사 당일 급성 질환이 있거나 심한 운동을 하였을 경우 또는 월경중인 경우는 제외하고 24 시간 소변을 모아 BCG (Dye binding/Bromcresol Green) 방법을 이용해 알부민 배설량을 측정하였다 (Hitachi 7600-100, Hitachi, Japan). 30 mg/day 이하로 배설한 경우 정상군, 30 mg/day 에서 300 mg/day 의 배설량을 보이는 경우 미세알부민뇨군, 300 mg/day 이상으로 배설하는 경우 거대알부민뇨군, 혈청 크레아티닌이 1.5 mg/dL 이상일 때도 현성 신증이 있는 것으로 분석 하였다.

(2) 당뇨병성 망막병증에 대한 검사

본원 안과에서 안과 협진을 통해 안저 검사를 시행하였고 정도에 관계없이 망막병증의 유무로 분류하였다.

(3) 당뇨병성 신경병증에 대한 검사

상지의 정중 신경과 하지의 비복신경에서 전달 속도 및 감각 전위 진폭을 측정하여 신경병증의 유무를 판단하였다.

사. 통계학적 검사

모든 통계는 평균 ± 표준편차로 나타냈으며 apo E 유전자 다형성 (E2, E3, E4) 및 ACE 유전자 다형성에 따른 각군간의 임상적 및 생화학적 차이 (연령, 성별, 고혈압, 혈당, 당화혈색소, 혈중지질, remnant lipoprotein, 혈당 조절 방법 등) 및 미세혈관 합병증 (당뇨병성 신증, 망막병증, 신경병증)의 차이를 one way ANOVA 및 chi-square 검정을 이용하여

검증하였다. 현성 당뇨병성 신증에 apo E 유전자 다형성이 미치는 영향을 분석하기 위해 로지스틱 회귀분석을 시행하였고 odds ratio 는 연령, 성별, 체질량지수, 당화혈색소, 혈압을 보정 후에 계산하였다. 통계 분석은 SPSS for windows 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였고 P 값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의하다고 평가하였다.

III. 결과

1. Apo E 유전자형에 따른 각 apo E 아형의 빈도

제 2 형 당뇨병 환자 118 명의 apo E 유전자 분석에 따른 아형의 빈도는 15 명이 E2 형 (E2/3, 12.7%), 84 명이 E3 형 (E3/3, 71.2%), 19 명이 E4 형 (E4/3, 16.1%)이고 대상자중 E2/2, E4/4, E4/2 아형의 환자는 없었다. E3 형이 가장 빈도가 높았고 E2 형이 가장 빈도가 낮았으며 이는 이전의 연구 보고에서 발표했던 빈도와 유사하였다 [33] (그림 1). Apo E 유전자 다형성의 분포에서 Hardy-Weinberg equilibrium 을 충족하였다.

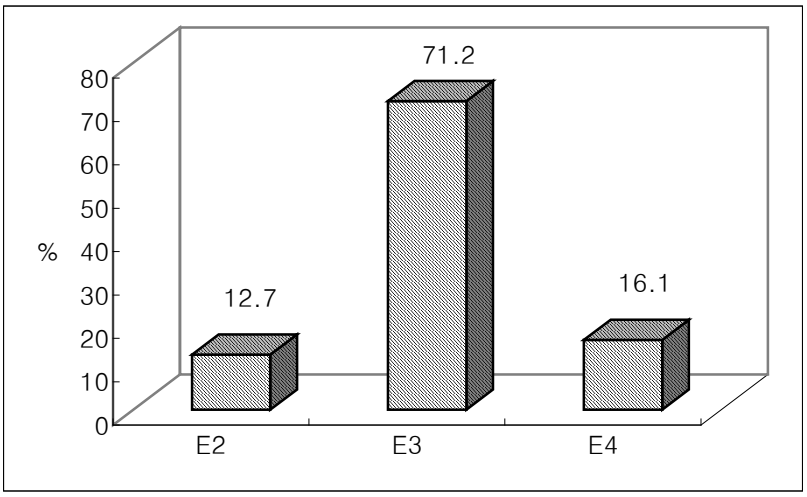


그림 1. 제 2 형 당뇨병 환자에서 Apo E 빈도.

2. Apo E 아형에 따른 각 환자군의 특성

본 연구에 참여한 E2, E3, E4 세군의 연령, 이환 기간에 유의한 차이는 없었으며 체질량 지수에서도 차이가 없었다. 공복 혈당, 혈청 인슐린, C-peptide, 당화혈색소 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았고 고혈압의 빈도는 E2 군에서 높아보이지만 통계학적으로 의미가 없었다 (표 1).

표 1. 대상자들의 임상적 특성

	E2	E3	E4
No (M/F)	15 (5/10)	84 (39/45)	19 (10/9)
Treatment (D/O/I)	0/2/13	5/13/66	2/12/15
Age (yrs)	62.53 ± 10.91	59.33 ± 9.25	59.53 ± 10.29
Duration (yr)	14.0 ± 4.04	14.61 ± 5.29	12.53 ± 3.01
BMI (kg/m^2)	24.11 ± 2.31	24.69 ± 2.91	23.99 ± 2.74
FBG (mg/dL)	179.07 ± 55.32	158.21 ± 5.20	159.05 ± 46.96
C-peptide (ng/mL)	2.39 ± 1.00	2.27 ± 1.23	2.30 ± 1.16
Insulin (uIU/mL)	8.67 ± 4.76	9.88 ± 9.35	6.12 ± 2.93
HbA1c (%)	8.82 ± 1.55	8.67 ± 1.93	8.51 ± 1.93
Hypertension (%)	53.3	48.8	42.1

Values are the means ± SD except for the frequency data. D, diet therapy; O, oral hypoglycemic agents; I, insulin; BMI, body mass index; FBG, fasting blood glucose.

3. Apo E 아형에 따른 혈청 지질의 차이

총 콜레스테롤은 E4 군이 E2 군에 비해 유의하게 높았으며 ($P<0.05$) LDL 콜레스테롤은 E4 군>E3 군>E2 군 순으로 차이를 보였고 ($P<0.01$) HDL 콜레스테롤은 세 군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 중성지방은 E2 군이 E3 및 E4 군에 비해 높았고 ($P<0.05$) RLP (remnant lipoprotein)및 Lipoprotein(a)는 E2 군이 높아 보이나 통계학적으로 차이는 없었다 (표 2).

표 2. Apo E 아형에 따른 혈청 지질

	E2	E3	E4
Total cholesterol (mg/dL)	177.8 ± 40.8	191.6 ± 34.4	212.5 ± 26.2*
LDL cholesterol (mg/dL)	89.9 ± 30.9	117.3 ± 31.7	134.3 ± 30.6†
HDL cholesterol (mg/dL)	45.1 ± 10.4	44.0 ± 10.5	46.0 ± 11.3
TG (mg/dL)	202.5 ± 105.6‡	153.6 ± 57.6	140.6 ± 46.7
RLP (mg/dL)	8.71 ± 6.96	6.87 ± 3.80	6.82 ± 3.90
Lipoprotein(a) (mg/dL)	24.7 ± 29.9	21.2 ± 24.6	11.9 ± 10.6

Values are the means ± SD. *: P < 0.05 versus apo E2, †: P < 0.01 versus apo E2 and E3, ‡: P < 0.05 versus apo E3 and E4.

신기능의 저하가 지질 농도에 미치는 영향을 배제하기 위해 정상군과 미세알부민뇨군만을 대상으로 혈청 지질 및 RLP 을 비교해 보니 중성지방은 E2 군이 E3 및 E4 군에 비해 높았고 (P<0.05) RLP 은 E2 군이 높아 보이나 통계학적으로 차이는 없었다. 총 콜레스테롤은 E4 군이 높았고 LDL 콜레스테롤은 E4 군>E3 군>E2 군 순으로 차이를 보이는 (P<0.05) 동일한 결과가 나왔다.

4. Apo E 아형과 인슐린 저항성과의 관계

인슐린 저항성을 비교하기 위해 측정한 HOMA-IR 은 E2 군, E3 군, E4 군 순이었으나 통계학적으로 차이를 보이지 않았다 (표 3).

표 3. Apo E 아형에 따른 HOMA-IR

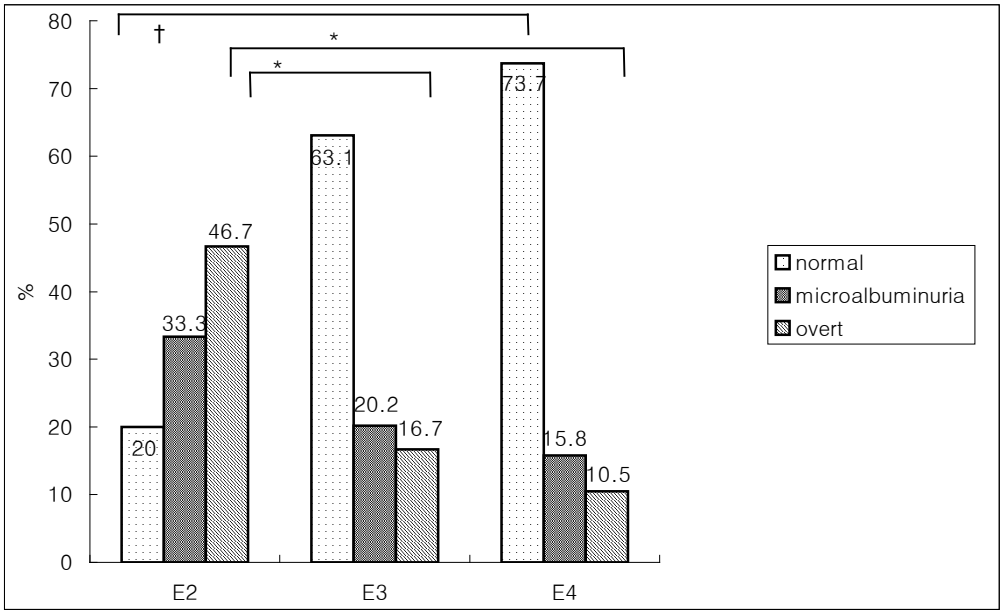
	E2	E3	E4	P value
HOMA-IR	3.41 ± 1.90	2.94 ± 1.73	2.34 ± 1.22	0.184

Values are the means ± SD

5. Apo E 아형과 당뇨병성 신증과의 관계

Apo E 아형에 따른 당뇨병성 신증의 빈도는 정상군, 미세알부민뇨군, 현성 신증군이 E3 군은 각각 63.1%, 20.2%, 16.7%였고 E2 군은 20.0%, 33.3%, 46.7%였다. E4 군은 73.7%, 15.8%, 10.5%로 현성 신증의 빈도는 E2 군이 E3 와 E4 군보다 더 높고 (P<0.05) 정상군은 E4 군이 E2 군보다 많았으나 E3 군과는 유의한 차이를 보이지 않았다 (P<0.05,P=0.276)(그림 2).

현성 신증이 있는 apo E3 군의 odds ratio 를 1 로 가정하고 연령, 성별, 체질량 지수, 당화혈색소, 혈압을 보정후에 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 apo E2 군 및 E4 군의 odds ratio 는 4.779 와 0.643 이었다 (P=0.009, P=0.583)(표 4).



*: P < 0.05, †: P < 0.01

그림 2. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 신증 빈도수.

표 4. Apo E 아형에 따른 현성 신증 여부의 로지스틱 회귀분석

	Odds ratio (95% CI)	P value
E3	1.000	
E2	4.779 (1.447-15.461)	0.009
E4	0.643 (0.132-3.119)	0.583

CI, confidence interval

6. Apo E 아형과 당뇨병성 망막병증과의 관계

Apo E 아형에 따른 각 군간의 당뇨병성 망막병증의 발생 빈도에 있어서 서로 유의한 차이는 없었다 (표 5).

표 5. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 망막병증의 빈도수

	Retinopathy (-)	Retinopathy (+)
E2	50.0%	50.0%
E3	53.0%	47.0%
E4	57.6%	42.4%

P > 0.05, by analysis of variance test

7. Apo E 아형과 당뇨병성 신경병증과의 관계

당뇨병성 신경병증의 발생 빈도는 E2, E3, E4 군 순으로 91.7%, 63.2%, 53.3%이나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다 (표 6).

표 6. Apo E 아형에 따른 당뇨병성 신경병증의 빈도수

	Neuropathy (-)	Neuropathy (+)
E2	8.3%	91.7%
E3	36.8%	63.2%
E4	46.7%	53.3%

P > 0.05, by analysis of variance test

8. ACE 유전자형에 따른 각 아형의 빈도 및 임상적 특성

본 연구에 참여한 II, ID, DD 세 군의 빈도수는 36.4%, 39.8%, 23.8%였고 연령, 이환 기간에 유의한 차이는 없었으며 체질량 지수에서도 차이가 없었다. 공복 혈당, 혈청 인슐린, C-peptide, 당화혈색소 농도의 유의한 차이는 관찰되지 않았고 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방, RLP (remnant lipoprotein)및 Lipoprotein(a)도 유의한 차이를 보이지 않았다. 고혈압의 빈도는 ID 군에서 높아보이지만 통계학적으로 의미가 없었다 (표 7).

9. ACE 아형과 당뇨병성 신증과의 관계

ACE 아형에 따른 각 군간의 당뇨병성 신증의 발생 빈도에 있어서 서로 유의한 차이는 없었다 (그림 3).

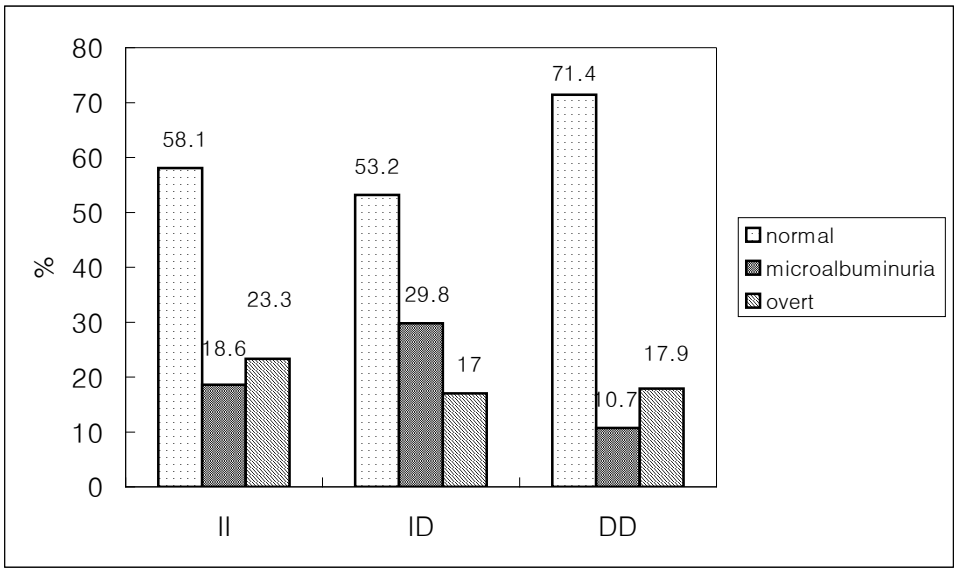


그림 3. ACE 아형에 따른 당뇨병성 신증 빈도수.

10. ACE 아형과 당뇨병성 망막병증과의 관계

ACE 아형에 따른 각 군간의 당뇨병성 망막병증의 발생 빈도에 있어서 서로 유의한 차이는 없었다 (표 8).

표 8. ACE 아형에 따른 당뇨병성 망막병증의 빈도수

	Retinopathy (-)	Retinopathy (+)
II	58.1%	41.9%
ID	58.3%	41.7%
DD	56.0%	44.0%

P > 0.05, by analysis of variance test

표 7. ACE 유전자형에 따른 각 아형의 빈도 및 임상적 특성

	II	ID	DD
No (%)	43 (36.4)	47 (39.8)	28 (23.8)
Age (yrs)	59.69 ± 9.77	60.34 ± 10.58	58.89 ± 7.95
Duration (yr)	13.88 ± 4.56	14.53 ± 4.82	14.07 ± 5.47
BMI (kg/m^2)	24.85 ± 2.46	24.52 ± 3.22	24.11 ± 2.20
FBG (mg/dL)	169.0 ± 51.05	157.6 ± 50.65	156.5 ± 41.22
Insulin (uIU/mL)	7.15 ± 3.84	9.70 ± 8.71	11.22 ± 11.44
C-peptide (ng/mL)	2.09 ± 0.94	2.39 ± 1.33	2.42 ± 1.26
HbA1c (%)	8.56 ± 1.90	8.81 ± 1.95	8.68 ± 1.73
Total cholesterol (mg/dL)	198.3 ± 40.6	186.4 ± 34.5	196.6 ± 26.4
LDL cholesterol (mg/dL)	122.1 ± 37.4	110.4 ± 32.5	117.7 ± 27.7
HDL cholesterol (mg/dL)	44.24 ± 9.58	43.19 ± 10.58	47.07 ± 11.93
TG (mg/dL)	159.6 ± 75.2	155.6 ± 61.2	159.9 ± 61.2
RLP (mg/dL)	7.61 ± 5.13	6.85 ± 3.81	6.70 ± 3.86
Lipoprotein(a) (mg/dL)	22.90 ± 28.20	21.58 ± 24.80	14.70 ± 13.47
Hypertension (%)	38.1	55.3	50.0

Values are the means ± SD except for the frequency data. BMI, body mass index; FBG, fasting blood glucose.

11. ACE 아형과 당뇨병성 신경병증과의 관계

ACE 아형에 따른 각 군간의 당뇨병성 신경병증의 발생 빈도는 서로 유의한 차이는 없었다 (표 9).

표 9. ACE 아형에 따른 당뇨병성 신경병증의 빈도수

	Neuropathy (-)	Neuropathy (+)
II	39.4%	60.6%
ID	39.5%	60.5%
DD	30.8%	69.2%

P > 0.05, by analysis of variance test

12. Apo E 유전자형 및 ACE 유전자형간의 상호 작용

당뇨병성 신증의 발생에 Apo E 유전자형 및 ACE 유전자형의 다형성이 상호 작용으로 인한 상승 효과가 있는지 알아보기 위해 현성 당뇨병성 신증의 유무를 각 유전자형의 조합에 따라 빈도수를 분석한 결과 상승 효과가 없는 것으로 나왔다 (표 10).

표 10. Apo E 유전자형 및 ACE 유전자형간의 상호 작용

유전자형 조합	No (명)	Nephropathy (-)	Nephropathy (+)
E2/II	7	3 (42.9%)	4 (57.1%)
E2/ID/DD	8	5 (62.5%)	3 (37.5%)
E3/II	28	23 (82.1%)	5 (17.9%)
E3/ID/DD	56	48 (85.7%)	8 (14.3%)
E4/II	8	7 (87.5%)	1 (12.5%)
E4/ID/DD	11	17 (90.9%)	2 (9.1%)

$P > 0.05$, by analysis of variance test

IV. 고찰

당뇨병의 문제는 유병율의 급증에만 있는 것이 아니라 이미 우리나라 에서도 중요한 사망원인의 질병으로서 자리매김하고 있으며 당뇨병의 합병증의 양상도 변화되어 과거에는 감염이나 급성 대사성 합병증 등이 주된 문제였으나, 점차 후기 미세혈관 합병증 및 가속화된 동맥경화로 기인한 대혈관 합병증이 중요한 문제로 대두되고 있다.

미세혈관 합병증의 병인으로 고려되는 유전자중 하나인 Apo E 는 299 개 의 아미노산 당단백질로 구성되어 있으며 지질 대사에 중요한 역할을 하고 있다. Apo E 유전자의 exon 4 내의 3 개의 allele (e2, e3, e4)에 의해 E2, E3, E4 세 개의 동종 형태로 표현된다 [5]. 정상형인 E3 가 가장 흔하고 E3 의 단일 아미노산기의 치환에 따라 E2 와 E4 의 변이형이 발생 된다. E2, E3, E4 의 아형들은 각각 순수형 (E2/2, E3/3, E4/4)과 혼합형 (E2/3, E3/4, E4/2)으로 존재한다. Apo E 정상형인 E3 의 아미노산 배열이 112 번에 cysteine, 158 번에 arginine 이 위치하는 반면 apo E 변이형인 E4 형은 112 번에 cysteine 대신 arginine 이 위치하고 E2 형은 158 번에 arginine 대신 cysteine 이 위치한다.

본 연구에서 제 2 형 당뇨병 환자들의 apo E 유전자 아형의 빈도는 E3 군이 E2 군, E4 군보다 높았으며 이러한 결과는 이전의 연구 보고와 유사하다. 강 등의 보고에 따르면 우리나라 정상인의 E2, E3, E4 군의 상대 빈도수가 각각 3.1%, 90.8%, 6.1%인데 반해 제 2 형 당뇨병 환자들은 6.3%, 81.0%, 12.7%로 E4 군이 정상인에 비해 (6.1%;12.7%) 상대적으로 높은 경향을 보였다 [34]. 이 등이 제 2 형 당뇨병 환자들을 대상으로 조사 한 바에 따르면 E2, E3, E4 군이 13.0%, 66.1%, 20.7%로 본 연구 결과와 유사하였다 [33]. Apo E 유전자 아형의

빈도는 민족, 인종간 차이를 보이 지만 유전자 다형성이 미치는 효과는 일정한 것으로 알려져 있다.

Apo E 유전자의 다형성이 혈청 지질의 농도를 변화시키는 기전은 다음과 같이 설명하고 있다. E2 수용체 결합 영역은 양전하를 띠는 성질이 부족하여 간세포의 apo E 수용체와의 결합력이 약해져 중성지방이 풍부한 chylomicron remnant 나 VLDL 의 대사가 저하되고 이는 간의 LDL 수용체를 up-regulation 시켜 LDL 의 대사를 증가시켜 간세포내의 콜레스테롤치는 높이나 혈청 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 저하 시키고 중성지방 및 remnant lipoprotein 은 높이게 된다. 또한 E4 형의 수용체 결합 능력은 양전하를 띠는 성질이 강해져 중성지방이 풍부한 chylomicron remnant 나 VLDL 의 대사가 증가되고 이는 간의 LDL 수용체를 down-regulation 시켜 LDL 의 대사를 저하시켜 간세포내의 콜레스테롤치는 낮추고 혈청 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤은 높이게 된다 [33]. 본 연구에서 apo 군과 혈청 지질과의 관계를 살펴보면 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤이 E4 군이 통계적으로 의미있게 높게 나왔고 중성지방은 E2 군이 높게 나왔다. HDL 콜레스테롤은 세 군간의 차이가 없었으며 remnant lipoprotein 의 경우 통계적으로 유의하지는 않으나 E2 군에서 비교적 높은 경향을 보였다. 이는 이전의 연구 보고들과 유사한 결과이다 [10,33]. Lipoprotein(a)는 atherogenic lipo protein 으로 macroangiopathy 을 유발하는 것으로 알려져 있으며 apo E 와의 연관성은 거의 조사된 바가 없다. E2 군이 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, Lp(a)가 낮아 E4 군에 비해 macroangiopathy 가능성이 떨어진다는 보고가 있었고 [35] 투석 환자를 대상으로 apo E 와 혈청 지질의 관계를 조사한 보고에서는 Lp(a)와는 아무런 연관성이 없었다고 발표 하였다 [36]. 본 연구 에서도 apo E 유전자 다형성과 Lp(a)와의 연관성을 찾을 수 없었다.

인슐린 저항성은 심혈관 질환 등의 macroangiopathy 의 위험 요인으로 알려져 있어 apo E 유전자 다형성과의 연관성을 HOMA-IR 을 이용하여 측정해 본 결과 통계학적으로 E2, E3, E4 군간의 차이를 발견할 수 없었다.

James 등의 발표에 의하면 인슐린 저항성 및 apo E 유전자 다형성이 각각 심혈관 질환의 위험인자이지만 둘간에 어떤 연관성을 찾을 수 없다 는 보고와 일치하는 결과이다[25].

본 연구에서 118 명의 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 apo E 유전자 다형성과 정상알부민뇨군, 미세알부민뇨군, 현성 신증군의 빈도수를 비교해 본 결과 apo E2 군이 당뇨병성 신증과 양의 상관 관계를 보이는 것을 확인할 수 있었다[9,10]. 당뇨병성 신증을 일으키는데 apo E2 의 역할에 대해서는 아직까지 명확히 밝혀진 바가 없지만 몇 가지 알려진 가설은 다음과 같다. 첫째로, 지질 및 지단백이 신독성이 있어 신손상을 유발 하는 것으로 알려져 있다[37]. 따라서 apo E2 와 연관된 지질, 즉 중성지방 및 RLP 콜레스테롤의 상승이 주 역할을 할 것으로 보고 실제로 중성지방 및 RLP 콜레스테롤의 상승이 신손상을 유발한다는 연구 결과도 발표된 바 있다[38,39]. 물론 공복 혈당, 당화혈색소, 혈압, 당뇨병 이환 기간 등이 당뇨병성 신증의 발생에 중요한 관련 인자이지만 본 연구 에서는 E2, E3, E4 군간의 차이가 없어서 이러한 인자들의 영향을 배제할 수 있었다. 본 연구에서도 당뇨병성 신증의 빈도가 높았던 E2 군에서 중성지방이 높았고 통계적으로 유의하지는 않았지만 RLP 콜레스테롤도 높게 나온 점 등을 고려해 보면 이러한 가설을 만족시키는 또 하나의 보고로 생각된다. 둘째로, apo E 2 군이 당뇨병성 신증을 일으키는 기전은 apo E 단백이 직접 당뇨병성 신증을 유발하는 여러 종류의 성장 인자를 조절해서 일어 나는 결과라는 것이다. 이를 설명하려는 여러 보고 가 있으나 아직 확실히 밝혀진 바는 없다[40,41]. 그리고 E4 군이 당뇨병성 신증의 발생을 예방하는 역할을 한다는 일부 보고가 있었지만 본 연구 에서는 일치하지 않는

결과를 보였다 [10,42]. 연구자에 따라 apo E 와 당뇨병성 신증과의 연관성을 다르게 보고하는데 이는 연구 대상자의 민족 및 인종의 차이가 하나의 이유일 수 있고 둘째로 어떻게 당뇨병성 신증을 정의했는지 기준의 차이 일수도 있다. 마지막으로 당뇨병성 신증 발생과 연관되어 있을 것으로 생각되는 ACE 유전자 등의 영향을 고려해 볼 수 있다.

Apo E 와 당뇨병성 망막병증과의 관계에 대해 멕시코의 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 한 연구에서 apo E4 군에서 macular edema 가 더 심했다 는 보고를 제외하고는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 apo E 와 당뇨병성 망막병증 발생 빈도에 있어서 서로 유의한 차이가 없었다.

Apo E 아형과 당뇨병성 신경병증과의 관계는 NISLL (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs) 검사를 통해서 E4 군이 신경병증 빈도가 높다는 발표가 있었다 [14]. 그러나 이 결과는 신경병증의 유무를 검사하지 않고 하지의 신경학적 검사를 통해 점수화해서 분석한 것으로 본 연구에서는 당뇨병성 신경병증의 가장 흔한 형태인 다발성 감각 신경병증의 유무를 신경전달속도와 감각전위 진폭을 측정하여 확인한 결과 신경병증의 빈도가 E2 군. E3 군, E4 군 순이었으나 통계적으로 유의 하지 않았다. 이를 설명하는 기전으로는 성장 인자, 동맥경화를 촉진하는 요인 등 여러 가지 가설이 제시되고 있으나 어느 것도 명확히 설명하지 못하고 있다.

ACE 는 kinase II 라고도 불리며 내막세포와 상피세포의 표면에 주로 분포한다. ACE 는 angiotensin I 을 angiotensin II 로 활성화시키고 bradykinin 을 불활성화시키는 역할을 한다. ACE 유전자는 17 번 염색체 (17q23)에 위치하고 26 개의 exon 을 포함하며 coding sequence 가 4.3 kb 이다. 1990 년 angiotensin I converting enzyme 에서 유전자 다형성이 있다는 것을 밝혀낸 후 ACE 유전자 다형성과 여러 질병과의 연관성이 보고되었다. ACE 유전자의 I/D 유전자 다형성은 intron 16 에 위치한 287bp 분절의 존재

유무에 따라 결정되는데 intron 부위 중에서 287bp 분절이 존재하면 insertion (I allele) 이고 존재하지 않으면 deletion (D allele)이다. 따라서 ACE 유전자형은 II, ID, DD 로 분류된다. ACE 유전자형은 민족, 인종간에 차이를 보이고 있는데 코카시안의 경우 II, ID, DD 형이 각각 15-20%, 50%, 30-35%인 반면 우리나라는 35%, 50%, 15%로 알려져 있다 [43]. 전 세계적으로 볼 때 동양, 서양 모두 ID 형이 가장 높은 빈도를 보이나 그 다음으로는 서양에서는 DD 형의 빈도가 높고 동양에서는 II 형이 빈도가 높았다. 본 연구에서는 각각 36.4%, 39.8%, 23.8%로 DD 형이 약간 많았지만 큰 차이를 보이지 않았다.

지금까지 발표된 보고들을 살펴보면 ACE 유전자 다형성과 당뇨병성 신증과의 관계가 명백히 밝혀지지 않았지만 D 유전자가 당뇨병성 신증과 연관이 되어 있는 것으로 생각되며 당뇨병성 신증의 발현보다는 신증의 진행에 관여한다는 연구 결과가 제시되고 있다. DD 형이 GFR 감소 속도가 빠르다는 보고 및 ACE 억제제 치료에 대해 DD 형이 반응이 작다는 보고 등이 이를 뒷받침하고 있다 [44-46]. 본 연구에서는 ACE 유전자형에 따른 임상적 특성 및 신증의 빈도에 있어서 유의한 차이는 없었다. ACE 유전자 다형성의 의미를 단순히 신증의 발현 인자에만 국한시킬 것이 아니라 신증의 진행과정에 관여하는 인자로 해석하는 연구도 필요하리라 생각 된다.

ACE 유전자형과 당뇨병성 망막병증과는 유의한 관계가 없다는 여러 보고와 같은 결과를 보였다 [47,48]. 신경병증과의 관계에 대해 보고된 적은 없지만 본 연구에서는 유의한 인과 관계를 찾을 수 없었다. Apo E 및 ACE 유전자 다형성이 당뇨병성 신증의 발현에 상승 효과가 있는지 여부를 조사하였으나 상호 연관 관계가 없는 것으로 결과가 나왔다.

이상의 소견으로 보아 apo E2 유전자가 당뇨병성 신증에 영향을 미치는 것으로 보이며 중성지방 및 RLP (remnant lipoprotein) 등이 관여하는 것 으로 생각되어지나 ACE 유전자 다형성과는 관련이 적은 것으로 보인다.

본 연구는 단면적인 조사 연구로 apo E 및 ACE 유전자와 당뇨병성 미세혈관 합병증과의 관계를 명확히 규명하기 위해서는 많은 환자를 대상 으로 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

Apo E 유전자 및 ACE 유전자 다형성을 조사함으로써 당뇨병에 동반된 미세혈관 합병증에 미치는 영향을 알아보고자 이환기간이 8 년 이상인 제 2 형 당뇨병 환자를 대상으로 여러 임상 지표 및 미세혈관 합병증 여부 를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Apo E 아형의 빈도는 E2, E3, E4 군 각각 12.7%, 71.2%, 16.1%로 이전의 연구 보고와 유사하였다.
2. Apo E 아형에 따른 임상적 특성 및 인슐린 저항성은 차이가 없고 혈청 지질은 E2 군에서 중성지방이 높았으며 E4 군이 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤이 높았다.
3. Apo E 아형에 따른 미세혈관 합병증 여부는 E2 군이 당뇨병성 신증의 빈도가 높았으며 당뇨병성 망막병증 및 신경병증은 유전자형간에 유의한 차이를 보이지 않았다.
4. ACE 아형에 따른 임상적 특성 및 미세혈관 합병증의 유의한 차이는 없었다.
5. Apo E 유전자와 ACE 유전자 다형성이 당뇨병성 신증의 발현에 상승 효과가 있는지 여부를 조사하였으나 상호 연관 관계가 없었다.

결론적으로 apo E2 유전자형이 당뇨병성 신증과 양의 상관 관계를 가지는 위험 요인이며 remnant lipoprotein 을 포함한 중성지방이 이에 관여하는 인자로 생각된다. ACE 유전자형은 당뇨병성 미세혈관 합병증과 의미 있는 관계를 찾아볼 수 없었고 apo E 유전자와 ACE 유전자 다형성이 당뇨병성 신증에 상호 연관 관계가 없었다.

참고문헌

1. 보건복지부, 한국보건사회연구원, 2001 년도 국민건강 영양조사 만성질병편, 2002.
2. Krolewski AS. Genetics of diabetic nephropathy: evidence of major and minor gene effects. Kidney Int 1999;55:1582-1596.
3. Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kelly DJ, Gilbert RE, Copper ME. Role of hyperlipidemia in progressive renal disease:focus on diabetic nephropathy. Kidney Int 1999;71(Suppl.):S31-36.
4. Rippin JD, Patel A, Bain SC. Genetics of diabetic nephropathy. Best Practi Res Clin Endocrinol Metab 2001;15:345-358.
5. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science 1988;240:622-630.
6. Onuma T, Laffel LM, Angelico MC, Krolewsky AS. Apolipoprotein E genotypes and risk of diabetic nephropathy. J Am Soc Neprol 1996;7:1075-1078.
7. Ukkola O, Kervinen K, Salmela PI, Dickhoff KV, Laakso M, Kesaniemi YA. Apolipoprotein E phenotype is related to macro- and microangiopathy in patients with NIDDM. Atherosclerosis 1993;101;9-15.
8. Horita K, Eto M, Makino I. Apolipoprotein E2, renal failure and lipid abnormalities in NIDDM. Atherosclerosis 1994;107:203-211.
9. Eto M, Horita K, Morikawa A et al. Increased frequency of apolipoprotein e2 allele in NIDDM patients with nephropathy. Clin Genet 1995;48:288-292.

10. Eto M, Saito M, Okada M, Kume Y, Kawasaki F, Matsuda M et al. Apolipoprotein E genetic polymorphism, remnant lipoproteins, and nephropathy in Type 2 diabetic patients. Am J Kidney Dis 2002; 40:243-252.
11. Lehtinen S, Rantalaiho V, Wirta O, Pasternack A, Laippala P, Koivula T, Lehtimaki T. Apolipoprotein E gene polymorphism, hypercholesterolemia and glomerular filtration rate in type 2 diabetic subjects: A 9 year follow up study. J Biomed Sci 2002; 10:260-265.
12. Santos A, Salguero ML, Gurrola C, Munoz F, Roig-Melo E, Panduro A. The epsilon 4 allele of apolipoprotein E gene is a potential risk factor for the severity of macular edema in type 2 diabetic Mexican patients. Ophthalmic Genet 2002;23:13-19.
13. Tsuzuki S, Murano T, Watanabe H, Itoh Y, Miyashita Y, Shirai K. The examination of Apo E phenotypes in diabetic patients with peripheral neuropathy. Rinsho Byori 1998;46:829-833.
14. R.S Bedlack, D. Edelman, J.W. Gibbs III, D. Kelling, W. Strittmatter, A.M. Saunder et al. APOE genotype is a risk factor for neuropathy severity in diabetic patients. Neurology 2003; 60:1022-1023.
15. Araz M, Yilmaz N, Gungor K, Okan V, Kepekci Y, Sukru Aynacioglu A. ACE gene polymorphism and microvascular complications in Turkish type 2 diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract 2001;54:95-104.
16. Matsumoto A, Iwashima Y, Abiko A, Morikawa A, Seikiguchi M, Eto M, Makino I. Detection of the association between a deletion polymorphism in the gene encoding

angiotensin 1 converting enzyme and advanced diabetic retinopathy. Diabetes Res Clin Pract 2000;50:195-202.

17. Wu S, Xiang K, Weng Q. Relationship between angiotensin 1 converting enzyme gene polymorphism and diabetic nephropathy. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 1997;77:18-186.
18. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Hamada Y, Ueda H, Shintani M, Fukuda M, Ogihara T. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin 1 converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. Diabetologia 1998;41:47-53.
19. Gohda T, Makita Y, Shike T, Kobayashi M, Funabiki K, Haneda M et al. Association of the DD genotype and developement of Japanese type 2 diabetic nephropathy. Clin Neprol 2001;56:475-480.
20. Solini S, Dalta Vestra M, Saller A, Nosadini R, Crepaldi G, Fioretto P. The ACE DD genotype is associated with glomerulopathy lesions in type 2 diabetes. Diabetes 2002;52:251-255.
21. Ha SK, Yong Lee S, Su Park H, Ho Shin J, Jung Kim S, Hun KIM D et al. ACE DD genotype is more susceptible than ACE II and ID genotypes to the antiproteinuric effect of ACE inhibitors in patients with proteinuric NIDDM. Nephrol Dial Transplant 2000; 15:1617-1623.
22. Ha SK, Park HS, Kim KW, Kim SJ, Kim DH, Kim JH et al. Association between apolipoprotein E polymorphism and macroalbuminuria in patients with NIDDM. Nephrol Dial Transplant 1999;14:2144-2149.

23. Kim JH, Lee EJ, Kwon OH. apolipoprotein E genotyping and phenotyping in type 2 DM patients with hypertriglyridemia. Clin Biochem 1997;30:47-52.

24. Kalina A, Szalai C, Prohaszka Z, Reiber I, Csaszar A. Association of plasma lipid levels with apolipoprotein E polymorphism in type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract 2002; 56:63-68.

25. Meigs JB, Ordovas JM, Cupples LA, Singer DE, Nathan DM, Schaefer EJ, Wilson PW. Apolipoprotein E isoform polymorphisms are not associated with insulin resistance : the Framingham Offspring Study. Diabetes Care 2000; 23:669-674.

26. Panahloo A, Andres C, Mohamed-Ali V, Gould M, Talmud P, Humphries SE et al. The insertion allele of the ACE gene I/D polymorphism. A candidate gene for insulin resistance? Circulation 1995;92:3390-3393.

27. Matz R. Calculating Body Mass Index. Ann Intern Med 1993;118: 232.

28 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.

29. Nakajima K, Saito T, Tamura A. Cholesterol on remnant like lipoproteins in human serum using anti apo B 100 and anti apo A1 monoclonal immunoaffinity mixed gels. Clin Chim Acta 1993; 225:53-71.

30. Hixon JE, Verier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. J Lipid Res 1990;31:545-548.

31. Right B, Hubert C, Alhencgelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An I/D

polymorphism in angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. J Clin Invest 1990;86:1343-1346.

32. 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 1985;28:412-419.
33. 이승현, 문치영, 최정기, 신경덕, 김현각, 류완희 등. 제2형 당뇨병 환자의 경동맥 플라크와 Apo E 지단백 유전형 다형성의 관계. 당뇨병 1999;5:678-685.
34. 강성이, 우정택, 김성운, 양인명, 김진우, 김영설 등. 당뇨병,뇌졸증, 급성 심근경색증에서 아포 리포 단백질 E 유전자형 분포. 대한내분비학회지 1992;7:273-279.
35. Ukkola O, Kervinen K, Salmela PI, von Dickhoff K, Laakso M, Kesan YA. Apolipoprotein E phenotype is related to macro and microangiopathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Atherosclerosis 1993;101:9-15.
36. Guz G, Nurhan Ozdemir F, Sezer S, Isiklar I, Arat Z, Turan M et al. Effect of apo E polymorphism on serum lipid, lipoproteins, and atherosclerosis in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2000;36:826-836.
37. Moorhead JF, Chan MK, El-Nahas M, Varghese Z. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubointerstitial disease. Lancet 1982;2:1309 -1311.
38. Bagdade JD, Porte D Jr, Bierman EL. Hypertriglyceridemia; A metabolic consequence of chronic renal failure. N Engl J Med 1968;279:181-185.

39. Nestel PJ, Fidge NH, Tan MH. Increased lipoprotein remnant formation in chronic renal failure. N Engl J Med 1982;307:329-333.

40. Mingchia H, Shiuru L, Yuanchieh Y, Hungchun C, Jiunnong Lin, Shyijang S et al. Higher frequency of apolipoprotein E2 allele in type 2 diabetic patients with nephropathy in Taiwan. J Nephrol 2002;15:368-373.
41. Shinichi A, Motohide I, Daisuke K, Ryuichi K, Tetsuya M, Atsunori K et al. Apo E polymorphism and the progression of diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes. Diabetes Care 2003;26:2416-2420.
42. Kimura H, Suzuki Y, Gejyo F. Apolipoprotein E4 reduces risk of diabetic nephropathy in patients with NIDDM. Am J Kid Dis 1998;31:666-673.
43. Ha SK, Seo JA. Insertion/deletion polymorphism in ACE gene as a predictor for progression of diabetic nephropathy. Kidney Int Suppl 1997;60:S28-32.
44. 서정건. 인슐린 비의존성 당뇨병 환자의 안지오텐신 전환효소 유전자 다형성과 신증 발현의 연관성. Yonsei Univ.;1996.
45. Essen GG, Rensma PL, Zeeuw D, Sluiter WJ, Scheffer H, Apperloo AJ et al. Association between angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. Lancet 1996;347:94-95.
46. Parving HH, Jacobsen P, Tarnow L, Rossing P, Lecerf L, Poirier O et al. Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: observation

follow up study. Br Med J 1996;313:591-594.

47. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Hamada Y, Ueda H, Shintani M et al. Meta-analysis of association of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. Diabetologia 1998;41:47-53.

48 Nagi DK, Mansfield MW, Stickland MH, Grant PJ. Angiotensin converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism, and diabetic retinopathy in subjects with IDDM and NIDDM. Diabetic Med 1995;12:997-1001.

Abstract

Apolipoprotein E genetic polymorphism and diabetic microangiopathy in type 2 diabetic patients

Jong Suk Park

Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by professor Kyung Rae Kim)

Objectives: The aim of this study was to investigate the association between apo E and ACE genetic polymorphism and diabetic micro angiopathy.

Subjects and methods: One hundred eighteen patients with type 2 diabetes who had a duration of diabetes longer than 8 years were divided into the three apo E groups (E2, E3, E4) and three ACE groups (II, ID, DD). Plasma levels of lipids were measured. The frequency of diabetic nephropathy, retinopathy and neuropathy were compared among the apo E and ACE genotype groups.

Results: The frequency of overt nephropathy was significantly greater in apo E2 patients with diabetes (46.7%) than apo E3 (16.7%) or apo E4 patients (10.5%). Logistical regression analysis showed that odds ratio of apo E2 and apo E4 genotypes for the presence of overt nephropathy were 4.779 ($P<0.01$) and 0.643 ($P=0.583$), respectively. Plasma TG levels were significantly greater in apo E2 patients. This study did not find an

association between diabetic retinopathy, neuropathy and apo E polymorphism and association between diabetic micro angiopathy and ACE genetic polymorphism. There was no significant interaction between apo E and ACE gene polymorphism.

Conclusions: Apo E2 is a prognostic risk factor for diabetic nephropathy in Korean type 2 diabetes. TG (including remnant lipoproteins) may have an important role of diabetic nephropathy.

Key Words : apolipoprotein E (Apo E) gene, angiotensin-converting enzyme (ACE) gene, type 2 diabetes, diabetic microangiopathy