

대사증후군과 제2형 당뇨병
환자에서 adiponectin,
TNF- α , IL-6 유전자의
단일염기 다형성 분석

연세대학교 대학원

의 학 과

심 준 용

대사증후군과 제2형 당뇨병
환자에서 adiponectin,
TNF- α , IL-6 유전자의
단일염기 다형성 분석

지도교수 예 병 일

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2008년 2월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

심 준 용

심 준 용의 박사 학위 논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2008년 2월 일

감 사 의 글

본 논문을 완성하기까지 지도해 주신 예병일 교수님께 진심으로 깊은 감사를 드립니다. 또한 연구과정에 많은 도움을 주신 생화학교실 윤준호 선생님과 우미경 선생님, 남궁준 선생님, 미흡한 논문을 관심으로 지켜봐 주신 최종환 교수님, 공인덕 교수님, 고상백 교수님, 신영구 교수님께도 감사의 뜻을 전합니다. 언제나 든든한 버팀목이 되어주는 사랑하는 가족들께 변함없는 사랑을 보냅니다. 감사합니다.

저 자 씀

차 례

표 차례	ii
국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	6
1. 재료	6
2. 임상검사 자료수집	6
3. SNP specific PCR amplification	6
4. 통계 분석	8
III. 결과	10
1. 연구대상 집단의 임상검사 소견	10
2. 연구대상 집단의 신체계측 소견	12
3. 전체 집단별 SNP 분포	12
4. 집단별 SNP 분포	12
5. 일원배치분산분석에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과비교	15
6. T-test에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과비교	17
IV. 고찰	20
V. 결론	25
참고문헌	26
영문요약	32

표 차 례

Table 1. Clinical findings and the values of body measurement.....	7
Table 2. Primer sequences for SNP genotyping.....	9
Table 3. Clinical findings between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome	11
Table 4. Values of body measurement between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome.....	13
Table 5. SNPs between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome.....	14
Table 6. Chi-square analysis of SNPs on the basis of the groups.....	16
Table 7. ANOVA analysis of clinical findings on the basis of SNPs.....	17
Table 8. T-test analysis of clinical findings on the basis of SNPs.....	19

국 문 요 약

대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서 adiponectin, TNF- α , IL-6 유전자의 단일염기 다형성 분석

대사증후군은 최근 유병률이 증가하고 있는 성인질환의 하나로 허혈성 심질환 및 당뇨병과 밀접한 관계가 있는 일련의 군집현상을 일컫는다. 이런 대사증후군의 증가 원인은 여러 가지 이유가 있을 수 있지만 개인의 유전적 특성도 큰 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 개인별 차이의 이유를 설명하기 위해서 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)을 많이 이용하고 있다. 본 연구에서는 대사증후군 및 당뇨병과 관련이 있는 adiponectin, TNF- α , IL-6의 SNP와 질병 위험요인과의 관련성을 연구하였다. 실험에 사용한 시료는 연세대학교 원주의과대학 예방의학교실에서 시행한 한국인 유전체 코호트 사업에서 보관된 genomic DNA를 사용하였다. SNP 분석에 사용한 방법은 각 표적이 되는 DNA 서열을 확인하기 위한 allele specific primer를 제작하여 real-time PCR을 이용한 Tm-shift assay를 시행하였다. 유전자 염기서열 분석 부위는 adiponectin +45T/G, +276G/T, -11377C/G와 TNF- α -308G/A, TNF- α receptor -609G/T, IL-6 receptor +48892A/C이며, 유전자 분포와 질병 위험요인들과의 상관관계를 분석하였다. 정상 집단 100명, 대사증후군 집단 80명, 제2형 당뇨병 집단 67명, 당뇨병 및 대사증후군 집단 40명을 대상으로 SNP 분석을 시행한 결과는 다음과 같다.

1. SNP 유전자형을 분석한 결과 adiponectin -11377(대사증후군 대 제2형 당뇨병), TNF- α receptor -609(정상 대 제2형 당뇨병), TNF- α -308

(대사증후군 대 제2형 당뇨병)가 통계적으로 유의하였다.

2. SNP 유전자형을 wild homozygous와 mutant carrier로 분류하였을 때 adiponectin -11377(대사증후군 대 제2형 당뇨병), TNF- α -308(대사증후군 대 제2형 당뇨병, 당뇨병 대 대사증후군과 당뇨병)가, mutant homozygous와 wild carrier로 분류한 경우 adiponectin +276(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병, 대사증후군 대 대사증후군과 제2형 당뇨병), TNF- α receptor -609(정상 대 제2형 당뇨병), IL-6 receptor +48892(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병)에서 유의한 차이를 보였다.
3. 제2형 당뇨병 및 대사증후군과 관련된 지표들과 SNP 유전자형의 관계에서, 몇몇 지표들이 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 질병군에 따라 결과가 상이하고 동일 질병군내에서도 관련지표들의 변화양상이 다양하게 확인되었다.
4. 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서 TNF- α receptor -609T/T가 G/T보다 인슐린 저항성이 심한 것으로 나타났다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 대사증후군과 제2형 당뇨병 발현에는 유전적 요인이 일부 관여하고 있으나 환경적 요인도 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : 대사증후군, 제 2형 당뇨병, 단일염기다형성(SNP;single nucleotide polymorphism), adiponectin, TNF- α , IL-6

대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서 adiponectin, TNF- α , IL-6 유전자의 단일염기 다형성 분석

<지도교수 예병일>

연세대학교 대학원 의학과

심 준 용

I. 서 론

대사증후군이란 비만의 정도에 따라서 발생 빈도가 증가하는 일련의 대사 이상 질환을 말하며, 당뇨병과 연관된 여러 가지 증상들이 복합적으로 나타나는 특징이 있다. 대사증후군은 syndrome X라고 명명되면서 널리 알려지게 되었는데¹⁾, 인슐린 저항성 증후군²⁾ 또는 the deadly quartet³⁾ 등으로도 불리며 인슐린과 내당저항성, 고혈압, 이상지혈증 등의 증상을 함께 나타낸다. 대사증후군에 대한 정의 및 진단기준은 각 나라별로 차이를 나타내는데, 보편적으로 널리 알려진 세계보건기구(World Health Organization, WHO, 1998)⁴⁾와 NCEP ATP III(National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, 2001)⁵⁾, EGIR(European Group for the study of Insulin Resistance, 1999)⁶⁾, IDF(International Diabetes Federation, 2006)⁷⁾ 등이 있다. 여러 진단기준 중 WHO의 진단기준은 대사증후군과 관련된 진단기준을 가장 먼저 제안했다는 점이 높이 평가되지만 실제 임상적 이용에는 제한점이 있어 NCEP ATP III의 기준이 임상에서 많이 이용되고 있다. 그러나 NCEP ATP III의 진단기준은 내당저항성과 인슐린 저항성을

잘 반영하지 못하는 단점도 있다.

진단기준이 다양하고 복잡한 문제와 함께 대사증후군의 원인도 매우 다양한 특징을 갖고 있다. 대사증후군의 원인으로 제일 먼저 거론할 수 있는 것이 바로 인슐린저항성이다. 인슐린저항성은 당뇨병과 관련이 깊은데, 대사증후군에서 인슐린저항성을 나타내게 하는 가장 큰 요인으로는 과도한 지방산의 존재이다. 혈액 내에 지방산이 과도하게 존재하게 되면 인슐린이 주로 작용하는 기관인 간과 근육에서 인슐린에 의한 작용이 저해를 받게 된다. 지방산과 그 대사산물들은 근육에서 혈중 포도당의 흡수에 관여하는 신호전달과정 중 protein kinase C⁸⁾와 Akt1⁹⁾의 활성을 약화시키며, 간에서도 IRS-1(Insulin receptor substrate-1)과 IRS-2(Insulin receptor substrate-2)의 인산화 과정을 저해하기도 한다¹⁰⁾. 또한 간에 축적된 과도한 지방산들은 이상지혈증의 유발에 관여하게 되는데, 혈중 HDL cholesterol의 양을 감소시키며¹¹⁾, LDL cholesterol의 양을 증가시키게 된다. 특히 증가된 LDL cholesterol 성분 중 small dense LDL의 양이 증가하며¹²⁾, 이것이 다른 형태의 LDL 보다 죽종형성성(atherogenic)이 증가하는 특징을 갖는다는 보고도 있다^{13, 14)}. 이 외에도 췌장의 β 세포에서 인슐린이 분비되는 과정에서 과도한 지방산이 계속적으로 작용하는 경우 인슐린 분비가 정상적으로 일어나지 않게 되어¹⁵⁾, 내당저항성이 나타나게 된다. 결국 이러한 일련의 과정들은 지방산의 증가로 인해 일어나게 되는데, 지방산의 증가는 증가된 지방세포가 이상 증식하거나 지방세포의 기능에 이상이 발생하였을 때 일어날 수 있다.

대사증후군에서는 지방세포의 증식과 분화와 관련이 있는 여러 가지 염증성 cytokine들이 증가되어 있음이 확인되었고, 증가된 염증성 cytokine의 종류에는 IL-6, TNF- α , C-reactive protein 등이 있다¹⁶⁾. 또한 이러한 염증성 cytokine의 증가는 지방세포 조직의 증가를 잘 반영하는 특징이 있다¹⁷⁾. 이 외에 지방세포에서 분비되는 다른 cytokine으로 adiponectin이 있다. adiponectin은 위에서 소개된 염증성 cytokine들의 작용과 반대 기능을 가

지므로 당뇨병과 비만에서 인슐린 감수성을 증가시키고 염증성 반응을 저해하는 특징을 갖고 있다¹⁸⁾.

대사증후군과 당뇨병과 관련된 여러 가지 cytokine들의 농도와 기능에 대한 연구와 더불어 최근에는 여러 연구팀에서 개인간의 유전적인 차이를 확인하기 위한 연구가 진행되고 있다. 가장 활발히 진행되고 있는 유전적인 차이에 대한 연구는 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)이다. 한 예로, adiponectin의 경우 +45번과 +276번 염기의 치환여부가 대사증후군과 당뇨병의 병인과 관계가 있는 것으로 알려지고 있으며¹⁹⁻²²⁾, 그 외에 IL-6, TNF- α 등의 여러 가지 cytokine을 coding하는 유전자의 SNP와 두 질병의 발생빈도를 비교해 보려는 연구가 시도되고 있다²³⁻⁵⁾. 하지만 유전적인 차이는 개인간 차이 이외에도, cytokine의 특징적인 기능들이 서로 상호작용하여 나타나는 것으로 알려져 있다. 그러므로 한가지 cytokine에 대한 연구보다는 서로 상호작용하는 cytokine들과 그 수용체들을 함께 연구하는 것이 더 자세한 정보를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구는 유전체 코호트 사업에 참여하고 있는 대사증후군과 당뇨병 환자를 대상으로 adiponectin, TNF- α , TNF- α receptor, IL-6, IL-6 receptor 유전자의 단일염기다형성을 분석하여 발병빈도와 관련이 있는 SNP를 찾아내고, 각 유전자들이 서로 상관성을 가지고 있는지를 확인하고자 하였다. 또한 대사증후군 및 당뇨병과 관련된 여러 가지 위험인자와 각 유전자의 다형성과의 상관관계를 알아보하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

조사대상은 2005년부터 2006년까지 연세대학교 원주의과대학에서 시행된 한국 유전체 코호트 사업에 포함된 3508명 중에서 당뇨병의 가족력이 있는 사람들을 제외하고 당뇨병 및 대사증후군이 없는 정상인 100명(I군), 대사증후군으로 진단된 환자 80명(II군), 제2형 당뇨병으로 진단된 환자 67명(III군), 제2형 당뇨병과 대사증후군을 모두 가지고 있는 사람 40명(IV군)의 총 287명을 무작위로 추출하였다. 대사증후군과 당뇨병의 진단기준은 각각 NCEP-ATP III⁵⁾와 WHO²⁶⁾ 진단기준을 사용하였다.

2. 임상검사 자료 수집

유전체 코호트 사업에서 조사된 임상 검사 및 신체 측정 수치 자료들을 바탕으로(Table 1) 통계분석을 하였다. HOMA-IR(homeostasis model assessment) 값은 조사된 자료 중 공복시 혈당과 인슐린 치를 이용하여 구하였다.

3. SNP specific PCR amplification

본 연구에서 조사대상으로 삼은 SNP는 모두 8가지로 adiponectin -11377C/G, +45T/G, +276G/T, TNF- α -308G/A, TNF- α receptor -609G/T, IL-6 -174G/C, IL-6 +48892A/C, IL-6 receptor이다.

Genomic DNA에 대하여 표적이 되는 유전자의 SNP genotyping은 Tm-shift primer를 이용한 Tm-shift genotyping²⁷⁾ 방법을 이용하였다.

Table1. Clinical findings and the values of body measurement.

parameter		parameter	
Fasting glucose (mg/dL)	Glu	Total adiponectin (ug/mL)	Adiponectin
Glucose 1 hour (mg/dL)	Glu01	Homeostasis model assessment	HOMA-IR
Glucose 2 hours (mg/dL)	Glu02	Height (cm)	Height
Asparatate transaminase (IU/L)	AST	Weight (kg)	Weight
Alanine transaminase (IU/L)	ALT	Waist circumference (cm)	Waist
γ -glutamyltranspeptidase (IU/L)	γ GTP	Hip circumference (cm)	Hip
Total cholesterol (mg/dL)	T.Chol	Pulse	Pulse
Triglyceride (mg/dL)	Tg	Systolic Blood Pressure (mmHg)	SBP
HDL cholesterol (mg/dL)	HDL	Diastolic Blood Pressure (mmHg)	DBP
LDL cholesterol (mg/dL)	LDL	Body Mass Index (kg/m ²)	BMI
Hemoglobin A1c (%)	HbA1c	Body Fat	Bodyfat
WBC count (X 10 ⁹ /L)	WBC	External Cellular Fluid	Excell
C-reactive protein (mg/dL)	CRP	Internal Cellular Fluid	IncCell
Fasting insulin (uU/mL)	Insulin	Muscle Mass	Muscle
Insulin 2 hours (uU/mL)	Insulin02	Visceral Fat	Visfat
Insulin 3 hours (uU/mL)	Insulin03	Body Protein	Bodyprt
Ferritin (ng/mL)	Ferritin		

Genotyping을 위한 표적 유전자의 SNP specific primer를 디자인하였고, DNA가 염기서열에 따라 변성되는 차이를 이용한 분석을 위하여 GC-tail 또는 AT-tail 부분을 포함시켜 제작하였다(Table 2). Genotyping을 위한 PCR 반응은 QuantiTect SYBR Green PCR kit(Qiagen)를 이용하여 전체 12.5ul의 부피에 대해 2X master mix 6.25ul, F1 혹은 F2 primer 0.25ul, CR primer 0.25ul, genomic DNA 0.5ul, DW 5.25ul 의 조성으로 반응시켰고, Real-Time PCR 장비는 Rotor-Gene 3000(Corbett Research)을 사용하

여 실험을 수행하였다. PCR 반응은 95℃에서 15분간의 활성화 후 40회의 95℃ 20초, annealing temperature 60초, 72℃ 30초 반응을 거쳤다. PCR 반응이 끝난후 65℃ 부터 95℃ 까지 melting analysis를 시행하여 온도변화에 따른 형광값의 변화를 분석하였다.

4. 통계분석

각 실험 군의 genotyping 결과와 수집된 임상자료를 대상으로 ANOVA & t-test와 Chi square방법을 이용하여 분석하였다. 통계처리는 SPSS 12.0을 이용하였으며, 결과 값은 평균±표준편차로 표시하였고, 통계분석 결과 p-value가 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

Table2. Primer sequences for SNP genotyping.

Target ¹	Primer	Sequence (5' to 3')
Adiponectin -11377C/G rs266729 61°C	F1	CCGGCCAGGGCGGCACCGGCTCAGATCCTGCC
	F2	ATAAATACCGGCTCAGATCCTGCC
	CR	CAACATTCAACACCTTGGACTTTCTTG
Adiponectin +45T/G rs2241766 60°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCTATTAGCTCTGCCCGGT
	F2	GCGGGCCTATTAGCTCTGCCCGGG
	CR	CATCCAACCTGTGCAGGC
Adiponectin +276G/T rs1501299 58°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCAGACCTCCTACACTGATATAAACTAG
	F2	GCGGGCAGACCTCCTACACTGATATAAACTAT
	CR	AGCTTTGCTTTCTCCCTGTGTG
TNF-α -308G/A rs1800629 60°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCTAGGTTTTGAGGGGCATGG
	F2	GCGGGCTAGGTTTTGAGGGGCATGA
	CR	TCTGGGCCACTGACTGATTTG
TNF-α receptor -609G/T rs4149570 55°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCGGAAAACAGATCCAGACAGC
	F2	ATAAATGGAAAACAGATCCAGACAGT
	CR	CAAATTCTCTGGGTTCCAATTCAGAATG
IL-6 -174G/C rs13447445 60°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCTTGAGACTCTAATATTGAGACTCATG
	F2	GCGGGCTTGAGACTCTAATATTGAGACTCATC
	CR	CCACCCTCACCTCCAAC
IL-6 receptor +183G/A rs4845617 60°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCCACTGACACTGAGCCGGG
	F2	ATAAATCACTGACACTGAGCCGGA
	CR	GAGTCCCTCGGCCCGCG
IL-6 receptor +48892A/C rs8192284 54°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCCAATTTTTTTTTTAACTAGTGCAAGA
	F2	ATAAATCCAATTTTTTTTTTAACTAGTGCAAGC
	CR	CAGAGGAGCGTCCGAAGGC

¹ : Location of target SNP, SNP ID and annealing temperature. F1 : forward primer for wild allele, F2 : forward primer for mutant allele, CR : common reverse primer.

III. 결 과

1. 연구대상 집단의 임상검사 소견

조사대상 287명의 임상검사 결과를 집단별로 나누어 분석하였을 때 통계적으로 유의한 차이들을 발견할 수 있었다(Table 3). 경구 당부하검사에서 공복시 혈당, 1시간후 혈당, 2시간후 혈당 모두 제2형 당뇨병 집단과 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단이 정상 집단과 대사증후군 집단보다 높은 수치를 나타내었으며 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단은 제2형 당뇨병 집단보다 공복시 높은 혈당을 가진 것으로 나타났다. 간효소 수치검사에서는 당뇨병 집단이 정상 집단과 대사증후군 집단보다 높은 수치를 나타내었다. 지질 및 지단백질 검사에서는 대사증후군 집단이 정상 집단과 제2형 당뇨병 집단보다 높은 중성지방(triglyceride) 수치를 보였고, 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단은 나머지 집단들보다 높은 중성지방 수치를 보였다. HDL 콜레스테롤 수치는 대사증후군 집단이 정상 집단과 제2형 당뇨병 집단에 비해 낮았고 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단 역시 정상 집단과 대사증후군 집단보다 낮게 나왔다. 당화혈색소는 제2형 당뇨병 집단과 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단이 정상 집단과 대사증후군 집단보다 높게 측정되었다. 백혈구 수치는 정상 집단에 비해 나머지 집단들에서 모두 높았다. 경구 당부하검사와 함께 측정한 시간대별 인슐린 검사에서는 공복시 대사증후군 집단과 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단이 정상보다 높은 수치를, 2시간 후 수치는 대사증후군 집단이 다른 집단들보다 높게 나타났다. 제2형 당뇨병 집단에서는 정상 집단보다 높은 ferritin 농도가, 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서는 정상 집단보다 낮은 adiponectin 농도가 관찰되었다. HOMA-IR 수치는 제2형 당뇨병 집단이 정상집단보다, 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단이 다른 나머지 집단들보다 높게 나타났다.

Table 3. Clinical findings between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome.

Parameter	I	II	III	IV
Glu	82.22 ± 6.99	87.50 ± 7.28	116.81 ± 42.69 ^{1,2}	132.57 ± 37.85 ^{1,2,3}
Glu01	147.64 ± 41.70	147.31 ± 33.34	271.63 ± 68.99 ^{1,2}	291.13 ± 60.29 ^{1,2}
Glu02	101.97 ± 21.97	108.95 ± 20.53	268.54 ± 70.00 ^{1,2}	276.80 ± 61.03 ^{1,2}
AST	29.56 ± 18.84	28.18 ± 9.86	39.39 ± 33.74 ^{1,2}	28.78 ± 10.95
ALT	25.26 ± 22.56	24.50 ± 11.36	38.22 ± 39.67 ^{1,2}	32.10 ± 18.36
γGTP	31.04 ± 33.26	31.18 ± 33.24	58.33 ± 56.59 ^{1,2}	39.70 ± 33.54
T.Chol	206.94 ± 34.58	205.18 ± 36.22	204.72 ± 40.79	225.23 ± 48.02
Tg	96.09 ± 29.02	213.96 ± 91.32 ¹	134.84 ± 86.17 ²	267.90 ± 183.99 ^{1,2,3}
HDL	54.77 ± 9.10	44.14 ± 9.52 ¹	51.34 ± 12.64 ²	43.60 ± 9.36 ^{1,2}
LDL	117.10 ± 29.74	119.31 ± 31.65	113.28 ± 32.99	131.18 ± 37.00
HbA1c	5.375 ± 0.34	5.45 ± 0.33	6.80 ± 1.58 ^{1,2}	7.17 ± 1.49 ^{1,2}
WBC	5.375 ± 0.34	5.45 ± 0.33 ¹	6.80 ± 1.58 ¹	7.17 ± 1.49 ¹
CRP	2.20 ± 5.80	1.717 ± 2.24	4.08 ± 9.17	2.60 ± 3.47
Insulin	7.30 ± 2.40	8.94 ± 2.88 ¹	8.40 ± 5.21	9.99 ± 4.35 ¹
Insulin02	40.15 ± 24.21	57.70 ± 50.42 ¹	25.55 ± 20.63 ²	29.53 ± 23.32 ²
Insulin03	27.10 ± 19.65	36.23 ± 23.90	34.22 ± 29.70	36.71 ± 37.64
Ferritin	85.24 ± 93.41	126.00 ± 160.46	175.10 ± 231.75 ¹	125.01 ± 92.95
Adiponectin	12.21 ± 5.04	10.24 ± 6.38	10.84 ± 5.26	82.27 ± 5.16 ¹
HOMA-IR	1.60 ± 0.58	1.94 ± 0.67	2.40 ± 1.42 ¹	3.28 ± 1.93 ^{1,2,3}

I : normal group. II : metabolic syndrome group, III : type II diabetes group, IV : metabolic syndrome and type II diabetes group. p<0.05 between normal group⁽¹⁾, between metabolic syndrome group⁽²⁾ and between type II diabetes group⁽³⁾.

2. 연구대상 집단의 신체계측 소견

신체계측 검사결과상 통계적으로 유의한 차이를 보이는 내용은 다음과 같았다(Table 4). 대사증후군 집단의 몸무게는 정상 집단보다 높았으며, 허리둘레와 엉덩이 둘레는 대사증후군 집단이 정상 집단과 대사증후군 집단보다, 당뇨병 및 대사증후군 집단은 정상 집단과 당뇨병 집단보다 높게 나타났다. 대사증후군 집단은 정상 집단과 당뇨병 집단보다 이완기 혈압이 높았고, BMI와 체지방 지수는 정상 집단이 다른 나머지 집단들보다 낮았다. 세포외액량은 대사증후군 집단과 당뇨병 집단이 정상 집단보다 높았고, 내장지방 수치는 대사증후군 집단이 정상 집단과 당뇨병 집단보다, 당뇨병 및 대사증후군 집단이 정상 집단과 당뇨병 집단보다 높게 측정되었다.

3. 전체 집단별 SNP 분포

조사대상 유전자들의 SNP 유전자형의 분포를 질병군별로 나누어 분석하였다(Table 5). 대부분의 경우에서 wild homozygous 형태가 가장 많이 나타났으나, TNF- α -609번 위치와 IL-6 receptor +48892번 위치는 heterozygous 형태가 가장 많이 나타났다. SNP 유전자형과 4개 질병군과의 상관관계는 통계적으로 유의하지 않았다. IL-6 -174, IL-6 receptor -183의 경우 287명 모두 유전자형이 각각 wild homozygous, heterozygous로 표현되어 분석대상에서 제외하였다.

4. 집단별 SNP 분포 chi-square 검정

SNP 유전자형과 질병 유무의 상관관계를 더 조사하기 위하여 질병군을 2개씩 추출하여 chi-square 검정을 시행하였다(Table 6).

Table 4. Values of body measurement between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome.

Parameter	I	II	III	IV
Height	158.40 ± 8.07	159.69 ± 8.54	158.96 ± 8.96	156.49 ± 7.30
Weight	59.69 ± 9.52	64.89 ± 15.31 ¹	60.23 ± 9.85	64.59 ± 8.67
Waist	82.59 ± 8.59	90.21 ± 6.46 ¹	83.48 ± 7.04 ²	91.91 ± 6.94 ^{1,3}
Hip	95.01 ± 7.74	101.05 ± 5.50	95.53 ± 5.07	100.44 ± 7.39 ^{1,3}
Pulse	73.10 ± 10.79	73.44 ± 8.98	76.60 ± 12.90	75.74 ± 11.02
SBP	130.81 ± 1.190	137.45 ± 16.75	129.97 ± 21.58	133.71 ± 17.62
DBP	81.59 ± 11.61	87.16 ± 10.40 ¹	80.18 ± 12.47 ²	82.66 ± 10.02
BMI	21.71 ± 1.77	25.03 ± 3.69 ¹	24.39 ± 2.65 ¹	24.52 ± 3.48 ¹
Bodyfat	13.85 ± 3.37	19.02 ± 6.00 ¹	17.44 ± 4.81 ¹	18.25 ± 5.49 ¹
Excell	9.89 ± 1.31	11.50 ± 1.91 ¹	11.01 ± 1.84 ¹	10.64 ± 1.47
Incell	19.88 ± 2.97	20.54 ± 3.75	20.41 ± 3.65	20.84 ± 3.44
Muscle	38.99 ± 5.87	40.15 ± 7.38	40.29 ± 7.21	40.23 ± 6.77
Visfat	2.40 ± 1.19	2.83 ± 0.79 ¹	2.16 ± 0.75 ²	2.98 ± 0.85 ^{1,3}
Bodyprt	8.46 ± 1.37	8.62 ± 1.73	8.82 ± 1.74	8.51 ± 1.77

p<0.05 between normal group⁽¹⁾, between metabolic syndrome group⁽²⁾ and between type II diabetes group⁽³⁾.

Table 5. SNPs between the normal, metabolic syndrome, type II diabetes, and type II diabetes with metabolic syndrome.

Target1	Group	Wild homozygous	Heterozygous	Mutant homozygous
Adiponectin -11377 CC/CG/GG	I	47 (47.00%)	40 (40.00%)	13 (13.00%)
	II	43 (53.75%)	32 (40.00%)	5 (6.25%)
	III	24 (35.82%)	32 (47.76%)	11 (16.42%)
	IV	21 (52.50%)	17 (42.50%)	2 (5.00%)
Adiponectin + 45 TT/TG/GG	I	54 (54.00%)	41 (41.00%)	5 (5.00%)
	II	39 (48.75%)	30 (37.50%)	11 (13.7%)
	III	34 (50.75%)	26 (38.81%)	7 (10.45%)
	IV	24 (60.00%)	12 (30.00%)	4 (10.00%)
Adiponectin + 276 GG/GT/TT	I	46 (46.00%)	44 (44.00%)	10 (10.00%)
	II	43 (53.75%)	30 (37.50%)	7 (8.75%)
	III	36 (53.73%)	22 (32.84%)	9 (13.43%)
	IV	17 (42.50%)	13 (32.50%)	10 (25.00%)
TNF- α receptor -609 GG/GT/TT	I	30 (30.00%)	47 (47.00%)	23 (23.00%)
	II	28 (35.00%)	41 (51.25%)	11 (13.75%)
	III	30 (44.78%)	32 (47.76%)	5 (7.46%)
	IV	10 (25.00%)	24 (60.00%)	6 (15.00%)
TNF- α -308 GG/GA/AA	I	87 (87.00%)	12 (12.00%)	1 (1.00%)
	II	78 (97.50%)	2 (2.50%)	0 (0.00%)
	III	58 (86.57%)	9 (13.43%)	0 (0.00%)
	IV	35 (87.50%)	4 (10.00%)	1 (2.50%)
IL-6 receptor + 48892 AA/AC/CC	I	0 (0.00%)	82 (82.00%)	18 (18.00%)
	II	0 (0.00%)	67 (83.75%)	13 (16.25%)
	III	0 (0.00%)	51 (76.12%)	16 (23.88%)
	IV	2 (5.00%)	35 (87.50%)	3 (7.50%)

adiponectin -11377번 위치의 경우 대사증후군 집단과 당뇨병 집단 사이에서 통계적으로 유의한 상관관계를 확인하였고, TNF- α receptor -609번 위치의 경우 정상 집단과 당뇨병 집단에서, TNF- α -308번 위치의 경우 대사증후군 집단과 당뇨병 집단에서 통계적으로 유의한 상관 관계가 있었다.

5. 일원배치분산분석에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과 비교

SNP 유전자형에 따른 임상검사 및 신체계측 검사 결과치의 차이를 확인하기 위하여 각 질환군 별로 일원배치분산분석(ANOVA)을 시행하였다 (Table 7). 통계적으로 유의한 차이를 보이는 경우는 다음과 같다. adiponectin -11377 G/G인 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단은 C/C보다 높은 CRP 수치를 나타냈으며, C/G인 제2형 당뇨병 집단은 C/C보다 낮은 영당이 둘레를 나타냈다. adiponectin +45 G/G인 제2형 당뇨병 집단은 다른 유전자형보다 높은 체내단백질량, ferritin, 세포내액, 근육수치를, T/G보다 높은 몸무게를 보였으며, T/G인 대사증후군 집단은 T/T보다 높은 CRP 수치를, T/G인 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단은 T/T보다 높은 경구혈당검사 2시간후 인슐린 농도를 나타냈다. adiponectin +276 T/T일때 정상 집단에서 G/T보다 큰 영당이둘레를 나타내었다. TNF- α receptor -609 G/T인 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단은 G/G보다 낮은 ALT, AST, 경구혈당검사 2시간후 인슐린 농도를 보였으며, T/T인 경우에는 당뇨병 및 대사증후군 집단에서 G/T보다 높은 HOMA-IR 값이 관찰되었다. 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서는 IL-6 receptor +48892 A/C형태가 A/A보다 낮은 경구혈당검사 2시간후 포도당 농도와 당화혈색소 수치를 보였다.

Table 6. Chi-square analysis of SNPs on the basis of the groups.

Target	Group	Wild homozygous	Mutant carrier	Mutant homozygous	Wild carrier
Adiponectin -11377	I	47 (47.0%)	53 (53.0%)	13 (13.0%)	87 (87.0%)
	II	43 (53.8%)	37 (46.3%)	5 (6.3%)	75 (93.8%)
	III	24 (35.8%)	43 (63.2%) ²	11 (16.4%)	56 (83.6%)
	IV	21 (52.5%)	19 (47.5%) ³	2 (5.0%)	38 (95.0%)
Adiponectin +45	I	54 (54.0%)	46 (46.0%)	5 (5.0%)	95 (95.0%)
	II	39 (48.8%)	41 (51.3%)	11 (13.8%)	69 (86.3%)
	III	34 (50.7%)	33 (49.3%)	7 (10.4%)	60 (89.6%)
	IV	24 (60.0%)	16 (40.0%)	4 (10.0%)	36 (90.0%)
Adiponectin +276	I	46 (46.0%)	54 (54.0%)	10 (10.0%)	90 (90.0%)
	II	43 (53.8%)	37 (46.3%)	7 (8.8%)	73 (91.3%)
	III	36 (53.7%)	31 (46.3%)	9 (13.4%)	58 (86.6%)
	IV	17 (42.5%)	23 (57.5%)	10 (25.0%)	30 (75.0%) ^{1,2}
TNF- α -308	I	30 (30.0%)	70 (70.0%)	23 (23.0%)	77 (77.0%)
	II	28 (35.0%)	52 (65.2%)	11 (13.8%)	69 (86.3%)
	III	30 (44.8%)	37 (55.2%)	5 (7.5%)	62 (92.5%) ¹
	IV	10 (25.0%)	30 (75.0%)	6 (15.0%)	34 (85.0%)
TNF- α receptor -609	I	87 (87.0%)	13 (13.0%)	1 (1.0%)	99 (99.0%)
	II	78 (97.5%)	2 (2.5%) ¹	0 (0.0%)	80 (100.0%)
	III	58 (86.6%)	9 (13.4%) ²	0 (0.0%)	67 (100.0%)
	IV	35 (87.5%)	5 (12.5%) ²	1 (2.5%)	39 (97.5%)
IL-6 receptor +48892	I	0 (0.0%)	100 (100.0%)	18 (18.0%)	82 (82.0%)
	II	0 (0.0%)	80 (100.0%)	13 (16.3%)	67 (83.8%)
	III	0 (0.0%)	100 (100.0%)	16 (23.9%)	51 (76.1%)
	IV	2 (5.0%)	38 (95.0%)	3 (7.5%)	37 (92.5%) ³

p<0.05 compared with the values in normal group⁽¹⁾, in metabolic syndrome

group⁽²⁾ and in type II diabetes group⁽³⁾.

Table 7. ANOVA analysis of clinical findings on the basis of SNPs.

Target	Group	Parameter	Wild homozygous	Heterozygous	Mutant homozygous
Adiponectin -11377	III	Hip	97.71 ± 4.86	94.19 ± 5.07 ¹	94.68 ± 4.23
	IV	CRP	1.88 ± 2.10	2.79 ± 3.35	8.58 ± 10.89 ¹
	II	CRP	1.18 ± 1.27	2.53 ± 2.95 ¹	1.40 ± 2.22
		Bodyprt	8.91 ± 1.70	8.21 ± 1.59	10.66 ± 1.07 ^{1,2}
Adiponectin +45	III	Ferritin	163.27 ± 173.25	121.53 ± 96.69	431.57 ± 544.77 ^{1,2}
		IncCell	20.52 ± 3.51	19.13 ± 3.26	24.63 ± 2.45 ^{1,2}
		Muscle	40.49 ± 7.06	37.83 ± 6.39	48.43 ± 4.81 ^{1,2}
		Weight	60.81 ± 10.41	56.84 ± 7.82	70.00 ± 7.31 ²
	IV	Insulin03	28.19 ± 19.12	59.97 ± 57.95 ¹	18.08 ± 9.89
Adiponectin +276	I	Hip	94.78 ± 6.51	96.48 ± 6.41	89.60 ± 14.31 ²
TNF-α receptor -609	IV	ALT	44.00 ± 25.48	26.83 ± 10.63 ¹	33.33 ± 22.89
		AST	35.90 ± 15.50	25.71 ± 5.97 ¹	29.17 ± 13.82
		Insulin03	60.92 ± 62.39	25.16 ± 15.60 ¹	42.57 ± 32.74
		HOMA-IR	3.09 ± 0.60	2.89 ± 0.95	5.11 ± 4.41 ²
IL-6 receptor +48892	IV	Glu02	379.50 ± 24.75	271.37 ± 59.37 ¹	271.67 ± 36.23
		HbA1c	9.85 ± 1.91	7.03 ± 1.40 ¹	6.97 ± 0.70

p<0.05; compared with the values in wild homozygous⁽¹⁾ and in heterozygous⁽²⁾.

6. T-test에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과 비교

유전자형에 따른 검사결과치의 차이를 더 자세히 알아보기 위하여 유전자형을 wild homozygous와 mutant carrier, 또는 mutant homozygous와 wild carrier의 두 집단으로 나누어 t-test를 시행하였다(Table 8). 통계적으로 유의한 차이를 보이는 경우들은 다음과 같다. adiponectin -11377 C carrier인 경우는 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서 G/G보다 높은 BMI, 수축기 혈압을 나타냈고, G carrier인 경우는 C/C보다 낮은 수축기 혈압을 보였으며, 엉덩이 둘레는 제2형 당뇨병 집단에서는 낮게, 정상 집단에서는 높게 관찰되었다. adiponectin+45 T carrier인 경우는 정상 집단

서 낮은 이완기 혈압과 경구혈당검사 1시간후 포도당 농도가 관찰되었고, G carrier에서는 낮은 경구혈당검사 2시간후 포도당 농도가 보였으며, 대사증후군 집단에서는 T carrier에서 낮은 중성지방수치를 확인하였다. 제2형 당뇨병 집단에서 G carrier는 T/T보다 낮은 수축기 혈압, 이완기 혈압, HDL 콜레스테롤, 높은 LDL 콜레스테롤과 전체 콜레스테롤 수치를 나타내었다. adiponectin +276 G carrier인 경우는 낮은 BMI(정상 집단), 낮은 HDL콜레스테롤(대사증후군 집단), 높은 경구혈당검사 1시간후 포도당(제2형 당뇨병 집단), 높은 2시간후 인슐린(제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단)을 나타내었다. TNF- α receptor -609 G carrier인 경우는 제2형 당뇨병 집단에서 낮은 경구혈당검사 2시간후 포도당, 높은 수축기 혈압을 나타내었다. TNF- α -308 A carrier인 경우에는 정상 집단에서 높은 adiponectin농도, 낮은 이완기 혈압과 중성지방 수치를 보이고, 대사증후군 집단에서는 높은 HDL 콜레스테롤, 낮은 공복시 인슐린 농도를 보였으며, 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서는 낮은 경구혈당검사 1시간후 및 2시간후 혈당 수치, 당화혈색소를 나타내었다. IL-6 receptor +48892 C carrier인 경우 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서 경구혈당검사 1시간후 및 2시간후 혈당, 당화혈색소, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤이 낮게 나왔고, A carrier인 경우는 제2형 당뇨병 집단과 정상 집단 모두에서 낮은 이완기 혈압이 측정되었다.

Table 8. T-test analysis of clinical findings on the basis of SNPs.

Target	Group	Parameter	Wild homozygous	Mutant carrier	Mutant homozygous	Wild carrier	
Adiponectin -11377	IV	BMI	24.86 ± 2.99	24.15 ± 4.01	19.20 ± 0.28	24.80 ± 3.34 ²	
		SBP	138.86 ± 15.78	127.35 ± 18.13 ¹	108.50 ± 2.121	135.11 ± 17.02 ²	
	III	Hip	97.71 ± 4.85	94.32 ± 4.82 ¹	94.80 ± 4.23	95.70 ± 5.24	
Adiponectin +45	II	Hip	99.93 ± 6.01	102.35 ± 4.59 ¹	102.00 ± 2.45	100.99 ± 5.65	
		I	DBP	79.70 ± 10.02	83.86 ± 13.04	89.40 ± 1.34	81.16 ± 1.23 ²
			Glu01	147.87 ± 40.03	147.37 ± 44.02	184.20 ± 53.71	145.72 ± 40.42 ²
	Glu02		106.19 ± 19.96	97.02 ± 23.37 ¹	104.60 ± 27.70	101.83 ± 21.80	
	II	Tg	210.72 ± 84.85	217.05 ± 98.03	267.45 ± 121.97	205.43 ± 83.45 ²	
		III	DBP	84.21 ± 12.18	75.77 ± 11.41 ¹	72.33 ± 14.72	80.98 ± 12.08
			HDL	54.50 ± 14.34	48.09 ± 9.80 ¹	47.29 ± 7.72	51.82 ± 13.06
		SBP	135.18 ± 23.26	124.26 ± 18.27 ¹	120.00 ± 20.98	130.98 ± 21.55	
	T.Chol	194.38 ± 25.66	215.36 ± 50.22 ¹	211.43 ± 28.68	203.93 ± 42.09		
	Adiponectin +276	I	BMI	21.42 ± 1.85	21.96 ± 1.69	22.43 ± 1.02	21.63 ± 1.82 ²
HDL			42.30 ± 8.80	46.27 ± 9.99	51.14 ± 9.48	43.47 ± 9.31 ²	
III		Glu	120.08 ± 44.97	113.00 ± 40.28	98.89 ± 11.73	119.59 ± 45.08 ²	
		Insulin03	38.44 ± 42.24	35.44 ± 34.79	23.74 ± 9.46	41.04 ± 42.43 ²	
TNF-α R -609 -308	III	Glu02	261.13 ± 62.32	274.54 ± 75.97	334.40 ± 95.02	263.23 ± 65.77 ²	
		I	Adiponectin	11.79 ± 4.71	15.00 ± 6.39 ¹	N.A	N.A
	DBP		82.50 ± 11.63	75.69 ± 9.96 ¹	N.A	N.A	
	Tg		99.09 ± 27.33	76.00 ± 33.04 ¹	N.A	N.A	
	II	HDL	43.67 ± 9.16	62.50 ± 2.12 ¹	N.A	N.A	
		Insulin	9.05 ± 2.84	4.90 ± 0.99 ¹	N.A	N.A	
		IV	Glu01	296.54 ± 61.95	253.20 ± 27.75 ¹	N.A	N.A
			Glu02	284.14 ± 61.51	225.40 ± 19.55 ¹	N.A	N.A
	HbA1c		7.28 ± 1.56	6.40 ± 0.31 ¹	N.A	N.A	
	IL-6 R +48892	I	DBP	N.A	N.A	86.72 ± 16.93	80.42 ± 9.80 ²
			DBP	N.A	N.A	86.19 ± 10.39	78.22 ± 12.55 ²
		III	Glu01	376.50 ± 19.09	286.63 ± 58.37 ¹	270.00 ± 52.83	292.84 ± 61.18
			Glu02	379.50 ± 24.75	271.39 ± 57.53 ¹	271.67 ± 36.23	277.22 ± 62.93
HbA1c			9.85 ± 1.91	7.03 ± 1.35 ¹	6.97 ± 0.70	7.18 ± 1.54	
HDL	57.50 ± 9.19	42.87 ± 8.89 ¹	38.33 ± 4.73	44.03 ± 9.55			

p<0.05 between Wild homozygous⁽¹⁾ and between mutant homozygous⁽²⁾. N.A :

not available

IV. 고 찰

대사증후군은 이름에서도 알 수 있듯이 다양한 증상들의 종합으로 나타나며, 아직 명확한 병태생리기전이 밝혀지지 않은 상태이고 하나의 질병으로 다루어야 하는지에 대해서도 학문적 공감대가 형성되지 않고 있다. 또한 환경 및 유전적 요소가 고루 관여하는 대표적인 다인자성 질환으로, 어느 한쪽이 우세한지에 대해서도 의견이 다양하다. 당뇨병, 비만, 고지혈증, 고혈압 등과 연관되어 대사증후군은 면역 반응과 인슐린 저항성이라는 공통된 내용을 포함하고 있으며, 그에 따라 대사증후군에서는 발병과 진행과 관련된 세포간/세포내 신호전달에 관한 부분에 대한 연구가 활발하다. 특히 면역세포나 지방세포에서 분비되는 cytokine들은 대사증후군이나 기타 연관된 질병에서 증가 혹은 감소되는데, 이들은 진단, 예방 및 추적관찰의 표지자, 병태생리기전과 관련된 치료의 대상 등으로 이용되거나 연구되고 있다. 그러나, 대부분의 연구가 양적인 차이에 대한 통계적 연관성만을 조사하는데 그치고 있어서 cytokine들의 양적인 차이가 어디에서 기인되었는지를 유추해내기가 어려운 실정이다. 따라서 본 연구는 그러한 차이가 유전적 요인에서 비롯된다는 가설을 세우고 해당 유전자들의 SNP를 분석하여 그에 따른 관계를 알아보려고 하였다.

맞춤의학이라는 새로운 패러다임과 함께 부각되고 있는 SNP는 동일한 요인을 갖고 있는 개인들간에 나타나는 표현형의 차이(특정 질병의 발병 유무, 진행 정도, 치료 효과 등)를 설명해주는 데 용이하다. SNP는 유전자 내에 존재하는 위치와 codon의 변화양상에 따라 해당 단백질의 양적인 차이(promoter 부분에 존재할 경우)나 아미노산 서열의 변화(coding region인 경우)를 유발할 수 있으며, 아미노산 서열이 바뀌지 않는 silent mutation인 경우라도 우리가 현재까지 알지 못하는 다른 유전자들과의 상호작용으로 영향을 미칠 수 있다.

대사증후군 및 당뇨병과 연관되어 있다고 알려진 수많은 유전자들 중에

서 본 연구에서 대상으로 삼은 유전자는 adiponectin, TNF- α , IL-6인데, adiponectin은 인슐린 저항성 개선에, TNF- α 와 IL-6는 병태생리기전 중 염증반응과 관련되어 있다. 상기 유전자들에 대해서 알려진 SNP들 중에서 몇가지 위치가 대사증후군 및 당뇨병과 연관되어 있다는 보고가 있으며, 본 연구에서도 해당 위치를 조사하여 기존 연구 결과와 비교해보고자 하였다. adiponectin, TNF- α , IL-6 모두에서 promoter 부분의 SNP를 대상으로 하여 해당 cytokine들의 혈중 농도를 비교하려 하였으나 연구에 이용한 코호트 사업에서는 TNF- α , IL-6에 대한 정량검사가 이루어지지 않았으므로 TNF- α 와 IL-6의 receptor에 대한 SNP 검사를 추가하였고, adiponectin에서는 잘 알려진 SNP인 +45번 위치와 +276번 위치에 대한 검사를 추가하였다. IL-6는 SNP 유전자형이 한 종류로만 나와서 분석에선 제외하였다. 또한 조사대상 SNP 중 IL-6 receptor +48892와 TNF- α receptor -609는 대사증후군 및 당뇨병과 관련되어 연구된 적이 없는 대상으로 본 연구에서 처음 분석하는 대상이며, 본 연구에서 대상으로 삼은 SNP 중에서 IL-6 receptor +48892만이 아미노산 서열의 변화(A가 C로 바뀌면서 aspartic acid가 alanine으로 바뀜)를 보였다.

대사증후군과 당뇨병의 진단 기준은 각각 NCEP-ATP III⁵⁾, WHO²⁶⁾ 기준을 사용하였다. 이들은 각각 가장 많이 사용되고 있는 기준이지만, 대사증후군의 경우 진단 기준 변경에 대해서 여러 연구결과가 나오고 있으며, IDF⁷⁾에서는 NCEP-ATP III의 내용에 검사결과치와 상관없이 투약 중인 경우를 모두 포함시키기 때문에 IDF를 기준으로 할 경우, 대사증후군으로 진단되는 환자수가 더 늘어날 것으로 예상되나, 본 사업에서는 해당 내용에 대한 정보가 존재하지 않아서 NCEP-ATP III 기준을 사용하였다.

연구대상 287명을 각각의 기준에 따라 분류하였을 때, 혈중 adiponectin의 농도는 당뇨병 및 대사증후군 집단에서만 정상 집단과 통계적으로 유의한 차이를 보이고 나머지 집단 사이에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 adiponectin -11377, +45, +276번 위치의 SNP 유전자형에 따른

adiponectin 농도를 비교하였을 때에도 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며, 4개의 질환군으로 나누었을 때도 결과는 동일하였다. 이는 기존에 발표된 연구 결과들과 차이를 보이는 것으로, 다음과 같은 원인들을 생각해 볼 수 있다. 연구 집단에서 보이는 adiponectin 농도의 표준편차가 크게 나타났으므로, 극단값들을 제외하고 통계처리를 해야 하지만, 각 집단에서 제외되는 표본수가 크기 때문에 불가능하였고, 최근 연구 결과 중 하나는 high molecular weight adiponectin을 측정하거나²⁷⁾ high molecular weight adiponectin과 total adiponectin의 비율을 구하는 것²⁸⁾이 질환의 유무나 인슐린 저항성 등의 지표와 더 높은 상관 관계를 갖는다는 것인데, 본 연구에서는 total adiponectin 농도만을 측정하였기 때문에 집단간 차이가 분명하지 않았다고 볼 수 있으며, 표본수 자체가 적기 때문에 나타난 결과일 수도 있다.

4개의 질환군에 대해서 조사대상 SNP들의 분포는 통계적으로 유의하지 않았으므로, 질환군을 2개씩 묶어서 교차분석을 시행하였다. 통계적으로 유의한 차이는 대사증후군 집단과 제2형 당뇨병 집단에서의 adiponectin -11377번, TNF- α receptor 308번, TNF- α 609번 위치였으며, 다른 관계에서는 유의성을 찾지 못하였다. SNP 유전자형을 wild homozygous, heterozygous, mutant homozygous의 3가지가 아닌 wild homozygous와 mutant carrier, 또는 mutant homozygous와 wild carrier의 2가지로 묶어서 교차분석을 시행하였을 때에는 adiponectin -11377(대사증후군 대 제2형 당뇨병), TNF- α -308(대사증후군 대 제2형 당뇨병, 제2형 당뇨병 대 대사증후군과 당뇨병)가, adiponectin +276(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병, 대사증후군 대 대사증후군과 제2형 당뇨병), TNF- α receptor -609(정상 대 제2형 당뇨병), IL-6 receptor +48892(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병)에서 유의한 차이를 보였다.

adiponectin +45와 +276은 일본의 제2형 당뇨병 환자와 연관관계가 있었²⁹⁾, +276은 독일과 미국 코카시안에서 비만과 당뇨병과 인슐린 저항성과

연관있다는 보고가 있다³⁰⁻¹⁾. 그러나 프랑스 코카시안과 스웨덴 코카시안에서는 연관성이 없었고³²⁻³⁾, 본 연구에서도 연관성이 없었다. adiponectin-11377는 프랑스 코카시안에서와 스웨덴 코카시안에서 adiponectin 수치와 제 2형 당뇨병과 연관성이 있었고³³⁾, 본 연구에서는 대사증후군과 당뇨병 환자의 비교시에 연관성이 있었다. TNF- α 는 지방세포의 분화에서 분해까지 여러 기능에 영향을 미치는데 일반적으로 지방세포의 양을 줄이는데 크게 관여한다. 그리하여 TNF- α 의 작용이나 생성에 이상이 있는 경우 비만이나 인슐린 저항성의 증가와 연관이 있을 수 있다³⁴⁾. 잘 알려진 SNP는 -308G/A의 변이로 이 변이가 지방량의 차이와 연관이 있다는 보고가 있는데³⁵⁾ 대사증후군과는 연관성이 없다는 보고도 있다³⁶⁾. 본 연구결과도 상관관계가 없었다.

인슐린 저항성을 나타내는 HOMA-IR을 계산하여 SNP 유전자형에 따른 차이를 분석하였고 제2형 당뇨병 및 대사증후군을 모두 갖고 있는 사람들에게서 TNF- α receptor -609T/T가 G/T보다 인슐린 저항성이 심한 것으로 나타났다. 단편적인 결과이지만, 이는 본 연구에서 최초로 밝힌 내용으로, 해당 유전자형을 갖고 있는 환자들에게는 그렇지 않은 환자들에 비해 약물 용량이나 투약 기간을 늘리거나 약제를 추가하는 등 더 강력한 치료 방법을 세우는 맞춤형의료의 개념으로 추가연구를 진행시킬 수 있으리라 생각된다.

각 질환군별로 SNP 유전자형에 따른 임상검사 및 신체계측 수치를 비교한 결과 다양한 항목들이 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 그러나, 같은 항목이라도 질환군에 따라 상반된 결과를 나타내거나, 한 항목에 대해 여러 개의 SNP가 연관되어 있다고 나타나는 등 일관성이 떨어지는 결과가 관찰되므로, 이상의 결과들은 단순히 통계적 의미만을 갖고 있을 뿐, 생물학적으로 이를 설명하기는 힘들 것으로 보인다.

본 연구는 코호트 사업의 검사수치와 SNP 유전자형의 관련성을 조사한 단면연구로, 통계적 의미를 갖는 항목들에 대해서 시간적, 생물학적 인과관

계를 알 수 없다는 단점이 있다. 이는 SNP를 연구하는 대부분의 논문들이 보이는 공통된 문제로, 조사대상집단의 추적관찰을 통해 질병의 진행경과나 치료에 대한 반응 등과 SNP의 상관관계를 분석하는 것이 더 의미있는 연구라 할 수 있다. 본 연구에서는 코호트 집단을 조사 대상으로 삼았으므로 코호트 사업이 진행됨과 동시에 추적관찰을 통한 후속연구가 가능할 것으로 기대한다.

V. 결 론

1. SNP 유전자형을 분석한 결과 adiponectin -11377(대사증후군 대 제2형 당뇨병), TNF- α receptor -609(정상 대 제2형 당뇨병), TNF- α -308(대사증후군 대 제2형 당뇨병)가 통계적으로 유의하였다.
2. SNP 유전자형을 wild homozygous와 mutant carrier로 분류하였을 때 adiponectin -11377(대사증후군 대 제2형 당뇨병), TNF- α -308(대사증후군 대 제2형 당뇨병, 제2형 당뇨병 대 대사증후군과 당뇨병)가, mutant homozygous와 wild type carrier로 분류한 경우 adiponectin +276(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병, 대사증후군 대 대사증후군과 제2형 당뇨병), TNF- α receptor -609(정상 대 제2형 당뇨병), IL-6 receptor +48892(정상 대 대사증후군과 제2형 당뇨병)에서 유의한 차이를 보였다.
3. 제2형 당뇨병 및 대사증후군과 관련된 지표들과 SNP 유전자형의 관계에서, 몇몇 지표들이 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 질병군에 따라 결과가 상이하고 동일 질병군내에서도 관련지표들의 변화양상이 다양하게 확인되었다.
4. 제2형 당뇨병 및 대사증후군 집단에서 TNF- α receptor -609 T/T 가 G/T 보다 인슐린 저항성이 심한 것으로 나타났다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 대사증후군과 제2형 당뇨병 발현에는 유전적 요인이 일부 관여하고 있으나 환경적 요인도 중요한 역할을 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988;37:1595-607.
2. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*, 1991;14:173-94.
3. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*, 1989;149:1514-20.
4. Alberti KG, Zimmet 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*, 1998;15:539-53.
5. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*, 2001;285:2486-97.
6. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*, 1999;16:442-3.
7. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*, 2006;23:469-80.
8. Kim YB, Shulman GI, Kahn BB. Fatty acid infusion selectively impairs insulin action on Akt1 and protein kinase C lambda /zeta

- but not on glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem*, 2002;277:32915-22.
9. Chavez JA, Knotts TA, Wang LP, Li G, Dobrowsky RT, Florant GL, Summers SA. A role for ceramide, but not diacylglycerol, in the antagonism of insulin signal transduction by saturated fatty acids. *J Biol Chem*, 2003;278:10297-303.
 10. Samuel VT, Liu ZX, Qu X, Elder BD, BilzS, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*, 2004;279:32345-53.
 11. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*, 1991;87:536-44.
 12. De Graaf J, **Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF**. Identification of multiple dense LDL subfractions with enhanced susceptibility to in vitro oxidation among hypertriglyceridemic subjects. Normalization after clofibrate treatment. *Arterioscler Thromb*, 1993;13:712-9.
 13. Packard CJ. LDL subfractions and atherogenicity: an hypothesis from the University of Glasgow. *Curr Med Res Opin*, 1996;13:379-90.
 14. Krauss RM. Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 1995;75:53B-57B.
 15. Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD, Unger RH. Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994;91:10878-82.

16. Fernandez-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*, 2003;24:278-301.
17. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*, 2004;92:347-55.
18. Nawrocki AR, Scherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, 2004;4:281-9.
19. Bacci S, Menzaghi C, Ercolino T, Ma X, Rauseo A, Salvemini L, et al. The +276 G/T single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene is associated with coronary artery disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 2004;27:2015-20.
20. Yoshioka K, Yoshida T, Umekawa T, Kogure A, Takakura Y, Toda H, et al. Adiponectin gene polymorphism (G276T) is not associated with incipient diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism*, 2004;53:1223-6.
21. Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M. The common polymorphisms (single nucleotide polymorphism [SNP] +45 and SNP +276) of the adiponectin gene predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *Diabetes*, 2005;54:893-9.
22. Yang WS, Yang YC, Chen CL, Wu IL, Lu JY, Lu FH, et al. Adiponectin SNP 276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr*, 2007;86:509-13.
23. Perez C, Gonzalez FE, Pavez V, Araya AV, Aguirre A, Cruzat A, et al. The -308 polymorphism in the promoter region of the tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene and ex vivo

- lipopolysaccharide-induced TNF- α expression in patients with aggressive periodontitis and/or type 1 diabetes mellitus. *Eur Cytokine Netw*, 2004;15:364-70.
24. Gonzalez-Sanchez JL, Martinez-Calatrava MJ, Martinez-Larrad MT, Zabena C, Fernandez-Perez C, Laakso M, et al. Interaction of the -308G/A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor- α gene with single-nucleotide polymorphism 45 of the adiponectin gene: effect on serum adiponectin concentrations in a Spanish population. *Clin Chem*, 2006;52:97-103.
 25. Illig T, Bongardt F, Schopfer-Wendels A, Huth C, Heid I, Rathmann W, et al. Genetics of type 2 diabetes: impact of interleukin-6 gene variants. *Gesundheitswesen*, 2005;67:S122-6.
 26. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Who/Ncd/Ncs. 1999;Geneva: World Health Organization, Department of Noncommunicable Disease Surveillance:59
 27. Fisher FF, Trujillo ME, Hanif W, Barnett AH, McTernan PG, Scherer PE, et al. Serum high molecular weight complex of adiponectin correlates better with glucose tolerance than total serum adiponectin in Indo-Asian males. *Diabetologia*, 2005;48:1084-7.
 28. Hara K, Horikoshi M, Yamauchi T, Yago H, Miyazaki O, Ebinuma H, et al. Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 2006;29:1357-62.
 29. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated

- with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 2002;51:536-40.
30. Stumvoll M, Tschrirter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, et al. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002;51:37-41.
 31. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002;51:2306-12.
 32. Gu HF, Abulaiti A, Ostenson CG, Humphreys K, Wahlestedt C, Brookes AJ, et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish caucasians. *Diabetes*, 2004;53:S31-5.
 33. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet*, 2002;11:2607-14.
 34. Warne JP. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. *J Endocrinol*, 2003;177:351-5.
 35. Corbalan MS, Marti A, Forga L, Patino A, Martinez-Gonzalez A, Martinez JA. Influence of two polymorphisms of the tumoral necrosis factor-alpha gene on the obesity phenotype. *Diabetes Nutr Metab*, 2004;17:17-22.
 36. Lee SC, Pu YB, Thomas GN, Lee ZS, Tomlinson B, Cockram CS,

et al. Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism in the metabolic syndrome. *Metabolism*, 2000;49:1021-4.

Abstract

Single nucleotide polymorphism(SNP) of the adiponectin, TNF- α and IL-6 genes in metabolic syndrome and type II diabetes.

Jun Yong Shim

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Byung-Il Yeh)

Metabolic syndrome, which is one of the most prevalent diseases, is a cluster of symptoms associated with ischemic heart disease and diabetes. Several factors are identified for increased incidence and personal genetic background is also enrolled in pathogenesis. To explain inter-personal differences, single nucleotide polymorphisms are widely used. In this study, association of risk factors and several SNPs in adiponectin, TNF- α , and IL-6 were analyzed. From Korean Genomic Research Cohort sample, 100 normal persons, 80 persons with metabolic syndrome, 67 persons with diabetes, and 40 persons with metabolic syndrome and diabetes were included in this study. Genomic DNAs were used for SNP genotyping with Tm-shift assay. Target SNPs were adiponectin +45T/G, +276G/T, and -11377C/G; TNF- α -308G/A;

TNF- α receptor -609G/T; IL-6 receptor +48892A/C. I found several points with statistically significant : 1) SNP of adiponectin -11377, TNF- α receptor -609, and TNF- α -308 were not independent in groups of metabolic syndrome vs type II diabetes, normal vs type II diabetes, and metabolic syndrome vs type II diabetes, respectively. 2) When categorized into two genotypes of wild homozygous and mutant carrier, adiponectin -11377(metabolic syndrome vs type II diabetes), and TNF- α -308(metabolic syndrome and type II diabetes, and metabolic syndrome and type II diabetes vs type II diabetes) were significantly distributed; and adiponectin +276(normal vs metabolic syndrome and type II diabetes, and metabolic syndrome vs metabolic syndrome and type II diabetes), TNF- α receptor -609(normal vs type II diabetes), and IL-6 receptor +48892(normal vs metabolic syndrome and type II diabetes) were significant with vice versa. 3) Several markers associated with type II diabetes and metabolic syndrome were different according to SNPs, but the results were not constant among disease groups. 4) In metabolic syndrome and type II diabetes group, persons with TNF- α receptor -609T/T were associated with higher insulin resistance than G/T. Taken together, although genetic factors are seemed to be related in pathogenesis of type II diabetes and metabolic syndrome in a part, environmental factors might be more associated ones.

Key words : Metabolic syndrome, Type II Diabetes Melitus,
Single nucleotide polymorphism, Adiponectin, TNF- α ,
IL-6