

비만환자에서 5-HT_{2c} 수용체
유전자의 다형성이 Sibutramine의
치료효과에 미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

윤 지 은

비만환자에서 5-HT_{2c} 수용체
유전자의 다형성이 Sibutramine의
치료효과에 미치는 영향

지도교수 김 경 래

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2007년 5월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

윤 지 은

윤지은의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2007년 5월 일

감사의 글

이 논문의 시작부터 끝마무리까지 격려와 가르침 그리고 충고를 베풀어 주신 김경래 교수님께 먼저 진심으로 감사를 올립니다.

그리고 이 논문이 완성되기까지 지도하여 주신 내분비내과 안철우 교수님과 가정의학과 이덕철 교수님께도 깊은 감사를 올립니다.

연구 진행에 물심양면 도와준 영동세브란스 병원 내과의국 동기인 명현이, 한영이, 종원이 오빠, 현철이, 도유, 찬익이에게도 진심으로 감사를 드립니다.

끝으로 오늘날까지 끊임없는 사랑과 격려를 주신 어머니와 미래, 그리고 시어머니와 시아버님, 사랑하는 남편과 이쁜 소정이와 논문 완성의 기쁨을 함께 하고 싶습니다.

저자 씀

차례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	6
1. 연구대상	6
2. 연구방법	6
가. 인체 계측 및 임상 정보 수집	6
나. 생화학적 지표 측정	7
다. 인슐린 저항성 측정	7
라. DNA 분석	8
마. 통계처리	9
III. 결과	11
1. 대상자들의 임상적 특징	11
2. DNA 분석 결과	13
3. DNA 수용체 다형성에 따른 sibutramine 치료 효과의 비교	14
IV. 고찰	21
V. 결론	24
VI. 참고문헌	25
영문요약	31

그림 차례

Figure 1. Sibutramine acting mechanism	4
--	---

표 차례

Table 1. Clinical characteristics & laboratory data of the patients	12
Table 2. 5-HT _{2c} sequence variants in the genetics of the patients	13
Table 3. Genotype-dependent weight loss in men, -995/-759/-697	14
Table 4. Differences in changes in Wt.loss based on -995/-759 individual polymorphism	16
Table 5. Differences in changes in Wt.loss between wild type and variant type on -995/-759 loci	17
Table 6. Differences in changes in Wt.loss based on -697 individual polymorphism	18
Table 7. Differences in changes in Wt.loss between wild type and variant type on -697 locus	19
Table 8. Differences in changes in Wt.loss based on -995/-759, -697 haplotype individual polymorphism	20

국문요약

비만환자에서 5-HT2c 수용체 유전자의 다형성이 Sibutramine 의 치료 효과에 미치는 영향

목적: 비만 환자에게서 체중 감량은 고혈압, 이상지질혈증, 제 2 형 당뇨병 등의 위험 요소들을 개선시키고, 심혈관 질환의 위험률 및 사망률을 감소시킨다. 체중 감량을 위해 현재 전세계적으로 많이 사용되고 있는 약물의 하나가 sibutramine 이다. 본 연구에서는 5-HT2c 수용체 유전자의 다형성에 따른 sibutramine 의 체중 감소의 효과의 차이에 대해 알아보려고 한다.

대상 및 방법: 특이 병력이 없는 체질량 지수 25 kg/m² 이상인 비만환자 60 명을 대상으로 비만과 관련된 인체계측학적 지표와 생화학적 검사를 시행하였고 총 12 주간 매일 10 mg 의 sibutramine 을 경구 투여하였다. 그리고 각 환자의 DNA genotyping 을 시행하여 5-HT2c 수용체 유전자 다형성의 차이에 따른 sibutramine 의 체중 감량의 효과를 비교하였으며 5% 이상 체중 감량이 일어난 환자군을 반응군으로 분류하였다.

결과: 반응군과 비반응군간에 치료를 시작하기 전 환자의 나이, 성별, 신장, 지질 수치, 공복 혈장 포도당, 유리 지방산, 인슐린, C-peptide, 당화혈색소의 차이는 없었으며 인슐린 저항성의 지표인 HOMA-IR 값의 차이도 없었다. DNA genotyping 을 시행하여 모두 세 군데의 loci (-995, -759, -697)를 분석하였고 각 locus 의 wild type & variant type 에 따른 반응군과 비반응군과의 연관성을 분석해 본 결과, -697 locus 의 유전자 다형성이 있을 경우 비만과 연관성이 있을 가능성을 배제할 수 없었으며, 또한 haplotype 으로 동형 접합체의 유전자 다형성이 있을 경우 체중감량이 더 잘 되는 경향을 보였다.

결론: 이상의 연구 결과에서 비만 환자의 5-HT2c 수용체 유전자 다형성을 분석하여 -995/-759, -697 의 loci 에 haplotype 으로 동형 접합체의 유전자 다형성이 존재할 경우 sibutramine 에 의한 체중 감량이 더 잘 될 수 있는 가능성을 확인하였다. 본 연구가 비만

환자에서 효과적인 약물 치료 대상자를 선별하는데 도움이 될 것으로
생각된다.

핵심 되는 말: 비만, Sibutramine, 5-HT_{2c} 수용체 유전자 다형성

비만환자에서 5-HT_{2c} 수용체 유전자의 다형성이 Sibutramine 의 치료 효과에 미치는 영향

<지도교수 김경래>

연세대학교 대학원 의학과

윤 지 은

I. 서론

비만과 과체중은 전세계적으로 증가 추세에 있으며¹⁻³⁾, 우리나라에서도 꾸준히 증가하고 있다. 비만은 고혈압, 이상지질혈증, 제 2형 당뇨병 등의 위험요소이며, 이로 인한 심혈관 질환의 위험률 및 사망률을 증가시킨다^{4,5)}. 심혈관 질환의 위험률은 다른 위험인자와는 독립적으로 비만에 의해 증가된다⁶⁾. 체중감량은 이러한 질병의 위험요소들을 개선시킬 수 있으므로 상기 위험인자가 있는 경우 적극 추천된다^{7,8)}. 체중감량의 방법에는 식사교육에 의한 에너지 제한 및 운동요법이 있지만 이것만으로 불충분한 경우에는 약물요법을 추가하게 된다.

Sibutramine (Reductil[®], Abbott Laboratories Co. USA)은 중추적으로 작용하여 신경 말단에서 주로 세로토닌(serotonin, 이하 5-HT)과 노르아드레날린(noradrenalin, 이하 NA)의 재흡수를 억제하여(SNRI; seroenergic and noradrenergic re-uptake inhibitor)

식욕을 저하시킨다(Figure 1). Sibutramine 은 5-HT 와 NA 의 활성을 촉진시킬 뿐만 아니라 베타-아드레날린 수용체, 알파-아드레날린 수용체, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2c} 수용체의 활성도 증가시켜 체중 감소 효과를 나타낸다⁹⁾. 이러한 효과 때문에 sibutramine 은 지방흡수 억제제인 orlistat 과 함께 현재 세계적으로 가장 많이 사용되고 있는 비만치료제 약물 중의 하나이다.

5-HT_{2c} 수용체는 X chromosome 의 q24 band 위치하고 있으며 sibutramine 은 5-HT_{2c} 수용체의 활성을 증가시켜 체중 감소효과를 나타내는데 5-HT_{2c} 수용체가 제거된 쥐의 경우 비만해지며 식욕이 높아지며²²⁾ 5-HT_{2c} 수용체 길항제인 clizapine, olanzapine 등의 항정신병약물을 사용하는 경우 부작용으로 비만이 생기게 된다.

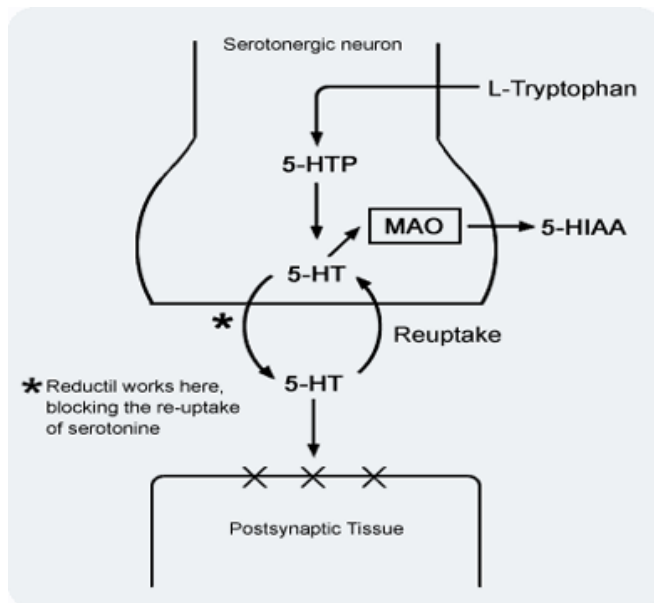


Figure 1. Sibutramine acting mechanism. These two neurotransmitters, noradrenalin and serotonin, are highly active in the region of the brain known as the hypothalamus. The hypothalamus is known as the satiety center of the brain. Inhibition to the reuptake leads to changes in levels of noradrenalin and serotonin, thus, inducing a feeling of satiety.

하지만 비만치료를 위해 sibutramine 을 복용해서 1 년 동안 10% 이상의 체중감소 효과를 얻는 경우는 20~50%에 지나지 않는다¹⁰⁻¹⁶⁾. 이에 일부 연구들에서는 sibutramine 치료 성적과 관련된 여러 인자들을 치료 전 체중 및 체질량지수, 우울증정도, 영양공급상태 등으로 제시하였으나¹⁷⁻¹⁹⁾, 아직까지 sibutramine 치료에 반응이 좋은 예측인자를 파악하는 데에는 별로 알려진 바가 없다²⁰⁾. 비교적 고가의 약물인 sibutramine 에 대한 치료를 예측하려는 연구는 보건경제학적으로 중요하게 여겨져 최근에는 유전자 검사를 통해 비만치료를의 효과를 예측해보려는 시도가 있으나²¹⁾ 아직까지 국내에서는 이러한 연구가 없는 상태이다. 이에 비만한 환자들에게 sibutramine 을 투여한 후 환자들의 5-HT_{2c} 수용체 유전자의 3 개의 loci 인 -995, -759, -697 의 다형성에 따라 체중감소의 효과를 파악해 효과적인 약물치료 대상자를 선별하는데 도움이 되고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

체질량 지수(body mass index, 이하 BMI) 25 kg/m² 이상인 비만환자 60 명을 대상으로 하였다. 고혈압, 당뇨병, 허혈성 심질환, 심한 고지혈증(혈중 총 콜레스테롤 > 300 mg/dL, 혈중 중성지방 > 300 mg/dL) 및 기타 질환을 가지고 있는 환자는 제외하였다. 또한 sibutramine 이외의 비만 치료 약물을 복용 중인 경우도 연구에서 제외하였다.

총 12주간 매일 10 mg의 sibutramine 을 경구 투여하였으며, 모든 대상 환자는 저열량 식사요법(총 섭취열량은 표준체중 kg 당 25 kcal)을 하였고, 총 섭취열량 중 50%는 탄수화물, 30%는 지방, 20%는 단백질로 섭취하도록 교육하고 식사 일지를 작성하여 외래 내원시 확인하였다.

총 12 주간의 sibutramine 의 투여 후 기존 체중의 5%이상 체중감량 된 환자군을 반응군으로 정의하였다.

2. 연구 방법

가. 인체 계측 및 임상 정보 수집

환자가 처음 내원 시 병력청취를 통해 가족력과 비만의 유병기간, 과거력 등을 기록하였고 처음 내원 시와 3개월 후 내원할 때 신체 검진을 실시하여 신장, 몸무게, 허리둘레,

엉덩이둘레를 측정하고 체질량 지수(BMI)와 허리대엉덩이 둘레 비(waist-hip ratio, WHR)를 산출하였다.

$$\text{BMI} = \text{Body weight (Kg)}/\text{Height (m}^2\text{)}$$

나. 생화학적 지표 측정

10 시간 이상 금식 후 채혈하여 혈청 총콜레스테롤, 중성지방, 고밀도지단백 콜레스테롤은 효소비색법(enzymatic colorimetric method)을 이용한 자동분석기(Hitachi 747, Daiichi, Tokyo, Japan)로 측정하였고 유리지방산(Olympus AU640, Daiichi, Tokyo, Japan) 농도를 측정하였다. 저밀도지단백 콜레스테롤은 Friedewald 공식을 이용하여 산출하였으며, 공복 시 혈청 인슐린과 C-peptide 는 방사 면역 측정법(Immulite 2000, ECIA, DPC, LA, U.S.A.)을 사용하여 측정하였다. 그리고 당화혈색소(Variant II, Bio-Rad, U.S.A.) 농도와 공복 시 혈당(747 automatic analyzer, Hitachi, Tokyo, Japan)을 측정하였다.

다. 인슐린 저항성 측정

인슐린 저항성의 지표로는 HOMA-IR (homeostasis model assessment index for insulin resistance)을 사용하였다.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{포도당(mmol/L)} \times \text{인슐린(U/mL)}}{22.5}$$

22.5

위 식에서 사용하는 포도당과 인슐린은 공복 시 채혈하여 구하였다.

라. DNA 분석

(1) Genomic DNA Isolation

환자로부터 전혈 5mL 을 EDTA tube 에 채취하여 QIAamp DNA blood mini kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA)을 이용하여 genomic DNA 를 추출하였다. 건조시킨 genomic DNA 를 멸균된 증류수에 녹여 분광 광도계로 측정 한 후 -20℃에 보관하였다.

(2) DNA genotyping

SNP 759 의 증폭을 위한 primer 를 다음과 같이 제작하였다¹⁾.

Forward Primer

- CAGGAAACAGCTATGACC

Reverse Primer

- TGTA AACGACGGCCAGT

이 위치는 single strand conformational polymorphism (SSCP) 분석을 통해 선별하였다. 그리고 PCR 분석은 45 ng 의 gDNA 가 들어있는 1μL D.W., PCR premix (1 U Taq DNA

polymerase, each dNTP 250 uM, Tris-HCl 10mM, KCl 40 mM, MgCl₂ 1.5 mM)(BIONEER, Seoul, Korea), sense primer 10 pmole, antisense primer 10 pmole, D/W 15 µL 로 총 volume 이 20 µL 가 되게 하여 반응을 진행하였다. PCR condition 은 반응혼합액을 96°C 5 분간 가열하여 template DNA 를 단일체로 변성시키고 이후부터 변성을 96°C에서 5초, 결합 (annealing)을 53°C에서 5초, 연장(extension)을 60°C에서 30 초 동안 시행하도록 한 주기를 설정하고, 30 주기 동안 DNA 를 증폭한 후 마지막 연장은 72°C에서 7 분간 유지하였다.

QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA)을 이용해 PCR product 를 purification 하고 purification sample 1 µL 를 0.9% agarose gel 에 electrophoresis 시켜 band 를 확인하였다.

추출된 PCR product 를 ABI Prism 3100 genetic analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS, Foster city, CA, USA)를 이용하여 direct sequencing 을 실시하였다.

마. 통계처리

5-HT_{2c} 수용체가 X chromosome 에 위치하고 있는 관계로 결과는 남자 환자군과 여자 환자군으로 나누어 비교하였으며 모든 자료의 통계는 SPSS (Windows version 12.0, SPSS Inc. IL, USA)를 이용해 분석을 시행하였다. 기술통계 값은 평균±표준편차, 빈도로 나타냈으며 체중 감량의 정도는 치료 전 값을 보정하여 계산하였다. Sibutramine 치료

전후의 변수의 평균치에 관한 그룹간의 변화 및 반응군과 비반응군을 나누어 분석할 때는 independent sample t-test 를 이용하여 분석하였다. DNA 유전자 다형성의 양상에 따른 그룹간의 변수 비교를 하기 위해 체중 변화를 종속 변수로 하여 ANOVA 를 사용한 후 Post Hoc test 로 Scheffe test 를 시행하였다. 정규분포를 따르지 않는 변수를 분석할 때는 Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test 를 사용하였다. p -value 가 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 처리하였다.

Ⅲ. 결과

1. 대상자들의 임상적 특성

본 연구 대상으로 60 명을 설정하였으며, 이중 2 명은 검체 부적합으로 DNA sequencing 결과가 나오지 않아 포함시키지 않았다. 12 주간 sibutramine 치료 후 반응군과 비반응군의 기본적 임상적 특징을 비교하여 보았을 때 나이, 신장, 지질 수치, 공복 혈장 포도당, 유리 지방산, 인슐린, C-peptide, 당화혈색소 값의 유의한 차이는 없었으며 인슐린 저항성의 지표인 HOMA-IR 값에도 유의한 차이가 없었다(Table 1).

Table 1. Clinical characteristics & laboratory data of the patients

	Non-responder (n=40)	Responder (n=18)	<i>p</i> -value
Age (year)	51.9 ± 12.7	47.3 ± 12.0	0.193
Height (cm)	163.8 ± 8.0	160.5 ± 7.3	0.122
T.chol (mg/dl)	189.6 ± 44.2	184.2 ± 36.4	0.644
TG (mg/dl)	175.3 ± 121.7	174.7 ± 111.6	0.986
HDL (mg/dl)	48.1 ± 12.0	46.7 ± 12.0	0.680
LDL (mg/dl)	106.4 ± 35.5	102.5 ± 33.5	0.688
Glucose (mg/dl)	126.4 ± 33.8	112.4 ± 37.9	0.155
FFA (umol/L)	540.0 ± 224.2	389.0 ± 55.1	0.288
Insulin (uIU/mL)	11.8 ± 9.3	13.9 ± 9.1	0.538
C-peptide (ng/mL)	2.8 ± 1.6	3.5 ± 1.5	0.314
HbA1c (%)	7.1 ± 1.5	6.7 ± 1.4	0.479
HOMA-IR (mmol/L x μIU/mL)	3.7 ± 2.7	4.2 ± 1.7	0.612

Data are expressed by mean ± S.D. . *T.chol*: total cholesterol, *TG*: triglyceride, *HDL*: high density lipoprotein, *LDL*: low density lipoprotein, *FFA*: free fatty acid, *HOMA-IR*: homeostasis model assessment index for insulin resistance

2. DNA 분석 결과

5-HT_{2c} 수용체의 유전자 다형성을 알아보기 위하여 X band q24 중 3 개의 loci 인 -995, -759, -697 의 sequencing 의 차이를 비교하였다. -995 와 -759 는 complete linkage disequilibrium 의 관계를 보이고 있으며 DNA sequencing 의 결과는 다음 표와 같다(Table 2).

Table 2. 5-HT_{2c} sequence variants in the genetics of the patients

	-995	-759	-697
Wild type	GG	CC	GG
polymorphism	GA or AA	CT or TT	GC or CC

A: adenine, G: guanine, C: cytosine, T: thymine

3. DNA 수용체 다형성에 따른 sibutramine 치료 효과의 비교

가. 남자 환자군

본 결과를 비교함에 있어 5HT2c 수용체가 X band 에 위치하고 있으므로 남자 환자군과 여자 환자군을 나누어 결과를 비교하였다. 그러나 남자 환자군에는 DNA 유전자 다형성 소견을 보인 환자가 1명 밖에 없어 통계적 결과를 얻지 못하였다(Table 3).

Table 3. Genotype-dependent weight loss in men, -995/-759/-697

	all	G/C/G	A/T/C
n	17	16	1
Age	48.1±14.5	47.5 ± 14.2	59
Height(cm)	172.0±4.4	172.4 ± 4.7	176
Weight(kg)	91.1±12.7	90.1 ± 13.2	93
BMI(kg/m ²)	30.4±3.6	30.2 ± 3.7	30.2
Wt.loss(kg)	2.7±3.1	2.7 ± 3.1	2.7
Wt.loss(%)	2.9±3.1	2.8 ± 3.1	2.8
≥5% Wt.loss (n)	3	3	0
<5% Wt.loss (n)	14	13	1

Data are expressed by mean ± S.D..BMI: body mass index, Wt: weight, A: adenine, G: guanine, C: cytosine, T: thymine

나. 여자 환자군

(1) -995/-759 유전자 다형성 각각의 비교

-995/-759 loci 의 유전자 다형성의 변화에 따른 환자의 나이, 키, 몸무게, BMI 및 sibutramine 의 체중 감량 정도에 유의한 차이가 없었다(Table 4).

Table 4. Differences in changes in Wt.loss based on -995/-759 individual polymorphism

	A11	GG/CC	GA/CT	AA/TT	<i>p</i> -value
n	41	32	6	3	
Age(year)	51.4 ± 12.1	53.4 ± 11.0	41.5 ± 12.8	50.0 ± 16.1	0.083
Height (cm)	158.6 ± 4.5	158.3 ± 4.5	159.8 ± 5.2	160.0 ± 3.0	0.652
Weight (kg)	71.1 ± 8.9	69.5 ± 8.3	75.6 ± 9.1	79.3 ± 10.1	0.071
BMI (kg/m ²)	28.2 ± 2.9	27.7 ± 2.9	27.4 ± 1.5	29.5 ± 4.0	0.091
Wt.loss (kg)	2.7 ± 2.5	2.6 ± 2.6	2.3 ± 1.4	5.0 ± 3.6	0.278
Wt.loss (%)	3.8 ± 3.4	3.7 ± 3.6	3.0 ± 1.9	6.1 ± 4.5	0.378
≥5 Wt.loss(n)	16	13	1	2	
<5 Wt.loss(n)	25	19	5	1	0.323

Data are expressed by mean ± S.D..*BMI*: body mass index, *Wt*: weight, *A*: adenine, *G*: guanine, *C*: cytosine, *T*: thymine

(2) -995/-759 wild type 과 variant type 의 비교

-995/-759 를 큰 범위로 wild type (GG/CC)과 variant type(GA/CT + AA/TT) 로 나누었을 때는 나이에 있어 variant type 이 좀 더 젊은 소견을 보였으며 몸무게 및 BMI 에 있어 variant type 이 좀 더 비만한 소견을 보였다(Table 5).

Table 5. Differences in changes in Wt.loss between wild type and variant type on -995/-759 loci

	GG/CC	GA/CT + AA/TT	p-value
n	32	9	
Age(yrs)	53.4 ± 11.0	44.3 ± 13.6	0.046
Height(cm)	158.3 ± 4.5	158.2 ± 4.4	0.353
Weight(kg)	69.5 ± 8.3	76.9 ± 9.0	0.025
BMI(kg/m ²)	27.7 ± 2.9	28.1 ± 2.5	0.037
Wt.loss(kg)	2.6 ± 2.6	3.2 ± 2.5	0.495
Wt.loss(%)	3.7 ± 3.6	4.0 ± 3.1	0.826
≥5% Wt.loss(n)	13	3	0.503
<5% Wt.loss(n)	19	6	

Data are expressed by mean ± S.D. .BMI: body mass index, Wt: weight, A: adenine, G: guanine, C: cytosine, T: thymine

(3) -697 유전자 다형성 각각의 wild type 에 대한 비교

-697 loci 의 유전자 다형성의 양상에 따라 variant type 인 GC 군이 wild type 인 GG 군보다 비만한 소견을 보였다(Table 6).

Table 6. Differences in changes in Wt.loss based on -697 individual polymorphism

	GG	GC	CC	<i>p</i> -value
n	30	8	3	
Age (yrs)	53.3 ± 10.3	44.8 ± 15.9	50.0 ± 16.1	0.205
Height (cm)	158.4 ± 4.5	159.0 ± 5.0	160.0 ± 3.0	0.827
Weight (kg)	68.5 ± 6.4	77.9 ± 12.0	79.3 ± 10.1	0.005
BMI (kg/m ²)	27.3 ± 2.1	30.8 ± 3.9	30.9 ± 2.8	0.001
Wt.loss (kg)	2.8 ± 2.4	1.4 ± 2.1	5.0 ± 3.6	0.086
Wt.loss (%)	4.1 ± 3.4	1.8 ± 2.8	6.1 ± 4.5	0.135
≥5% Wt.loss(n)	13	1	2	0.168
<5% Wt.loss(n)	19	5	1	

Data are expressed by mean ± S.D..BMI: body mass index, Wt: weight, A: adenine, G: guanine, C: cytosine, T: thymine

(4) -697 유전자 다형성의 wild type 에 대한 비교

그러나 -995/-759 loci 에서 했던 것처럼 큰 범위로 wild type 과 variant type 으로 나누어 비교를 했을 경우에는 의미 있는 결과를 찾지 못하였다(Table 7).

Table 7. Differences in changes in Wt.loss between wild type and variant type on -697 locus

	GG	GC + CC	<i>p</i> -value
n	30	11	
Age	53.3 ± 10.3	53.6 ± 11.4	0.472
Height (cm)	158.4 ± 4.5	160.6 ± 4.4	0.100
Weight (kg)	68.5 ± 6.4	72.7 ± 8.6	0.485
BMI (kg/m ²)	27.3 ± 2.1	28.1 ± 2.6	0.944
Wt.loss (kg)	2.8 ± 2.4	3.32 ± 2.0	0.392
Wt.loss (%)	4.1 ± 3.4	4.5 ± 2.8	0.435
≥5% Wt.loss(n)	13	3	0.217
<5% Wt.loss(n)	19	6	

Data are expressed by mean ± S.D.. *BMI*: body mass index, *Wt*: weight, *A*: adenine, *G*: guanine, *C*: cytosine, *T*: thymine

(5) -995/-759, -697 haplotype 으로 비교

5HT2c 수용체의 유전자 다형성을 haplotype 으로 비교를 하였을 때 -697 loci 의 wild type 일 경우 환자들이 덜 비만한 소견을 보였으며 동형 접합체의 haplotype variant (AA/TT-CC)가 sibutramine 치료 후 체중이 의미 있게 감소된 결과를 보이고 있었다(Table 8).

Table 8. Differences in changes in Wt.loss based on -995/-759, -697 haplotype individual polymorphism

	GG/CC-GG	GG/CC-GC	GA/CT-GC	AA/TT-CC	<i>p</i> -value
n	30	2	6	3	
Age	53.3±10.3	54.5±26.2	41.5±12.8	50.0±16.1	0.177
Height(cm)	158.4±4.5	156.5±5.0	159.8±5.2	160.0±3.0	0.756
Weight(kg)	68.5±6.4	84.5±21.9	75.7±9.1	79.3±0.1	0.006
BMI(kg/m ²)	27.3±2.1	34.4±6.9	29.5±2.3	30.9±2.8	0.000
Wt. loss(kg)	2.8±2.4	-1.5±0.7	2.3±1.4	5.0±3.6	0.025
Wt. loss(%)	4.1±3.4	-1.7±1.7	3.0±1.9	6.1±4.5	0.072
≥5% Wt. loss(n)	13	0	1	2	
<5% Wt. loss(n)	17	2	5	1	0.291

Data are expressed by mean ± S.D..*BMI*: body mass index, *Wt*: weight, *A*: adenine, *G*: guanine, *C*: cytosine, *T*: thymine

IV. 고찰

비만은 지방 조직의 과잉 축적에 의해 다양한 질병을 일으키며, 특히 고혈압, 당뇨병, 심장 질환 같은 만성 퇴행성 질환과 관련성이 높은 것으로 널리 알려져 있다. 이러한 비만의 치료로 우선은 식사 조절 및 운동 요법이 권고 되고 있으나 실상에서 식사 및 운동 요법만으로 체중을 조절하기란 쉽지 않다. 그래서 최근에는 이에 부가적으로 비만 치료제를 사용하여 비만 치료의 효과를 좀 더 높이고자 하는 시도가 많다. 그 중 비만 치료제로 가장 많이 사용하는 약제의 하나가 sibutramine 으로 이는 중추 신경계에 작용하여 5-HT와 noradrenalin 의 재흡수를 막아 이들 신경 전달 물질의 활성을 촉진시켜 중추 신경계로 하여금 포만감을 느끼게 하여 식욕을 억제시키는 효과를 나타내며 또한 부분적으로 5-HT_{2c} 수용체를 활성화시켜 작용을 나타낸다. 그러나 체중감량을 시도한 지금까지의 연구에서 sibutramine 은 일정한 체중 감량의 효과를 나타내지 않고 1년 동안 10% 이상의 체중 감량을 일으킨 비율은 sibutramine 을 사용한 비만 환자의 20~50% 정도밖에 되지 않았다.²³⁾ 이로 인해 sibutramine 이 사용 후 효과가 있을 것인지에 대한 예측 인자가 사용되고 있는데, 치료 전 체중, 체질량 지수, 우울증 정도, 영양 공급 상태 등 여러 가지가 거론되었으나 현재 가장 인정받고 있는 예측 인자로는 sibutramine 을 사용 후 3개월 이내에 일어나는 초기 체중감량의 정도이다.²⁴⁾ 그래서 본 연구에서는 sibutramine 이 5-HT_{2c} 수용체에 작용하는 점에 착안하여 5-HT_{2c} 수용체 유전자 다형성이 sibutramine 의 체중 감량 효과와 연관성이 있다면 pharmacogenomics 의 개념을 도입하여 일종의 예측 인자로 기여할 수도 있는 가능성을 생각하였다. 5-HT_{2c} 수용체 유전자는 X

chromosome 의 q24 band 에 위치하고 있는 것으로 이에 유전자 다형성이 있으면 이 유전자의 regulatory & putative transcription 의 변화가 생겨 유전자의 발현에 변화가 생긴다. 앞선 연구에서 Tecott 등이 5-HT2c 수용체 유전자의 돌연변이가 생긴 쥐에서 식욕을 억제하지 못하고 계속 먹어서 결국은 비만으로 진행되며 이러한 쥐에서 고인슐린 혈증이 생기는 것을 1995년에 보고한 바 있다.²⁴⁾ 또한 Ketter 등에 의해 5-HT2c 수용체 길항제인 clozapine, olanzapine 등의 항 정신병 약물을 사용하는 경우 부작용으로 비만이 생김이 발견 되었다.²⁵⁾ 이러한 사실을 참고하여 본 연구에서는 sibutramine 의 체중 감량 효과와 5-HT2c 수용체 유전자 다형성의 연관성을 알아보는 연구를 진행하였다.

우선 58명의 비만환자에게 12주 동안 sibutramine 을 투여하여 각 환자의 5HT2c 수용체의 유전자 다형성에 따른 체중감량의 효과가 차이가 있는지를 비교하였다. 이를 위해 남, 녀 환자군을 따로 분리하여 결과 해석을 하였는데 이는 5HT2c 수용체 유전자가 X chromosome에 위치하여 남자환자군(XY)은 유전형이 표현형과 일치하는 소견을 나타내는 데 반해 여자환자군(XX)은 유전형과 표현형이 일치할 확률이 50%로 서로 다르기 때문이다. 그러나 연구에 참여한 남자 비만 환자 중 유전자 다형성을 보인 환자가 단 1명 뿐이어서 이를 통계적 처리를 시행할 수가 없었다. 그래서 부득이하게 본 연구에서는 여자 비만 환자만을 대상으로 실험을 한 결과가 되었다. 5-HT2c 수용체의 유전자 다형성은 3군데 loci 에서 나타났는데 각각 -995, -759, -697 에서 각각 G→A, C→T, G→C로의 variant 양상을 보였다. 유전자 다형성이 나타난 결과를 살펴보면 -995와 -759는 complete linkage disequilibrium 양상을 보였다. 즉 -995 locus 에서 -GA 양상의 variant 모습을 보이면 -759 locus 에서도 -CT 양상을

보이며 -995 locus 에서 -AA 소견을 보이면 -759 locus 에서 -TT 소견을 보이는 결과를 보였다. -697 locus 는 이 두 loci 와 독립적인 형태로 variant 양상을 보였다. 각각의 variant type 에 대해 다양한 조합으로 체중 감량과의 연관성 유무를 알아보았는데 결론적으로 살펴보면 -697에서 wild type (GG)이 variant type (GC or CC)에 비해 덜 비만한 소견을 보였으나 sibutramine 의 효과의 차이는 없었으며 -995/-759, -697 의 haplotype 에서 wild type (GG/CC-GG)이 variant type 보다 덜 비만하며 동형 접합체의 variant type (AA/TT-CC)이 이형 접합체의 variant type 보다 sibutramine 의 치료 후 체중이 의미 있게 감량된 소견을 보였다. 그러나 이에 해당하는 이형 접합체의 type 의 n 수가 2명밖에 되지 않아 사실 이 연구 결과에 대한 신뢰성은 높다고 보긴 어렵다. 이 연구 결과의 신뢰성을 높이기 위해서는 추후 환자군을 더 많이 모아서 이에 대한 연구 결과를 뒷받침해야 하겠다. 다른 연구에서의 결과를 살펴보면 5HT_{2c} 수용체에서 T allele 가 과다하게 표현된 소견이 비만하지 않은 환자 군에서 더 많이 발견되었다는 결과가 있었다.¹⁾ 그리고 이와 유사한 결과로 2002년, 2003년 Reynolds 에 의해 T allele가 과다하게 표현된 환자군에서 정상군에 비해 chlorpromazine, risperidone, clozapine 등의 치료 후 체중 증가가 덜 일어났다는 보고가 있다. 본 연구에서도 -759 locus 에서 T allele 가 많을수록, 즉 homozygote T allele 양상을 보일수록 체중이 더 잘 감량된 소견을 보이고 있다.²⁸⁾ 그러나 이에 대해서는 다른 여러 학자들에 의해 반대되는 결과 및 아무런 의미가 없다는 결과도 여러 보고되고 있어^{26, 27)} 아직까지 확실히 이에 대해 결론을 말하기는 어렵다.

V. 결론

-697 locus 에서 유전자 다형성을 보인 환자군이 비만한 양상으로 보이는 결과 보아서 -697 variant type 과 비만과의 연관성을 배제할 수 없었다.

-759 locus 에서 다른 연구에서 주장되어 온 것처럼 T allele 가 많을수록 체중 감량이 더 잘 된 결과를 보였으나 이에 대해서는 아직 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

-995/-759, -697 haplotype 에서 wild type 이 variant type 에 비해 덜 비만한 양상을 보였으며 variant type 중 homozygous variant type (AA/TT-CC)이 sibutramine 치료 후 체중 감량에서 의미 있는 결과를 보였다.

참고문헌

1. Yuan X, Yamada K, Ishiyama-Shigemoto S, Koyama W, Nonaka K. Identification of polymorphic loci in the promoter region of the serotonin 5HT_{2C} receptor gene and their association with obesity and type II diabetes. *Diabetologia* 2000;43:373-6.
2. Kuczmarski RJ, Flegal KM, Campbell SM, Johnson CL. Increasing prevalence of over weighting among US adults: the National Health and Nutrition Examination Surveys, 1960 to 1991. *JAMA* 1994;272:205-11.
3. Kuczmarski RJ, carrol MD, Flegal KM, Troiano RP. Varying body mass index cutoff points to describe overweight prevalence among U.S. adults: NHAMES III (1988 to 1994). *Obes Res* 1997;5:542-8.
4. Pi-Sunyer FX. Medical hazards of obesity. *Ann Intern Med* 1993;119:655-60.
5. Carey VJ, Walters EE, Colditz GA. Body fat distribution and risk of non-insulin dependent diabetes mellitus in women: the Nurses Health Study. *Am J Epidemiol* 1997;145:614-61.

6. Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ. Weight, weight change, and coronary heart disease in women: risk within the normal weight range. *JAMA* 1995;273:461-5.
7. Goldstein DJ. Beneficial health effects of modest weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992;16:397-415.
8. Williamson DF, Pamuk E, Thun M, Flanders D, Byers T, Heath C. Prospective study of international weight loss and mortality in never-smoking overweight US women aged 40-64 years. *Am J Epidemiol* 1995;141:1128-41.
9. Stock MJ. Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel anti-obesity agent. *Int J Obes* 1997;21(21Suppl. 1):S25-9.
10. James WPT, Astrup A, Finer N, Hilsted J, Kopelman P, Rossner S, et al. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *Lancet* 2000; 356:2119-25.
11. Wirth A, Krause J. Long-term weight loss with sibutramine: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286:1331-9.
12. McMahon FG, Fujioka K, Singh BN, Mendel CM, Rowe E, Rolston K, et al. Efficacy and safety of sibutramine in obese white and African American patients with hypertension: a 1-year,

double-blind, placebo controlled, multicenter trial. Arch Intern Med 2000; 160:2185-91.

13. Wadden TA, Berkowitz RI, Sarver DB, Prus-Wisniewski R, Steinberg C. Benefits of lifestyle modification in the pharmacological treatment of obesity: a randomized trial. Arch Intern Med 2001; 161:218-27.
14. Finer N, Bloom SR, Frost GS, et al. Sibutramine is effective for weight loss and diabetic control in obesity with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Diabetes Obes Metab 2000;2:105-12
15. Gokcel A, Karakose H, Ertorer EM, Tanaci N, Tutuncu NB, Guvener N. Effects of sibutramine in obese female subjects with type 2 diabetes and poor blood glucose control. Diabetes Care 2001; 24:1957-60.
16. McNulty SJ, Ur E, Williams G. A randomized trial of sibutramine in the management of obese type 2 diabetic patients treated with metformin. Diabetes Care 2003; 26:125-31.
17. Hansen D, Astrup A, Toubro S, Finer N, Kopelman P, Hilsted J, Rossner S, Saris W, Van Gaal L, James W, Goulder For The STORM Study Group M. Predictors of weight loss and maintenance during 2 years of treatment by sibutramine in

- obesity. Results from the European multi-centre STORM trial. Sibutramine Trial of Obesity Reduction and Maintenance. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001 Apr;25(4):496-501.
18. Hainer V, Kunesova M, Bellisle F, Hill M, Braunerova R, Wagenknecht M. Psychobehavioral and nutritional predictors of weight loss in obese women treated with sibutramine. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Dec 07;1-9.
 19. Elfhag K, Rossner S, Carlsson AM, Barkeling B. Sibutramine treatment in obesity: predictors of weight loss including rorschach personality data. *Obes Res*. 2003 Nov;11(11):1391-9.
 20. Kristina Elfhag, Stephan Rosner, Anna Maria Carlsson, and Britta Barkeling Sibutramine Treatment in Obesity: Predictors of Weight Loss Including Rorschach Personality Data *OBESITY RESEARCH* 2003 11(11);1391-9.
 21. Hans Hauner, Marion Meier, Karl-Heinz Jockel, Ulrich H. Frey and Winfried Siffert. Prediction of successful weight reduction under sibutramine therapy through genotyping of the G-protein 3 subunit gene (GNB3) C825T polymorphism *Pharmacogenetics* 2003, 13:453-9.

22. Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, Lowenstein DH, Dallman MF, Julius D: Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature* 1995; 374:542-6.
23. James WPT, Astrup A, Finer N, Hilsted J, Kopelman P, Rossner S, et al. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *Lancet* 2000;356:2119-25.
24. Astrup A, Rossner S. Lessons from obesity management programmes: greater initial weight loss improves longterm maintenance. *Obes Rev* 2000;1:17-9.
25. Ketter, Terence A. Haupt, Dan W.: Perceptions of weight gain and bipolar pharmacotherapy: results of a 2005 survey of physicians in clinical practice. *Current medical research and opinion*, Volume 22, Number 12, December 2006;9: 2345-53.
26. Basile VS, Masellis M, Deluca V, Meltzer HY, Kennedy JL. -759 C/T genetic variation of the 5HT_{2C} receptor and clozapine-induced weight. *Lancet* 2002;360:1790-1.
27. Tsai S-J, Hong C-J, Yu YW-Y, Lin C-H. -759C/T genetic variation of the 5HT_{2C} receptor and clozapine-induced weight. *Lancet* 2002;360:1790.

28. Reynolds GP, Zhang Z, Zhang X. Polymorphism of the promoter region of the serotonin 5-HT(2C) receptor gene and clozapine-induced weight gain. *Am J Psychiatry*. 2003 Apr;160(4):677-9.

Abstract

Gene polymorphism of 5-HT_{2c} receptor influences on the therapeutic effects of sibutramine to obesity

Ji eun Yoon

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Kyung Rae Kim)

Objective: People with obesity are at greater risk of hypertension, type 2 diabetes and dyslipidemia than general population. Weight loss in obese patients improves cardiovascular risk factor and reduces mortality and morbidity. Sibutramine is now world-widely used anti-obesity drug for weight loss. In this study, we evaluated the differences of therapeutic effects of sibutramine according to gene polymorphism of 5-HT_{2c} receptor.

Methods: The samples were acquired from 58 obese patients with BMI \geq 25 kg/m². All patients' anthropometric and chemistry data were obtained. They all received medication therapy of sibutramine 10 mg for 12 weeks. Genomic DNA was isolated from a whole blood sample and

analyzed for the polymorphism of 5-HT_{2c} receptor. And the relationship of 5-HT_{2c} receptor polymorphism and weight loss effect of sibutramine was evaluated.

Results: A definition of weight loss is generally regarded as more than 5% weight loss of basal body weight and a group of success of weight loss was named as responder group. Baseline anthropometric and chemistry data (age, sex, height, weight, lipid profile, glucose, free fatty acid, insulin C-peptide, HbA1c and HOMA-IR) were not significantly different between two groups (responder vs. non-responder). All DNA were analyzed on three loci (-995, -759, -697), and each locus was evaluated for the relationship between wild type & variant type and responder & non-responder. From these results, the possibility that -697 locus polymorphism has a relationship with obesity cannot be excluded. And homozygous haplotype of 5-HT_{2c} receptor polymorphism has a tendency of correlating with easy weight loss.

Conclusion: We suggest that homozygous haplotype of 5-HT_{2c} receptor polymorphism (AA/TT-CC on -995/-759, -697 loci) has a tendency of correlating with easy weight loss on obese patients using sibutramine. But the number of patients enrolled in this study is thought to be small, therefore a larger cohort study will be needed to validate our study.

Key Words: Obesity, Sibutramine, 5-HT_{2c} receptor polymorphism

