

대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서  
RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자의  
단일염기 다형성 분석

연세대학교 대학원

의 학 과

류 훈

대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서  
RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자의  
단일염기 다형성 분석

지도 김 대 성 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2009년 1월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

류 훈

류 훈의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

심사위원 \_\_\_\_\_ 인

연세대학교 대학원

2009년 1월 일

## 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 항상 격려와 아낌없는 지도를 해주시며 처음 연구계획에서부터 완성에 이르기까지 학문적 기틀을 잡아 주시고 친절하고 소상한 가르침을 베풀어 주셨던 김대성 지도교수님, 예병일 교수님, 고상백 교수님께 깊은 감사드립니다. 또한 이 논문이 완성될 수 있도록 많은 배려와 조언을 주신 외과학교실의 김익용 주임교수님과 한애리 교수님에게도 감사를 드립니다.

어려움 속에서도 학업에 정진할 수 있도록 사랑을 베풀어 주신 부모님과 사랑하는 아내 은지, 아들 지오, 딸 지우와도 이 작은 결실의 기쁨을 나누고자 합니다.

2009년 1월

저 자 씀

# 차 례

표 차례	ii
국문 요약	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	15
5. 일원배치분산분석에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과비교	15
6. T-test에 의한 SNP 유전자형에 따른 검사 결과비교	18
IV. 고찰	21
V. 결론	24
참고 문헌	25
영문 요약	30

## 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 SNP . . . . .	17
Table 8. T-test analysis of clinical findings on the basis of SNPs . . . . .	19

## 국 문 요 약

### 대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자의 단일염기 다형성 분석

대사증후군은 생활습관의 현대화와 함께 유병률이 증가하고 있는 대표적인 성인병의 하나로 허혈성 심질환, 비만, 당뇨병 등과 밀접한 관계를 가진다. 대사증후군과 유사한 증상이 처음 기술된 것은 1920년이지만 최초로 정의된 것은 1988년의 일이며, 이후 약 20년에 걸쳐서 대사증후군의 유병률이 급격하게 증가하고 있는 원인에는 여러 가지 이유가 있을 수 있지만 생활습관의 변화와 함께 개인의 유전적 특성도 큰 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 1988년에 시작되어 2003년에 해독을 끝낸 인간 유전체 프로젝트를 필두로 한 최근의 유전체 연구의 발전은 개인별 유전성향의 차이를 설명하기 위해서 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)을 많이 이용하고 있다. 본 연구에서는 대사증후군 및 당뇨병과 관련이 있는 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자에서 발견되는 SNP와 질병 위험요인과의 관련성을 연구하였다. 본 연구에 이용한 시료는 연세대학교 원주의과대학 평생건강관리센터에서 진행중인 한국인 유전체 코호트 사업에서 이 사업에 참여한 사람들의 genomic DNA를 분리하여 사용하였다. RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자의 SNP 분석을 위하여 T<sub>m</sub>-shift assay를 시행하였다. 이 방법은 정상과 변이된 유전자에 대한 allele specific primer를 별도로 제작하여 real-time PCR을 실시하는 과정에서 반응으로 얻어지는 산물의 녹는 점(melting temperature, T<sub>m</sub>)을 이용하여 SNP를 찾는 것이다. 이를 이용하여 SNP를 분석한 부위는 RBP4 -803G/T, HNF-1 $\alpha$  intron 1 401A/G, HNF-1 $\alpha$  intron 2 572A/G와 IL-6 -174G/C이며, 이들 유전자에서 발견되는 SNP와 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 wild homozygous형, heterozygous형, mutant homozygous형으로 분류했을 때 HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)번 부위의 SNP는 각 군을 통틀어 볼 때 유의한 차이를 보였고, 정상 대 당뇨, 대사증후군 대 당뇨, 정상 대 대사증후군과 당뇨에서 유의한 차이를 보였다.
2. SNP 유전자형을 wild carrier와 mutant homozygous로 분류하였을 때 HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)의 SNP는 각 군을 통틀어 유의한 차이를 보였고, 당뇨 대 정상/당뇨 대 대사증후군, 대사증후군과 당뇨 대 정상/대사증후군과 당뇨 대 대사증후군에서 유의한 차이를 보였다. SNP 유전자형을 wild homozygous와 mutant carrier로 분류하였을 때 HNF-1 $\alpha$  401(intron 1)의 SNP는 대사증후군대 정상, HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)의 SNP는 당뇨 대 정상에서 유의한 차이를 보였다.
3. RBP4의 경우 mutant homozygous form이 발견되지 않았고, wild type과 heterozygous사이에는 통계적 의의가 발견되지 않았으며, IL-6의 경우에는 본 연구에서 사용한 어떤 시료에서도 SNP가 발견되지 않았다.
4. 제2형 당뇨병 및 대사증후군과 관련된 지표들과 SNP 유전자형의 관계에서, 몇몇 지표들이 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 질병군에 따라 결과가 상이하고 동일 질병군내에서도 관련지표들의 변화양상이 다양하여 일관성을 찾을 수 없었다.

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

---

핵심되는 말 : 대사증후군, 제2형 당뇨병, 단일염기다형성(SNP;single nucleotide polymorphism), RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6



# 대사증후군과 제2형 당뇨병 환자에서 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자의 단일염기 다형성 분석

<지도교수 김대성>

연세대학교 대학원 의학과

류 훈

## I. 서 론

대사증후군이란 체지방 증가에 의해 비만해지는 정도에 따라서 발생 빈도가 증가하는 일련의 대사 이상 질환을 말하며, 당뇨병과 연관된 여러 가지 증상들이 복합적으로 나타나는 특징이 있다. 대사증후군은 1988년에 대사증후군과 관련이 있을 것으로 예상되는 몇 가지 인자를 종합하여 syndrome X 라고 명명되면서 널리 알려지게 되었다<sup>1)</sup>. 이외에 인슐린 저항성 증후군<sup>2)</sup> 또는 the deadly quartet<sup>3)</sup> 등으로도 불리어 왔으며 인슐린과 내당저항성, 고혈압, 이상지혈증 등의 증상을 함께 나타낸다.

대사증후군이 처음 정의된 후 여러 연구자들이 대사증후군에 대한 연구를 진행하면서 인종이나 민족과 같은 인구집단의 특징에 따라 진단기준을 달리해야 한다는 주장이 제기되고 있다. 그러므로 여러 가지 진단기준이 마련되어 있으며, 널리 알려진 것으로는 세계보건기구(World Health Organization, WHO, 1998)<sup>4)</sup>와 NCEP ATP III(National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, 2001)<sup>5)</sup>, EGIR(European Group for the study of Insulin Resistance, 1999)<sup>6)</sup>, IDF(International Diabetes Federation, 2006)<sup>7)</sup> 등이 있다. 이중 현재 가장 많이 이용되고 있는 진단기준은 NCEP ATP III의 것이다. 가장 먼저 마련된 WHO의 진단기준은 실제로 임상에서 이용하기에 제한점이 있다.

그러나 NCEP ATP III의 진단기준은 내당저항성과 인슐린 저항성을 잘 반영하지 못하는 단점이 있다.

지난 20년간 대사증후군에 대한 연구가 많이 진행되어 왔으나 아직까지 통일된 연구결과가 제시되지 못하고 있고, 명확한 진단기준이 마련되지 못하였으며, 원인이 다양하고, 병인을 제대로 설명하지 못하는 점 등이 한계라 할 수 있다. 대사증후군의 원인으로 가장 흔히 먼저 거론되는 것이 바로 인슐린저항성이다. 인슐린저항성은 당뇨병과 깊은 관련을 가지고 있으며, 실제로 대사증후군과 당뇨병이 밀접한 관계를 지니고 있음은 여러 연구에서 그 근거를 찾을 수 있다. 대사증후군에서 인슐린저항성을 나타내는 가장 큰 요인은 과도한 지방산의 존재로 판단된다. 혈액 내에 지방산이 과도하게 존재하게 되면 인슐린이 주로 작용하는 기관인 간과 근육에서 인슐린에 의한 작용이 저해를 받게 된다. 지방산과 그 대사산물들은 근육에서 혈중 포도당 흡수에 관여하는 신호전달과정 중 protein kinase C<sup>8)</sup>와 Akt1<sup>9)</sup>의 활성을 약화시키며, 간에서도 IRS-1(Insulin receptor substrate-1)과 IRS-2(Insulin receptor substrate-2)의 인산화 과정을 저해하기도 한다<sup>10)</sup>. 또한 간에 축적된 과도한 지방산들은 이상지혈증의 유발에 관여하게 되는데, 혈중 HDL cholesterol의 양을 감소시키며<sup>11)</sup>, LDL cholesterol의 양을 증가시키게 된다. 특히 증가된 LDL cholesterol 성분 중 small dense LDL의 양이 증가하며<sup>12)</sup>, 이것이 다른 형태의 LDL 보다 죽종형성성(atherogenic)의 특징을 가진다는 보고도 있다<sup>13, 14)</sup>. 이 외에도 췌장의  $\beta$ 세포에서 인슐린이 분비되는 과정에 과도한 지방산이 계속적으로 작용하는 경우 인슐린 분비가 정상적으로 일어나지 않게 되면<sup>15)</sup>, 내당저항성이 나타나게 된다. 이러한 일련의 과정은 지방산의 증가에 의해 일어나게 되고, 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 종류는 IL-6, TNF- $\alpha$ , C-reactive protein 등이 있다<sup>16)</sup>. 또한 이러한 염증성 cytokine의 증가는 지방세포 조직의 증가를 잘 반영하는 특징이 있으며<sup>17)</sup>, 염증 반응이 인슐린 저항성과도 밀접한 연관성을 지니고 있음이 알려져 있다<sup>18)</sup>. 지방세포에서

분비되는 다른 cytokine으로는 Adiponectin이 있다. Adiponectin은 위에서 소개된 염증성 cytokine들의 작용과 반대 기능을 가지므로 당뇨병과 비만에서 인슐린 감수성을 증가시키고 염증성 반응을 저해하는 특징을 갖고 있다<sup>19)</sup>.

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. 이미 앞선 연구자들이 adiponectin<sup>20-24)</sup>, TNF- $\alpha$  등의 cytokine을 coding하는 유전자의 SNP와 두 질병의 발생빈도를 비교해 보려는 연구가 진행된 바 있다<sup>24-6)</sup>.

본 연구에서는 유전체 코호트 사업에 참여하고 있는 대사증후군과 당뇨병 환자를 대상으로 대사증후군 발생과 연관이 있다고 알려진 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6 유전자에서 발견되는 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 알아보려고 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 III<sup>5)</sup>와 WHO<sup>27)</sup> 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 인슐린치를 이용하여 구하였다.

### 3. SNP specific PCR amplification

본 연구에서 조사대상으로 삼은 SNP는 모두 4가지로 RBP4 -803G/T, HNF-1 $\alpha$ (intron 1) 401A/G, HNF-1 $\alpha$ (intron 2) 572A/G, IL-6 -174G/C이다.

Genomic DNA에 대하여 표적이 되는 유전자의 SNP genotyping은 Tm-shift primer를 이용한 Tm-shift genotyping<sup>28)</sup> 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
$\gamma$ -glutamyltranspeptidase (IU/L)	$\gamma$ 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 <sup>2</sup> )	BMI
Hemoglobin A1c (%)	HbA1c	Body Fat	Bodyfat
WBC count (X 10 <sup>9</sup> /L)	WBC	External Cellular Fluid	Excell
C-reactive protein (mg/dL)	CRP	Internal Cellular Fluid	Incell
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 사용하여 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 square 방법을 이용하여 분석하였다. 통계처리는 SPSS 12.0을 이용하였으며, 결과 값은 평균±표준편차로 표시하였고, 통계분석 결과 p-value가 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

**Table 2.** Primer sequences for SNP genotyping.

Target <sup>1</sup>	Primer	Sequence (5' to 3')
RBP4 -803G/T Tm1 82.0°C Tm2 76.8°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCGTTTCTGGAGAATATTTAACAGGGAG
	F2	ATAAATGTTTCTGGAGAATATTTAACAGGGAT
	CR	GCGTTGTGGTGCCCTCTG
HNF-1α 401A/G Tm1 82.0°C Tm2 79.5°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCGACTCACAGGTGGCATCA
	F2	ATAAATGACTCACAGGTGGCATCG
	CR	GCATGTGAACACTGGAATCCTACTC
HNF-1α 572A/G Tm1 87.4°C Tm2 83.3°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCGTAAGCTCCTCTGGTTCAGCA
	F2	ATAAATGTAAGCTCCTCTGGTTCAGCG
	CR	CACTCTCACCTCCCACGTCC
IL-6 -174G/C Tm1 84.1°C Tm2 78.8°C	F1	GCGGGCAGGGCGGCTTGAGACTCTAATATTGAGACTCATG
	F2	GCGGGCTTGAGACTCTAATATTGAGACTCATC
	CR	CCACCCTCACCTCCAAC

<sup>1</sup>: Location of target SNP and melting temperature. F1 : forward primer for wild allele, F2 : forward primer for mutant allele, CR : common reverse primer, Tm ; melting temperature, Tm1 ; melting temperature using F1 primer, Tm2 ; melting temperature using F2 primer.

### III. 결 과

#### 1. 연구대상 집단의 임상검사 소견

본 연구에서 조사대상으로 287명에 대하여 유전자 분석에 앞서 임상검사를 실시하였다. 이 결과를 정상(제2군), 대사증후군(제2군), 제2형 당뇨병(제3군), 대사증후군과 제2형 당뇨병을 함께 지닌 집단(제4군)으로 나누어 결과를 분석하였다(Table 3).

경구 당부하검사에서 공복시 혈당, 1시간후 혈당, 2시간후 혈당 모두 제3군과 제4군이 제1군과 제2군보다 높은 수치를 나타냈으며 제4군은 제3군보다 공복시 높은 혈당을 가진 것으로 나타났다. 간효소 수치검사에서는 제3군이 제1군과 제2군보다 높은 수치를 나타냈다. 지질 및 지단백질 검사에서는 제2군이 제1군과 제3군보다 높은 중성지방(triglyceride) 수치를 보였고, 제4군은 나머지 집단 모두보다 높은 중성지방 수치를 보였다. HDL 콜레스테롤 수치는 제2군이 제1군과 제3군에 비해 낮았고, 제4군은 제1군과 제2군보다 낮았다. 당화혈색소는 제3군과 제4군에서 제1군과 제2군보다 높은 것으로 나타났다. 백혈구 수치는 정상 집단에 비해 나머지 집단들에서 모두 높았다. 경구당부하검사와 함께 측정할 시간대별 인슐린 검사에서는 공복시 제2군과 제4군에서 제1군보다 높은 수치를, 2시간후 수치는 제2군이 다른 집단들보다 높게 나타났다. 제3군에서는 제1군보다 높은 ferritin 농도가 높았으며, 제4군에서는 제1군보다 adiponectin 농도가 낮게 측정되었다. HOMA-IR 수치는 제3군이 제1군보다, 제4군이 다른 나머지 집단보다 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 <sup>1,2</sup>	132.57 ± 37.85 <sup>1,2,3</sup>	p < 0.05
Glu01	147.64 ± 41.70	147.31 ± 33.34	271.63 ± 68.99 <sup>1,2</sup>	291.13 ± 60.29 <sup>1,2</sup>	betw
Glu02	101.97 ± 21.97	108.95 ± 20.53	268.54 ± 70.00 <sup>1,2</sup>	276.80 ± 61.03 <sup>1,2</sup>	een
AST	29.56 ± 18.84	28.18 ± 9.86	39.39 ± 33.74 <sup>1,2</sup>	28.78 ± 10.95	norm
ALT	25.26 ± 22.56	24.50 ± 11.36	38.22 ± 39.67 <sup>1,2</sup>	32.10 ± 18.36	a l
γGTP	31.04 ± 33.26	31.18 ± 33.24	58.33 ± 56.59 <sup>1,2</sup>	39.70 ± 33.54	grou
T.Chol	206.94 ± 34.58	205.18 ± 36.22	204.72 ± 40.79	225.23 ± 48.02	p <sup>(1)</sup> ,
Tg	96.09 ± 29.02	213.96 ± 91.32 <sup>1</sup>	134.84 ± 86.17 <sup>2</sup>	267.90 ± 183.99 <sup>1,2,3</sup>	betw
HDL	54.77 ± 9.10	44.14 ± 9.52 <sup>1</sup>	51.34 ± 12.64 <sup>2</sup>	43.60 ± 9.36 <sup>1,2</sup>	een
LDL	117.10 ± 29.74	119.31 ± 31.65	113.28 ± 32.99	131.18 ± 37.00	meta
HbA1c	5.375 ± 0.34	5.45 ± 0.33	6.80 ± 1.58 <sup>1,2</sup>	7.17 ± 1.49 <sup>1,2</sup>	bolic
WBC	5.375 ± 0.34	5.45 ± 0.33 <sup>1</sup>	6.80 ± 1.58 <sup>1</sup>	7.17 ± 1.49 <sup>1</sup>	synd
CRP	2.20 ± 5.80	1.717 ± 2.24	4.08 ± 9.17	2.60 ± 3.47	rome
Insulin	7.30 ± 2.40	8.94 ± 2.88 <sup>1</sup>	8.40 ± 5.21	9.99 ± 4.35 <sup>1</sup>	grou
Insulin02	40.15 ± 24.21	57.70 ± 50.42 <sup>1</sup>	25.55 ± 20.63 <sup>2</sup>	29.53 ± 23.32 <sup>2</sup>	p <sup>(2)</sup>
Insulin03	27.10 ± 19.65	36.23 ± 23.90	34.22 ± 29.70	36.71 ± 37.64	a n d
Ferritin	85.24 ± 93.41	126.00 ± 160.46	175.10 ± 231.75 <sup>1</sup>	125.01 ± 92.95	betw
Adiponectin	12.21 ± 5.04	10.24 ± 6.38	10.84 ± 5.26	82.27 ± 5.16 <sup>1</sup>	
HOMA-IR	1.60 ± 0.58	1.94 ± 0.67	2.40 ± 1.42 <sup>1</sup>	3.28 ± 1.93 <sup>1,2,3</sup>	

een diabetes group<sup>(3)</sup>.

## 2. 연구대상 집단의 신체계측 소견

신체계측 검사결과는 Table 4에 제시한 바와 같으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내는 내용은 다음과 같다.

제2군은 제1군보다 체중이 많이 나갔으며, 허리둘레와 엉덩이 둘레는 제2군이 제1군보다, 제4군은 제1군과 제3군보다 높게 나타났다. 제2군은 정상 집단과 당뇨병 집단보다 이완기 혈압이 높았고, BMI 와 체지방 지수는 제1군이 다른 나머지 집단에서보다 낮았다. 세포외액량은 제2군과 제3군에서 제1군보다 높게 나타났다. 내장지방 수치는 제2군과 제4군이 각각 제1군과 제3군보다 높게 측정되었다.

## 3. 전체 집단별 SNP 분포

조사대상 유전자들의 SNP 유전자형의 분포를 질병군 별로 나누어 분석한 결과를 Table 5에 제시하였다. RBP4 유전자의 -803번 부위의 경우 대부분이 wild homozygous 형이었고, heterozygous 형이 일부 있었으나 mutant homozygous 형은 발견되지 않았다. HNF-1 $\alpha$  유전자의 401번과 572번 부위는 heterozygous 형이 가장 많았고, mutant homozygous 형이 wild homozygous 형보다 조금 더 많은 것으로 나타났다. IL-6 유전자의 -174번 부위는 모두가 wild homozygous 형이었고, mutant가 한 개의 시료에서도 발견되지 않아서 결과 분석에서 제외하였다. P값을 구해 본 결과 HNF-1 $\alpha$  유전자의 572번 부위는 각 군 별로 통계적으로 유의한 차이를 나타내는 것으로 판명되었다 ( $P=0.001$ ).

**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 <sup>1</sup>	60.23 ± 9.85	64.59 ± 8.67
Waist	82.59 ± 8.59	90.21 ± 6.46 <sup>1</sup>	83.48 ± 7.04 <sup>2</sup>	91.91 ± 6.94 <sup>1,3</sup>
Hip	95.01 ± 7.74	101.05 ± 5.50	95.53 ± 5.07	100.44 ± 7.39 <sup>1,3</sup>
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 <sup>1</sup>	80.18 ± 12.47 <sup>2</sup>	82.66 ± 10.02
BMI	21.71 ± 1.77	25.03 ± 3.69 <sup>1</sup>	24.39 ± 2.65 <sup>1</sup>	24.52 ± 3.48 <sup>1</sup>
Bodyfat	13.85 ± 3.37	19.02 ± 6.00 <sup>1</sup>	17.44 ± 4.81 <sup>1</sup>	18.25 ± 5.49 <sup>1</sup>
Excell	9.89 ± 1.31	11.50 ± 1.91 <sup>1</sup>	11.01 ± 1.84 <sup>1</sup>	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 <sup>1</sup>	2.16 ± 0.75 <sup>2</sup>	2.98 ± 0.85 <sup>1,3</sup>
Bodyprt	8.46 ± 1.37	8.62 ± 1.73	8.82 ± 1.74	8.51 ± 1.77

p<0.05 between normal group<sup>(1)</sup>, between metabolic syndrome group<sup>(2)</sup> and between diabetes group<sup>(3)</sup>.

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

Target	Group	Wild homozygous	Heterozygous	Mutant homozygous	P- value
RBP4 -803 GG/GT/TT	I	89.0%	11.0%	0%	0.413
	II	82.5%	17.5%	0%	
	III	80.6%	19.4%	0%	
	IV	87.5%	12.5%	0%	
HNF-1 $\alpha$ intron 1 401 AA/AG/GG	I	3.0%	68.0%	29.0%	0.144
	II	15.0%	55.0%	30.0%	
	III	9.0%	61.2%	65.0%	
	IV	12.5%	65.0%	22.5%	
HNF-1 $\alpha$ intron 2 572 AA/AG/GG	I	5.0%	72.0%	23.0%	0.001 <sup>A</sup>
	II	13.8%	63.8%	22.5%	
	III	18.0%	77.6%	4.4%	
	IV	12.5%	85.0%	2.5%	

<sup>A</sup>: Compared with the values in the other groups.

#### 4. 집단별 SNP 분포 chi-square 검정

SNP 유전자형이 질병 유무의 상관관계를 지니는지 확인하기 위하여 SNP를 wild carrier:mutant homozygous, wild homozygous:mutant carrier로 구분하여 chi-square 검정을 시행한 결과는 Table 6과 같다.

RBP4 유전자 -803번 부위와 IL-6의 -174번 부위는 각각 mutant homozygous형과 mutant carrier가 발견되지 않았으므로 분석에서 제외하였다. HNF-1 $\alpha$  401번의 경우 wild homozygous:mutant carrier를 비교할 때 제2군과 제4군이 정상인 제1군과 통계적으로 유의한 차이를 지니는 것으로 판명되었으며, HNF-1 $\alpha$  572번의 경우 wild carrier:mutant homozygous를 비교할 때 제3군과 제4군이 모두 제1군과 제2군에 대하여 통계적으로 유의한 상관관계를 지니고 있었고, wild homozygous:mutant carrier를 비교할 때 제2군과 제3군이 각각 정상인 제1군과 통계적으로 유의한 상관관계를 지니는 것으로 나타났다.

#### 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). 일원배치분산분석 결과 통계적으로 유의한 차이를 보이는 경우는 다음과 같다.

RBP4 유전자 -803번의 경우 당부하검사 2시간 후의 인슐린(insulin03)이 wild homozygous형보다 heterozygous형에서 높게 나타났고, HbA1C값은 wild homozygous형보다 heterozygous형에서 낮게 나타났다. HNF-1 $\alpha$  유전자 401번의 경우 total cholesterol의 경우 wild homozygous형보다 heterozygous형과 mutant homozygous형에서 더 높게 나타났고, 엉덩이 둘레(pH1-hip)와 이완기 혈압(pH1-dbp2)은 wild homozygous형보다

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

Target	Group	Wild carrier	Mutant homozygous	P-value	Wild homozygous	Mutant carrier	P-value
HNF-1 $\alpha$ intron 1 401	I	71.0%	29.0%		3.0%	97.0%	
	II	70.0%	30.0%	0.884 <sup>A</sup>	15.0%	85.0%	0.004 <sup>A</sup>
	III	70.0%	30.0%	0.906 <sup>A</sup>	9.0%	91.0%	0.095 <sup>A</sup>
				0.984 <sup>B</sup>			0.265 <sup>B</sup>
	IV	77.5%	22.5%	0.435 <sup>A</sup>	12.5%	87.5%	0.029 <sup>A</sup>
				0.386 <sup>B</sup>			0.711 <sup>B</sup>
				0.408 <sup>C</sup>			0.559 <sup>C</sup>
	HNF-1 $\alpha$ intron 2 572	I	77.0%	23.0%		5.0%	95.0%
II		77.5%	22.5%	0.937 <sup>A</sup>	13.8%	86.3%	0.040 <sup>A</sup>
III		95.5%	4.5%	0.001 <sup>A</sup>	18.0%	82.0%	0.007 <sup>A</sup>
				0.002 <sup>B</sup>			0.489 <sup>B</sup>
IV		97.5%	2.5%	0.002 <sup>A</sup>	12.5%	87.5%	0.120 <sup>A</sup>
	0.003 <sup>B</sup>			0.849 <sup>B</sup>			
			0.602 <sup>C</sup>			0.459 <sup>C</sup>	

Compared with normal<sup>A</sup>, metabolic syndrome only<sup>B</sup>, and type II diabetes only<sup>C</sup>.

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

Target	Parameter	Wild homozygous	Heterozygous	Mutant homozygous
RBP4 -803	Imsulin03	30.87 ± 24.00	42.70 ± 36.75 <sup>(1)</sup>	N.A
GG/GT/TT	HbA1C	6.04 ± 1.30	5.77 ± 0.70 <sup>(1)</sup>	N.A
HNF-1α intron 1	T. Chols	191.04 ± 35.53	211.28 ± 39.06 <sup>(1)</sup>	207.88 ± 38.90 <sup>(1)</sup>
401	Ph1. waist	89.81 ± 8.44	85.47 ± 8.13 <sup>(1)</sup>	86.71 ± 8.71
AA/AG/GG	Ph1. hip	101.27 ± 6.29	97.15 ± 6.87 <sup>(1)</sup>	97.35 ± 7.51 <sup>(1)</sup>
	Ph1. dbp2	88.65 ± 7.93	82.44 ± 12.35 <sup>(1)</sup>	82.33 ± 10.30 <sup>(1)</sup>
HNF-1α intron 2	GluPP60NaF	206.70 ± 78.95	201.09 ± 83.70	167.64 ± 64.42 <sup>(1)</sup>
572	GluPP120NaF	186.67 ± 93.66	173.74 ± 94.20	122.36 ± 63.44 <sup>(1,2)</sup>
AA/AG/GG	HbA1C	6.44 ± 1.48	5.99 ± 1.25	5.56 ± 0.70 <sup>(1)</sup>
	WBC	8.55 ± 2.36	7.40 ± 1.90 <sup>(1)</sup>	7.44 ± 1.55 <sup>(1)</sup>

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

N.A: not available

heterozygous형과 mutant homozygous형에서 더 낮게 나타났다. HNF-1a 유전자 572번의 경우 당부하검사 1시간 후 혈당(GluPP60NaF)와 HbA1C는 mutant homozygous형에서 wild homozygous형보다 낮게 나타났고, 당부하검사 2시간 후 혈당(GluPP120NaF)은 mutant homozygous형에서 wild homozygous형과 heterozygous형보다 낮게 나타났다. 또 WBC 숫자가 heterozygous형과 mutant heterozygous형에서 wild homozygous형보다 통계적으로 낮게 나타났다.

## 6. 일원배치분산분석에 의한 SNP 유전자형과 질병군별에 따른 검사 결과 비교

유전자형에 따른 검사결과치의 차이를 더 자세히 알아보기 위하여 유전자형을 wild homozygous, heterozygous, mutant homozygous형으로 구분하여 각 질병군별에 따른 검사결과치를 비교하기 위한 일원배치분산분석을 시행하였다 (Table 8). 일원배치분산분석 결과 통계적으로 유의한 차이를 보이는 경우는 다음과 같다.

RBP4 유전자 -803번의 경우 제1군에서는 r-GTPs, 전체 콜레스테롤양(T chols), 저밀도 지단백 콜레스테롤양(LDL chols), HbA1C, 당부하검사 1시간 후의 인슐린(insulin02)의 값이 통계적으로 wild homozygous형과 heterozygous형이 유의한 차이를 보이는 것으로 나타났다. 같은 방법으로 비교한 결과 제2군에서는 고밀도 지단백 콜레스테롤양(HDL chols)과 근육(pH1-muscle)이 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 제3군에서는 공복시혈당(GluFBSNaF), 당부하검사 2시간 후의 혈당, HbA1C, 저밀도 지단백 콜레스테롤양, 당부하검사 1시간 후의 인슐린의 값이 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 또 제4군에서는 adiponetic과 pH1-waist의 값이 wild homozygous형과 heterozygous형 사이에 통계적으로 유의한 차이를 지닌 것으로 판명되었다.



**Table 8.** ANOVA analysis of clinical findings on the basis of SNPs.

Target	Group	Parameter	Wild homozygous	Heterozygous	Mutant homozygous
RBP4 -803 GG/GT/TT	I	r-GTPs	32.31 ± 34.78	20.73 ± 13.24 <sup>(1)</sup>	N.A
		T. Chols	208.12 ± 36.13	197.36 ± 15.42 <sup>(1)</sup>	N.A
		LDL. Chols	118.09 ± 31.02	109.09 ± 14.59 <sup>(1)</sup>	N.A
		HbA1C	5.38 ± 0.36	5.32 ± 0.13 <sup>(1)</sup>	N.A
		Insulin02	41.02 ± 25.29	33.12 ± 10.79 <sup>(1)</sup>	N.A
	II	HDL. Chols	138.86 ± 15.78	127.35 ± 18.13 <sup>(1)</sup>	N.A
		pH1-muscle	40.77 ± 7.66	37.34 ± 5.22 <sup>(1)</sup>	N.A
		GluFBSNaF	120.78 ± 46.15	100.31 ± 15.84 <sup>(1)</sup>	N.A
	III	GluPP120NaF	257.57 ± 74.16	299.31 ± 38.90 <sup>(1)</sup>	N.A
		HbA1C	7.00 ± 1.67	5.99 ± 0.71 <sup>(1)</sup>	N.A
		Insulin02	22.65 ± 15.12	37.61 ± 33.70 <sup>(1)</sup>	N.A
		LDL. Chols	133.86 ± 33.90	112.40 ± 55.41 <sup>(1)</sup>	N.A
	IV	Adiponectin	7679.03 ± 3891.65	12064.40 ± 10461.38 <sup>(1)</sup>	N.A
		pH1-waist	91.24 ± 7.14	96.70 ± 2.28 <sup>(1)</sup>	N.A
HNF-1α 401 AA/AG/GG	I	hs-CRP	1.81 ± 2.01	1.21 ± 1.49	5.37 ± 11.39 <sup>(2)</sup>
		TgS	212.25 ± 155.35	117.81 ± 51.32 <sup>(1)</sup>	120.33 ± 36.02 <sup>(1)</sup>
II	Ferritin	134.21 ± 89.80	143.19 ± 128.10	891.90 ± 708.72 <sup>(1,2)</sup>	
	r-GTPs	68.50 ± 59.20	51.02 ± 52.35	134.00 ± 78.25 <sup>(2)</sup>	
HNF-1α 572 AA/AG/GG	I	hs-CRP	1.10 ± 0.58	1.23 ± 1.57	4.59 ± 10.24 <sup>(1,2)</sup>
		pH1-muscle	47.23 ± 8.45	38.43 ± 5.13 <sup>(1)</sup>	39.44 ± 6.78 <sup>(1)</sup>
		hs-CRP	1.51 ± 0.98	1.21 ± 1.43	2.74 ± 3.36 <sup>(1,2)</sup>
	II	pH1-bmi	26.61 ± 3.14	23.78 ± 2.84 <sup>(1)</sup>	26.55 ± 4.50
		pH1-bodyfat	21.82 ± 5.17	16.81 ± 4.80 <sup>(1)</sup>	21.67 ± 6.85
	III	HDL. Chols	64.33 ± 18.12	49.20 ± 11.59 <sup>(1)</sup>	51.85 ± 11.07 <sup>(1)</sup>
IV	pH1-sbp2	158.83 ± 24.86	129.21 ± 20.53 <sup>(1)</sup>	122.80 ± 15.63 <sup>(1)</sup>	
	pH1-dbp2	95.83 ± 9.17	78.38 ± 12.80 <sup>(1)</sup>	79.00 ± 9.39 <sup>(1)</sup>	
		pH1-muscle	42.40 ± 6.43	41.49 ± 6.52	34.76 ± 5.47 <sup>(1,2)</sup>

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

N.A : not available

HNF-1 $\alpha$  유전자 401번의 경우 제1군에서는 hs-CRP값이 mutant heterozygous형에서 heterozygous형보다 통계적으로 유의하게 높았다. 제2군에서는 중성지방(TgS)은 heterozygous와 mutant homozygous형과 비교할 때 wild homozygous형에서 더 높게 나타났으며, ferritin은 wild homozygous형과 heterozygous형의 값보다 mutant homozygous형의 값이 훨씬 크게 나타났다. r-GTPs는 wild homozygous형의 값이 mutant homozygous형의 값보다 훨씬 작았다.

HNF-1 $\alpha$  유전자 572번의 경우 제1군에서는 고감도 C반응단백질(hs-CRP)값이 heterozygous형보다 mutant homozygous 형에서 높게 나타났고, 근육은 wild homozygous형의 값이 heterozygous형과 mutant homozygous형의 값보다 높았다. 제2군에서는 고감도 C반응단백질이 제1군에서와 같은 양상을 보여 주었고, 신체용적지수(pH1-bmi)와 체지방(pH1-bodyfat)의 값이 wild homozygous형보다 heterozygous형에서 더 높았다. 제3군에서는 고밀도 지단백 콜레스테롤과 수축기혈압(pH1-sbp2), 이완기혈압의 값이 모두 wild homozygous형의 값이 heterozygous형과 mutant homozygous형의 값보다 높게 나타났다. 제4군에서는 근육의 양이 wild homozygous형과 heterozygous형에서보다 mutant homozygous형에서 통계적으로 유의하게 나타났으며, 그 외의 검사수치에는 특별한 차이가 없었다.

## IV. 고 찰

대사증후군은 다양한 증상들이 종합되어 나타나는 현재의 생활습관병의 하나로 아직까지 발생기전이 명확하지 않은 미지의 질병이다. 대사증후군에 대한 정의도 연구자에 따라 차이가 있고<sup>4, 5, 6, 7)</sup>, 대사증후군이 하나의 질병으로 다루어야 하는지에 대해서도 아직 충분한 학문적 공감대가 형성되지 않고 있다. 20세기 후반에 비약적으로 발전한 생명과학 지식은 유전체 연구의 중요성을 점점 크게 보여 주었고, 인간 유전체 프로젝트의 완성은 거의 모든 질환에서 유전 인자를 찾아보게 하면서 대사증후군의 발생과정도 생활습관과 같은 환경적 요인이 중요할 것으로 생각되기는 하지만 유전적 요인을 밝혀내기 위한 연구도 활발히 진행되고 있다. 환경과 유전중 어느 요소가 더 우세한가에 대해서는 지금도 다양한 연구결과가 제시되고 있다.

대사증후군이 다른 질병과 밀접한 관련성을 가지고 있다는 것은 면역반응과 인슐린 저항성이 중요하다는 점을 보여 준다. 즉 당뇨병, 비만, 고지혈증, 고혈압 등이 모두 이와 같은 요소와 연관성을 지니고 있다. 따라서 이들 질병에 공통적인 신호전달기전이 관련되어 있을 것이라 생각할 수 있으며, 인슐린 신호전달기전 등을 표적으로 하는 대사증후군의 발병 및 진행과 관련된 연구가 널리 행해지고 있다. 연구대상이 되는 신호전달기전에 관련된 인자에 대한 연구에서 면역세포나 지방세포에서 분비되는 cytokine 들이 대사증후군 또는 다른 연관된 질병에서 증가 혹은 감소되는 현상이 보고되고 있다. 이와 같은 인자를 이용하여 진단, 예방과 추적관찰, 병인 규명, 새로운 치료제 개발 등과 같은 연구를 진행하고 있으나 현재까지는 대부분의 연구가 양적인 차이에 대한 통계적 연관성만을 조사하는데 그치고 있는 것이 한계라 할 수 있다. 따라서 본 연구는 그러한 차이가 유전적 요인에서 비롯된다는 가설을 세우고 해당 유전자들의 SNP를 분석하여 그에 따른 관계를 알아보고자 하였다.

인간 유전체 프로젝트의 완성과 함께 유전체학, 단백질체학, 대사체학의 시대에 접어들면서 맞춤의학이라는 새로운 패러다임과 함께 부각되고 있는 SNP는 동

일한 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 중에서 본 연구에서 대상으로 삼은 유전자는 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6이다. RBP4는 관련연구자들이 대사증후군 해결을 위해 표적으로 삼을 수 있는 가장 유력한 후보물질로 선정된 바 있으며<sup>30)</sup>, HNF-1 $\alpha$ 와 IL-6는 병태생리기전 중 염증반응과 관련되어 있다<sup>18)</sup>. 상기 유전자들에 대해서 알려진 SNP들 중에서 몇가지 위치가 대사증후군 및 당뇨병과 연관되어 있다는 보고가 있으며<sup>31-36)</sup>, 본 연구에서도 해당 위치를 조사하여 기존 연구 결과와 비교해보고자 하였다.

대사증후군과 당뇨병의 진단 기준은 각각 NCEP-ATP III<sup>5)</sup>, WHO<sup>27)</sup> 기준을 사용하였다. 이 진단기준이 현재 가장 많이 사용되고 있는 기준이지만 대사증후군의 경우 진단 기준 변경에 대해서 여러 연구결과가 나오고 있으며, IDF<sup>7)</sup>에서는 NCEP-ATP III의 내용에 검사결과치와 상관없이 투약 중인 경우를 모두 포함시키기 때문에 IDF를 기준으로 할 경우, 대사증후군으로 진단되는 환자수가 더 늘어날 것으로 예상된다. 그러나 본 사업에서는 해당 내용에 대한 정보가 존재하지 않아서 NCEP-ATP III 기준을 사용하였다.

본 연구에서 확인한 SNP는 이미 발표된 타연구자들의 내용과 차이를 보이는 경우가 있었다. RBP4의 경우 본 연구에서는 mutant homozygous형이 발견되지 않았으며, IL-6의 경우에도 단 하나의 변이체도 발견되지 않았다. 즉 Munkhtulga 등(2007)<sup>31)</sup>은 RBP4 유전자 -803번 부위의 변이가 제2형 당뇨병과 관련이 있다고 보고했으며, Kristiansen 등(2003)<sup>36)</sup>등이 IL-6 유전자 -174번 부위에 변이가 있다고 발표한 내용이 바로 그것이다. 본 연구에서는 IL-6 유전자 -174번 부위의 변이가 전혀 발견되지 않았으며, RBP4 유전자 -803번 부위가 본 연구에서 구분한 네 가지 군(정상, 대사증후군, 제2형 당뇨, 대사증후군 및

제2형 당뇨병)과는 상관이 없는 것으로 나타났다. 이와 같이 본 연구에서 얻은 SNP 결과는 다양한 형태의 변이체를 보여 주지 못함으로써 SNP를 통해 질병을 해결하려는 연구목적을 달성하는데 어려움이 있었고, 연구결과가 기존의 연구결과와 다르게 나타난 것은 한국인의 유전자형이 다른 연구에 사용된 사람들의 유전자형과 다른 것으로 유추할 수 있다.

HNF-1 $\alpha$  유전자에 대한 SNP 분석 결과는 401번의 경우 wild homozygous형과 mutant carrier를 비교하면 정상인에 비하여 대사증후군과 대사증후군 및 제2형 당뇨병을 지니고 있는 경우에 통계적으로 유의한 차이를 지니는 것으로 나타났다, 572번의 경우 wild carrier형과 mutant homozygous형을 비교할 때 정상, 대사증후군과 비교할 때 제2형 당뇨병, 대사증후군 및 제2형 당뇨병을 지닌 군에서 통계적으로 유의한 상관관계를 지니고 있으며, wild homozygous형과 mutant carrier를 비교한 경우에는 정상인과 비교할 때 대사증후군, 제2형 당뇨병을 지닌 군에서 통계적으로 유의한 상관관계를 지는 것으로 나타났다. HNF-1 $\alpha$ 는 지방세포의 분화에서 분해까지 여러 기능에 영향을 미치는데 일반적으로 지방세포의 양을 줄이는데 크게 관여하므로 HNF-1 $\alpha$ 의 작용이나 생성에 이상이 있는 경우 비만이나 인슐린 저항성의 증가와 연관이 있을 수 있다<sup>32)</sup>.

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 의의만을 갖고 있을 뿐, 생물학적으로 이를 설명하기는 힘들 것으로 보인다.

본 연구는 코호트 사업의 검사수치와 SNP 유전자형의 관련성을 조사한 단면 연구로, 통계적 의의를 갖는 항목들에 대해서 시간적, 생물학적 인과관계를 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 wild homozygous형, heterozygous형, mutant homozygous형으로 분류하였을 때 HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)번 부위의 SNP는 각 군을 통틀어 볼 때 유의한 차이를 보였고, 정상 대 당뇨, 대사증후군 대 당뇨, 정상 대 대사증후군과 당뇨에서 유의한 차이를 보였다.
2. SNP 유전자형을 wild carrier와 mutant homozygous로 분류하였을 때 HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)의 SNP는 각 군을 통틀어 유의한 차이를 보였고, 당뇨 대 정상/당뇨 대 대사증후군, 대사증후군과 당뇨 대 정상/대사증후군과 당뇨 대 대사증후군에서 유의한 차이를 보였다. SNP 유전자형을 wild homozygous와 mutant carrier로 분류하였을 때 HNF-1 $\alpha$  401(intron 1)의 SNP는 대사증후군대 정상, HNF-1 $\alpha$  572(intron 2)의 SNP는 당뇨 대 정상에서 유의한 차이를 보였다.
3. RBP4의 경우 mutant homozygous form이 발견되지 않았고, wild type과 heterozygous사이에는 통계적 의의가 발견되지 않았으며, IL-6의 경우에는 본 연구에서 사용한 어떤 시료에서도 SNP가 발견되지 않았다.
4. 제2형 당뇨병 및 대사증후군과 관련된 지표들과 SNP 유전자형의 관계에서, 몇몇 지표들이 통계적으로 유의한 차이를 보였으나, 질병군에 따라 결과가 상이하고 동일 질병군내에서도 관련지표들의 변화양상이 다양하여 일관성을 찾을 수 없었다.

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

## 참 고 문 헌

1. Reaven, G.M., Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988;37:1595-607.
2. DeFronzo, R.A. and E. Ferrannini, Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*, 1991;14:173-94.
3. Kaplan, N.M., The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*, 1989;149:1514-20.
4. Alberti, K.G. and P.Z. Zimmet, 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. and M.A. Charles, 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, K.G., P. Zimmet, and J. Shaw, Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*, 2006;23:469-80.
8. Kim, Y.B., G.I. Shulman, and B.B. Kahn, 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, J.A., et al., 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, V.T., et al., Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem*, 2004;279:32345-53.
11. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, 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., et al., 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, C.J., LDL subfractions and atherogenicity: an hypothesis from the University of Glasgow. *Curr Med Res Opin*, 1996;13:379-90.
14. Krauss, R.M., Dense low density lipoproteins and coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 1995;75:53B-57B.
15. Lee, Y., et al., 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 U S A*, 1994;91:10878-82.
16. Fernandez-Real, J.M. and W. Ricart, Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*, 2003;24:278-301.
17. Trayhurn, P. and I.S. Wood, Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*, 2004;92:347-55.
18. Shoelson, S.E., Lee J, and A.B. Goldfine, Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*, 2006;116:1793-801
19. Nawrocki, A.R. and P.E. Scherer, The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal



- inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, 2004;4:281-9.
20. Bacci, S., 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.
  21. Yoshioka, K., et al., Adiponectin gene polymorphism (G276T) is not associated with incipient diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism*, 2004;53:1223-6.
  22. Zacharova, J., J.L. Chiasson, and M. Laakso, 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.
  23. Yang, W.S., et al., Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr*, 2007;86:509-13
  24. Shim, J.Y. Single nucleotide polymorphism(SNP) of the adiponectin, TNF- $\alpha$  and IL-6 receptpr genes in metabolic syndrome and type II diabetes. A doctor's thesis in Yonsei University, 2008
  25. Perez, C., et al., The -308 polymorphism in the promoter region of the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene and ex vivo lipopolysaccharide-induced TNF-alpha expression in patients with aggressive periodontitis and/or type 1 diabetes mellitus. *Eur Cytokine Netw*, 2004;15:364-70.
  26. Gonzalez-Sanchez, J.L., et al., Interaction of the -308G/A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha 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.
  27. 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
28. Fisher, F.F., 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.
  29. Eckel, R.H., et al., The metabolic syndrome. *Lancet*, 2005;365:1415-28
  30. Yang Q., et al., Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*, 2005;436:356-362
  31. Munkhtulga L., et al., Identification of a regulatory SNP in the retinol binding protein 4 gene associated with type 2 diabetes in Mongolia. *Hum Genet*, 2007;120:879-88
  32. Craig R.L., et al., Retinol binding protein 4 as a candidate gene for type 2 diabetes and prediabetic intermediate traits. *Mol Gen Metabol*, 2007;90:338-344
  33. Reiner A.P., et al., Polymorphisms of the *HNFI1A* gene encoding hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  are associated with c-reactive protein. *Am J Hum Genetics*, 2008;82:1193-1201
  34. Ridker P.M., et al., Loci related to metabolic syndrome pathways including *LRPR*, *HNFI1A*, *IL6R*, and *GCKR* associate with plasma c-reactive protein: the women's genome health study. *Am J Hum Genetics* 2008;82:1185-92
  35. Kristiansen O.P., et al., Association of a functional 17 $\beta$ -estradiol sensitive *IL6-174G/C* promoter polymorphism with early-onset type 1 diabetes in females. *Hum Mol Genetics*, 2003;12:1101-10
  36. Ramkumar M., et al., Multilocus interactions at maternal tumor necrosis factor- $\alpha$ , tumor necrosis factor receptors, interleukin-6 and interleukin-6 receptor genes predict spontaneous preterm labor in European-American

women. Am J Obstetrics Gynecol 2006;194:1616-24

## Abstract

Single nucleotide polymorphism(SNP) of the RBP4, HNF-1 $\alpha$  and IL-6 genes in metabolic syndrome and type II diabetes.

Hoon Ryu

*Department of Surgery  
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Dae Sung Kim.)

Metabolic syndrome, which is one of the most prevalent diseases, is a cluster of symptoms associated with ischemic heart disease, obesity 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 RBP4, HNF-1 $\alpha$ , 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 RBP4 -803G/T, HNF-1 $\alpha$  401A/G, HNF-1 $\alpha$  572A/G, and IL-6 -174G/C. I found several points with statistically significant : 1) SNPs of HNF-1 $\alpha$  572 were not independent between the groups of normal vs type 2 diabetes, metabolic syndrome vs type 2 diabetes, and normal vs metabolic syndrome and type 2 diabetes. 2) When categorized

into two genotypes of wild carrier and mutant homozygous, HNF-1 $\alpha$  572 were significantly distributed in normal vs type 2 diabetes, normal vs metabolic syndrome, metabolic syndrome vs diabetes, and metabolic syndrome vs metabolic syndrome and type 2 diabetes. 3) When categorized into two genotypes of wild homozygous and mutant carrier, HNF-1 $\alpha$  401 and 572 were statistically significant in normal vs metabolic syndrome and normal vs type 2 diabetes, respectively. 3) Mutant homozygous type of RBP4 803 was not found and there was no statistical significance between wild homozygous and heterozygous SNPs. 4) Any mutant of IL-6 -174 were not confirmed in this study. 5) Several markers associated with diabetes and metabolic syndrome were different according to SNPs, but the results were not constant among disease groups. Taken together, we found a few different patterns of SNPs in this study, for example, there is no mutant IL-6 -174, and although genetic factors are seemed to be related in pathogenesis of diabetes and metabolic syndrome in a part, environmental factors might be more associated ones.

---

Key words : Metabolic syndrome, Type II Diabetes Mellitus, Single nucleotide polymorphism(SNP), RBP4, HNF-1 $\alpha$ , IL-6