

한국인 인슐린비의존형 당뇨병에서 인슐린 유전자 다형성

연세대학교 의과대학 내과학교실, 임상의학연구센터¹

권진욱 · 박석원 · 차봉수 · 송영득 · 안철우 · 장근수¹ · 김수진¹ · 임승길 · 김경래 · 이현철 · 허갑범

서 론

현재까지 알려진 당뇨병을 일으키는 유전자 (diabetogenic gene) 또는 그와 연관된 표지유전자 (marker gene)로는 인슐린 유전자^{1,2)}, 인슐린 수용체 유전자³⁾, 췌장의 베타세포에서 포도당을 감지할 수 있도록 포도당 인산화를 통해 세포 내로의 이동을 원활히 하는 글루코 키나제 유전자^{4~6)}, 당수송체 유전자^{7~9)}, 당뇨병과 동반되는 지질대사 이상과 관련이 있는 아포지단백 유전자¹⁰⁾, 미토콘드리아 유전자^{11~13)} 등이 거론되고 있으며, 일부 당뇨병에 있어서는 그 관계가 밝혀지고 있다.

1980년 인슐린 유전자의 구조가 밝혀지면서 intron 과 주위 유전자의 일부 염기서열 차이에 의해 여러 종류의 유전형이 있음을 알게 되었으며, 특정 유전형이 당뇨병의 발생 위험을 증가시키는지에 대한 연구가 이루어져 왔다.

Bell 등¹⁴⁾에 의해 인슐린 유전자의 5' flanking region에 14~15개의 염기서열이 연속적으로 반복되는 variable number tandem repeat(VNTR) 구조가 발견되었고 인슐린비의존형 당뇨병과 관련이 있음이 밝혀지게 되었다.

VNTR 이외에도 인슐린 유전자와 조절부위(regulator region)를 포함한 주위 유전자에 존재하는 유전자 다형성과 당뇨병과의 관련성 여부를 밝히기 위해 제한 효소를 이용한 PCR-RFLP(ploymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)방법으로

당뇨병의 발생 위험도를 증가시킬 것으로 생각되는 유전형을 찾으려는 노력이 이루어져 왔으며 -2,221 Msp I, -365 VNTR, -23 Hph I, +805 Dra III, +1,127 Pst I, +1,140 A/C, +1,335 T/C, +1,428 Fok I 다형성 부위 (Fig. 1)가 인슐린비의존형 당뇨병과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다^{15,16)}. 이러한 다형성 부위에서 특정 유전형을 가지고 있는 경우 인슐린비의존형 당뇨병에 이 환될 위험성이 4배 이상 증가하는 것으로 보고된 바 있다¹⁶⁾. 또한 인슐린 유전자 다형성은 강한 연관 불균형(linkage disequilibrium)을 보여 -23 Hph I 부위와 +1,140 A/C 부위는 유전형이 완전히 일치하며, +1,127 Pst I, +1,335 T/C, +1,428 Fok I 부위도 유전형이 완전히 일치하는 것으로 보고되었다¹⁵⁾.

인슐린비의존형 당뇨병을 유발하는 유전자를 찾으려는 노력도 현재까지 계속되고 있으나 그 성과는 크지 못했다. 인슐린비의존형 당뇨병의 발생은 하나의 유전자에 의해 결정되지 않고 또한 유전적 요인 이외에 환경적 요인이 복합적으로 관여하기 때문에 유전 연구에 많은 어려움이 있다.

인슐린비의존형 당뇨병의 발생에 직접 관여하는 유전자가 아니더라도 당뇨병 환자에서 주로 나타나는 유전형을 찾음으로써 당뇨병 발생의 위험성을 예전할 수 있다면 당뇨병의 일차 예방으로 그 의미가 크다고 할 수 있을 것이다.

서양에서는 인슐린비의존형 당뇨병의 80 % 이상이 비만형인데 비해 한국의 경우 비비만형 또는 저체중 당뇨병이 전체의 50~70 % 이상을 차지하여¹⁷⁾ 서양에 비해 상대적인 인슐린 분비능의 감소가 한국인에서 인슐린비의존형 당뇨병의 발생에 미치는 영향이 클 것으로 예상되었고, 따라서 서양인 인슐린비의존형 당뇨병

접수일자: 1998년 4월 9일

통과일자: 1998년 11월 14일

책임저자: 이현철, 연세대학교 의과대학 내과학교실

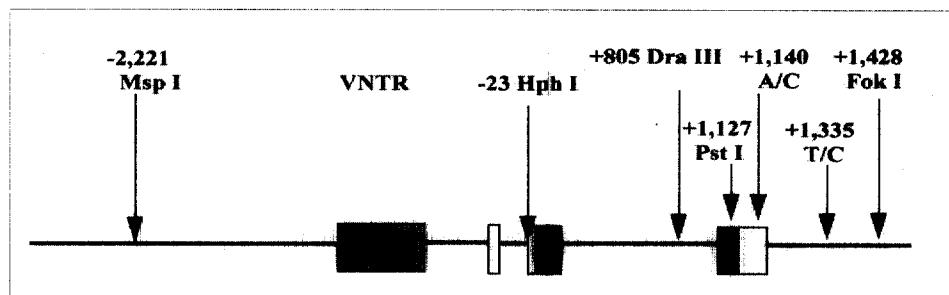


Fig. 1. Hph I and Pst I polymorphic restriction site in insulin gene

환자에서 흔히 나타나는 인슐린 유전자형이 한국인 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 어떤 빈도로 나타나는지 알아보기로 본 연구를 시행하게 되었다. 인슐린 유전자에 존재하는 여러 제한효소 부위는 연관 불균형을 이루므로 -23 Hph I과 +1,127 Pst I, 두 곳의 제한효소 다형성 부위를 검사하였고 인슐린비의존형 당뇨병 환자와 정상 대조군을 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대상

연구대상은 당뇨병의 가족력이 없는 건강한 성인 33

Table 1. Clinical Characteristics of NIDDM Patients

	NIDDM	Control
Number	67	33
Age (yrs)	44.6 ± 13.5	46.5 ± 18.5
Sex (M:F)	44 : 23	17 : 16
Onset age (yrs)	41.5 ± 12.3	
Duration of diabetes (yrs)	3.5 ± 6.7	
Family history (%)	30	0
Body mass index (kg/m ²)	22.0 ± 3.9	21.3 ± 6.7
Fasting glucose (mmol/L)	9.55 ± 4.37	
Fasting insulin (pmol/L)	57.6 ± 92.4	
Fasting C-peptide (nmol/L)	0.70 ± 0.50	
HbA1c (%)	12.4 ± 4.6	

Values are means ± S.D.

명과 인슐린비의존형 당뇨병 환자 67명으로 하였다. 환자들의 공복 및 식후 2시간 혈당, 인슐린, C-펩타이드 및 당화혈색소 농도를 측정하였으며, 신장과 체중을 측정하여 체질량지수(body mass index)를 계산하였으며 환자들의 임상적 특징은 다음과 같다(Table 1).

2. 방법

1) DNA 추출 및 중합효소연쇄반응

환자 및 정상 대조군으로부터 10 cc 가량의 말초혈액을 EDTA 튜브에 채혈하여 genomic DNA를 추출하였다. 이렇게 얻어진 DNA 1 µg에 Taq DNA polymerase, 양방향의 시발체 INS01(5'-GAAGGAG-GTGGGACATGT-3'), INS02(5'-GCTGGTTCAAG-GGCTTA-3')를 각기 10 pmole씩 혼합한 후 반응 완충용액과 각기 200 µM되게 dNTP를 넣고 잘 섞은 후 증류수로 총 25 µL가 되게 조절한 후 mineral oil을 넣었다. 이 반응 혼합물을 PCR cycler(Hybrid)에 넣고 94 °C에서 30초간 denaturation, 58 °C에서 45초간 annealing, 72 °C에서 45초간 extension시켰고, 이 과정을 40회 반복 시행하여 인슐린 유전자에서 +1,127 Pst I 다형성 부위를 증폭시켰다. -23 Hph I 다형성 부위도 같은 방법으로, 시발체로는 INS04(5'-TCCA-GGACAGGCTGCATCAG-3')와 INS05(5'-AGCAA-TGGGCGGTGGGCTCA-3')를 써서 PCR cycler에 넣고 94 °C에서 30초간 denaturation, 64 °C에서 45초간 annealing, 72 °C에서 45초간 extension시켰고 이 과정을 40회 반복 증폭시켰다¹⁷⁾. 증폭된 product는 1.5 % agarose gel에서 전기영동을 시행하여 결과를 판정하

Fig. 2. Pst I restriction enzyme digestion of insulin gene. A 430 bp fragment containing the Pst I +1,127 polymorphic site was amplified from genomic DNA using the primers INS01 and INS02. Amplified products were digested with Pst I restriction enzyme and then electrophoresed in 3% agarose gel. The allele '+' only contains a monomorphic Pst I site and were digested into two fragments(260 bp and 170 bp). The allele '-' contains the same monomorphic site as well as the polymorphic Pst I +1,127 site and were digested into three fragments(260 bp, 110 bp and 60 bp). The fragments of 60 bp were not visible in the agarose gel

Fig. 3. Hph I restriction enzyme digestion of insulin gene. A 440 bp fragment containing the Hph I -23 polymorphic site was amplified from genomic DNA using the primers INS04 and INS05. Amplified products were digested with Hph I restriction enzyme and then electrophoresed in 3% agarose gel. The allele '+' only contains a Hph I site and were digested into two fragments(230 bp and 210 bp). The allele '-' does not contain Hph I site and was not digested(440 bp)

였고 product band만 오려내어 투석시킨 후 QIA quick gel extraction kit (QIAGEN Inc)를 이용하여 PCR product를 정제하였다.

2) 제한효소 분절길이 다형성 방법(RFLP, restriction fragment length polymorphism)

증폭된 Pst I 제한부위 유전자를 제한효소 Pst I으로 절단하여 분절의 크기와 pattern을 비교, 관찰하여 유전형을 결정하였다. Hph I 제한부위 유전자도 제한효소 Hph I을 이용하여 같은 방법으로 유전형을 결정하였다.

대립인자의 명명은 Hph I 및 Pst I 제한부위 모두 당뇨병 환자에서 가장 많은 빈도로 나타나는 대립인자를 “+”로 명명하였다¹⁷⁾.

3. 통계처리

모든 결과는 평균 ± 표준편차 및 빈도로 표시하였다. 각 군간의 평균치의 비교는 t-test와 Mann-Whitney's U-test로 비교하였다. 인슐린 유전자 다형성에 따른 당뇨병 군과 대조군의 빈도수의 비교는 Fisher's exact test로 판정하였고 p 값이 0.05 미만인 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 제한효소 분절길이 다형성(RFLP)의 결과

Pst I +형의 경우 +1,127 염기가 cytosine이며 Pst I -형의 경우 cytosine이 thymidine으로 치환되어 있다. Pst I 제한효소는 5'-CTGCAG-3' 부위를 인지하므로

Table 2. Allelic Frequencies at Hph I Polymorphic Locus of Insulin Gene

Hph I	Control n = 33	NIDDM n = 59	p-value
+/+	33 (100)	56 (95)	NS
+/-	0 (0)	3 (5)	
-/-	0 (0)	0 (0)	

Data=n(%)

NS : no significance

The + allele is the most frequent allele in the diabetic population for diallelic polymorphisms

Pst I +/+형인 경우 monomorphic Pst I 제한부위만 가지고 있으므로 260 bp, 170 bp 크기의 띠(band)가 관찰되었고, Pst I +/-형인 경우 260 bp, 170 bp, 110 bp, 60 bp 크기의 띠가 관찰되었고, 260 bp, 110 bp, 60 bp의 띠가 관찰되는 Pst I -/-형의 경우는 한 예도 없었다(Fig. 2).

Hph I 제한효소는 5'-TCACC-3' 부위를 인지, 절단하는데 -23번째 염기가 adenine인 Hph I +/+형은 210 bp, 230 bp 크기의 띠가 관찰되었고, Hph I +/-형인 경우 440 bp, 230 bp, 210 bp 크기의 띠가 관찰되었다. 440 bp 크기의 띠가 관찰되는 Hph I -/-형인 경우는 한 예도 없었다(Fig. 3).

2. 인슐린유전자 다형성과 당뇨병과의 상관성

Hph I 제한효소로 처리한 경우 인슐린비의존형 당뇨병 환자 59명 중 +/+ 유전형이 56명 (95%), +/- 유전형이 3명 (5%)이었으며, 정상 대조군의 경우 +/+ 유전형이 33명 (100%), +/- 유전형은 없었다. -/- 유전형은 당뇨병 환자 및 대조군 모두에서 한 명도 없었다. 따라서 인슐린 유전자 Hph I 제한부위의 다형성은 인슐린 비의존형 당뇨병 환자와 정상 대조군에서 의미 있는 차이가 없었다(Table 2).

비비만형 인슐린비의존형 당뇨병 환자만을 분리하여 인슐린 유전자 Hph I 제한부위의 다형성을 본 결과에서도 두 군간 의미 있는 차이가 없었다(Table 2).

같은 방법으로 Pst I 제한효소를 처리한 경우 인슐린 비의존형 당뇨병 환자 60명 중 +/+ 유전형이 55명 (92%), +/- 유전형이 5명 (8%)이었고, -/- 유전형은 없었다. 정상 대조군은 32명 (97%)이 +/+ 유전형이었으며, 1명이 +/- 유전형이었다. 따라서 인슐린비의존형 당뇨병 환자와 정상 대조군에서 Pst I 제한부위의 유전자 다형성은 두 군간 차이가 없었다(Table 3).

비비만형 환자를 대상으로 Pst I 제한부위의 다형성을 본 결과에서도 두 군간 의미 있는 차이가 없었다 (Table 3).

3. 인슐린유전자 다형성에 따른 임상적 특징

인슐린비의존형 당뇨병 환자 67명을 인슐린 유전자 다형성에 따라 두 군으로 분류한 후 임상, 검사실 소견

Table 3. Allelic Frequencies at Pst I Polymorphic Locus of Insulin Gene

Pst I	Control n = 33	NIDDM n = 60	p-value
+/+	32 (97)	55 (92)	NS
+/-	1 (3)	5 (8)	
-/-	0 (0)	0 (0)	

Data=n(%)

NS : no significance

The + allele is the most frequent allele in the diabetic population for diallelic polymorphisms

Table 4. Comparisons of Clinical and Biochemical Characteristics According to the Hph I Polymorphism of the Insulin Gene

	Hph I	
	+/+	+/-
Number	56	3
Onset age (yrs)	40.5 ± 12.4	38.0 ± 12.3
Family history (%)	31	33
Insulin treatment (%)	38	33
Body mass index (kg/m ²)	22.7 ± 2.7	23.6 ± 2.1
Fasting glucose (mmol/L)	9.79 ± 4.44	9.38 ± 7.93
Postprandial glucose (mmol/L)	14.34 ± 5.25	9.08 ± 5.30
Fasting insulin (pmol/L)	56.4 ± 98.4	37.2 ± 22.8
Postprandial insulin (pmol/L)	184.2 ± 292.2	83.4 ± 83.4
Fasting C-peptide (nmol/L)	0.70 ± 0.50	0.99 ± 0.63
Postprandial C-peptide (nmol/L)	1.22 ± 0.99	1.66 ± 1.13
HbA1c (%)	12.9 ± 4.3	11.8 ± 4.6

Values are means ± S.D.

The + allele is the most frequent allele in the diabetic population for diallelic polymorphisms

을 비교하였다. Hph I 부위 다형성에 따른 비교에서는 +/+ 유전형을 가진 군과 +/- 유전형을 가진 군간의 당뇨병 발병 연령, 가족력, 체질량지수, 공복 및 식후 2시간 혈당, 인슐린, C-펩타이드 및 당화혈색소는 차이가 없었다(Table 4).

Pst I 부위 다형성에 따른 비교에서도 두 군간에 당뇨병 발병 연령, 가족력, 체질량지수, 공복 및 식후 2시간 혈당, 인슐린, C-펩타이드 및 당화혈색소는 차이가 없었다. 지속적인 인슐린 치료가 필요하였던 환자도

Table 5. Comparisons of Clinical and Biochemical Characteristics According to the Pst I Polymorphism of the Insulin Gene

	Pst I	
	+/+	+/-
Number	55	5
Onset age (yrs)	42.5 ± 12.1	41.6 ± 10.0
Family history (%)	34	20
Body mass index (kg/m ²)	21.8 ± 4.0	23.6 ± 3.1
Insulin treatment (%)	31	60
Fasting glucose (mmol/L)	9.44 ± 4.05	9.38 ± 7.93
Postprandial glucose (mmol/L)	14.70 ± 5.30	9.06 ± 5.32
Fasting insulin (pmol/L)	61.8 ± 105.0	43.2 ± 22.2
Postprandial insulin (pmol/L)	188.4 ± 296.4	83.4 ± 83.4
Fasting C-peptide (nmol/L)	0.63 ± 0.40	0.86 ± 0.56
Postprandial C-peptide (nmol/L)	1.16 ± 0.79	1.60 ± 1.13
HbA1c (%)	12.4 ± 4.7	12.4 ± 3.9

Values are means ± S.D.

The + allele is the most frequent allele in the diabetic population for diallelic polymorphisms

두 군간에 차이가 없었다(Table 5).

고 칠

인슐린 유전자의 +1,127 Pst I 제한부위 다형성은 인슐린비의존형 당뇨병과 관련이 있는 것으로 보고되고 있으나^{15,16,18} 인슐린비의존형 당뇨병의 경우에는 여러 의견들이 제시되고 있어 관련성 여부가 명확하지 않다. Hoban 등¹⁹은 인슐린비의존형 당뇨병 환자의 71%에서 +/+ 유전형을 보였다고 하였으며, Hitman 등²⁰은 인슐린비의존형 당뇨병 환자의 76%에서 Pst I +/+ 유전형을 보였으나 이 유전형이 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 더 많은 빈도로 나타나지는 않아 이 유전형이 당뇨병을 예측하는데 도움이 되지 않는다고 보고한 바 있다. Masuda 등²¹은 일본인에서 인슐린비의존형 당뇨병 환자의 88%, 인슐린비의존형 당뇨병 환자의 95%, 그리고 정상 대조군의 96%가 Pst I +/+ 유전형을 보여 Pst I 다형성 부위가 일본인에서는 당뇨병과

무관하다고 보고하였다.

본 연구에서는 $Pst\ I\ +/+$ 유전형이 인슐린비의존형 당뇨병 환자군과 정상 대조군 모두에서 90% 이상의 빈도를 보여 코카시안에 비해 $Pst\ I\ +/+$ 유전형의 빈도가 한국인에서 증가되어 있음을 관찰할 수 있었으며 일본인과 비슷한 양상을 보여 이 부위가 동양인에서는 인슐린비의존형 당뇨병과 관련이 없으며 당뇨병의 발생을 예측할 수 있는 표지유전자로의 역할도 하지 못할 것임을 알 수 있었다.

Horst 등²²⁾은 가족력이 있는 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 $Pst\ I\ -/-$ 유전형이 의미있게 증가되어 있음을 보고하였는데 이는 $Pst\ I$ 제한부위와 인슐린비의존형 당뇨병과의 관련성이 종족에 따라 다르게 나타남을 시사한다.

인슐린 유전자의 $Hph\ I$ 부위의 다형성은 서양인에서 인슐린의존형 당뇨병과 관련이 높은 것으로 알려져 있으나^{16,23)}, 인슐린비의존형 당뇨병과의 관련성에 대해서는 보고된 바 없다. 본 연구에서는 당뇨병 환자와 정상 대조군 모두에서 $Hph\ I\ +/+$ 유전형이 90% 이상의 빈도를 보여 $Pst\ I$ 제한부위와 마찬가지로 한국인 인슐린비의존형 당뇨병과는 관련이 없음을 알 수 있었다.

인슐린비의존형 당뇨병은 유전인자와 환경인자가 복합되어 발생하는 다인자 질병이고, 또한 본 연구의 대상 환자가 많지 않아 이들이 전체 인슐린비의존형 당뇨병 환자를 대표하지 못했을 가능성도 배제할 수 없으므로 인슐린 유전자의 의미에 대해서는 좀더 많은 연구가 필요하겠으며, 유사한 임상경과와 표현형을 보이는 당뇨병 환자들로 분류하여 연구해 보면 더 의미 있는 결과를 얻을 것으로 예측된다.

요 약

연구배경: 역학조사와 가계연구 등을 통해 인슐린비의존형 당뇨병의 발현에 유전적 요인이 중요하다고 잘 알려져 있으며 관련된 유전자를 찾으려는 노력이 계속되어 왔지만 그 성과는 크지 못했다. 인슐린 유전자와 주위 조절 유전자의 변이는 인슐린 분비 장애를 일으킬 수 있기 때문에 당뇨병을 일으키는 유전자의 하나

로 생각되고 있다. 본 연구에서는 한국인 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 인슐린 유전자의 $Hph\ I$ 부위와 $Pst\ I$ 부위의 유전자 다형성의 빈도를 비교하여 이 부위와 한국인 인슐린비의존형 당뇨병과의 관련성을 보고자 하였고 유전자 다형성에 따른 임상양상에 차이가 있는지 알아보았다.

방법: 33명의 정상인과 67명의 인슐린비의존형 당뇨병 환자를 대상으로 말초혈액으로부터 DNA를 추출하였고, 중합효소연쇄반응과 제한효소 분절길이 다형성법을 수행하여 $Hph\ I$, $Pst\ I$ 제한부위 다형성의 빈도를 조사하였다. 또한 인슐린비의존형 당뇨병 환자에서 유전형에 따른 인슐린 분비능, 혈당 조절 정도, 가족력 등의 차이가 있는지 조사하였다.

결과 : 인슐린 유전자의 $Hph\ I$ 제한부위 다형성은 $+/-$ 유전자형이 당뇨병 환자의 경우 95%, 대조군의 100%에서 관찰되어 두 군간 빈도의 차이가 없었다. $Pst\ I$ 제한부위 다형성도 $+/-$ 유전자형이 당뇨병 환자의 92%, 대조군의 97%에서 관찰되어 두 군간 차이가 없었다. 당뇨병 환자에서 인슐린 유전자형에 따른 임상양상을 비교하였는데 $Hph\ I$ 제한부위와 $Pst\ I$ 제한부위 다형성에 따른 당뇨병의 발생연령, 가족력, 인슐린 분비능, 혈당 조절정도의 차이는 없었다.

결론 : 인슐린 유전자의 $Hph\ I$ 및 $Pst\ I$ 제한부위 다형성은 한국인 인슐린비의존형 당뇨병과 관련될 가능성은 희박할 것으로 생각된다.

= Abstract =

Insulin Gene Polymorphisms in non-insulin-dependent Diabetes Mellitus(NIDDM) in Korean

Jin Wuk Kwon, M.D., Seok Won Park, M.D.,
Bong Soo Cha, M.D., Young Duk Song, M.D.,
Churl Woo Ahn, M.D., Keun Soo Jang, M.D.,
Soo Jin Kim, M.D., Seung Kil Lim, M.D.,
Kyung Rae Kim, M.D., Hyun Chul Lee, M.D.
and Kap Bum Huh, M.D.

*Department of Internal Medicine College of Medicine,
Yonsei University*

Background: Many epidemiologic and family studies indicated stronger influence of genetic factors in NIDDM compared to IDDM, and there has been investigations to identify the susceptibility genes but without definite results. Insulin gene with its regulator region has been considered as a possible candidate gene of NIDDM because of relative deficiency in insulin secretion.

So, we investigated the possible relationship between insulin gene polymorphisms and NIDDM in Korean.

Methods: we investigated -23 Hph I and +1,127 Pst I restriction site on insulin gene region in 67 NIDDM patients and 33 healthy controls by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP) method, and compared the allelic frequencies. We also compared the insulin secretory capacity, degree of blood glucose control, and family history of diabetes mellitus according to insulin gene polymorphism.

Results:

1. Insulin gene polymorphism on -23 Hph I restriction site or +1,127 Pst I restriction site does not confer susceptibility to NIDDM in Korea.
2. No differences were observed in onset age,

family history of diabetes mellitus, insulin secretory capacity, and degree of blood glucose control, according to insulin gene polymorphism.

Conclusion: Insulin gene polymorphism on Hph I site and Pst I site probably does not play an important role in the pathogenesis of NIDDM in Korean population.

Key Words: non-insulin-dependent diabetes mellitus, Insulin gene polymorphism.

참 고 문 헌

1. Owerbach D, Nerup J: *Restriction fragment length polymorphism of the insulin gene in diabetes mellitus*. *Diabetes* 31:275-277, 1982
2. Elbein S, Rotwein P, Permutt MA, Bell GI: *Lack of association of the polymorphic locus in the 5'-flanking region of the human insulin gene and diabetes in American blacks*. *Diabetes* 34:433-439, 1985
3. McClain DA, Henry RP, Ullrich A: *Restriction-fragment-length polymorphism in insulin receptor gene and insulin resistance in NIDDM*. *Diabetes* 37:1071-1075, 1988
4. Iynedjian PB, Pilot PR, Nouspikel T, Miburn JL, Quaade C: *Differential expression and regulation of the glucokinase gene in liver and islets of Langerhans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 7838-7842, 1989
5. Froguel P, Vaxillaire M, Sun F: *Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus*. *Nature* 356:162-164, 1992
6. Hattersley AT, Turner RC, Permutt MA: *Linkage of type 2 diabetes to the glucokinase gene*. *Lancet* 339:1307-1310, 1992
7. Cox NJ, Xiang KS, Bell GI, Karam JH: *Glucose transporter gene and non-insulin-dependent*

- diabetes mellitus. Lancet* 2:793-794, 1988
8. Akira M, Laszio K, Nancy C: *Polymorphism of GLUT2 and GLUT4 genes, Use in evaluation of genetic susceptibility to NIDDM in blacks.* *Diabetes* 39:1534-1542, 1990
 9. Choi WH, O'rahilly S, Buse JB: *Molecular scanning of insulin responsive glucose transporter (GLUT4) gene in NIDDM subjects.* *Diabetes* 40: 1712, 1991
 10. Xiang KS, Cox NJ, Sanz N: *Insulin-receptor and apolipoprotein genes contribute to development of NIDDM in chinese Americans.* *Diabetes* 38: 17-23, 1989
 11. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV: *Maternally transmitted diabetes and deafness with a 10.4kb mitochondrial DNA deletion.* *Nat Genet* 1:11-15, 1992
 12. Kadokawa T, Kadokawa H, Yasumichi M: *A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA.* *N Engl J Med* 330:962-968, 1994
 13. Von den Ouwehand JMW, Lemkes HHPJ, Ruitenberg W: *Mutation in mitochondrial tRNA(Leu-uuR) gene in a large pedigree with maternally-transmitted type II diabetes mellitus and deafness.* *Nat Genet* 1:368-371, 1992
 14. Bell GI, Selby MJ, Rutter WJ: *The highly polymorphic region near the human insulin gene is composed of simple tandemly repeating sequences.* *Nature* 295:31-35, 1982
 15. Undlien DE, Bennett ST, Todd HE: *Insulin gene region-encoded susceptibility to IDDM maps upstream of the insulin gene.* *Diabetes* 44:620-625, 1995
 16. Lucassen AM, Julier C, Bell GI: *Susceptibility to IDDM maps to a 4.1kb segment of DNA spanning the insulin gene and associated VNTR.* *Nat Genet* 4:305-310, 1993
 17. 이태희: *한국인 당뇨병 환자의 비만도에 관한 연구.* *대한내과학회지* 46(Suppl II):271-281, 1994
 18. Julier C, Hyer RN, Merlin DF: *Insulin-IGF2 region on chromosome 11p encodes a gene implicated in HLA-DR4-dependent diabetes susceptibility.* *Nature* 354:155-159, 1991
 19. Hoban PR, Kelsey AM: *Pst I polymorphism within the 3' untranslated region of the insulin gene detectable by the polymerase chain reaction(INS).* *Nucleic Acid Research* 19:4576, 1991
 20. Hitman GA, Kambo PK, Viswanathan M, Mohan V: *An analysis of amplified insulin gene products in diabetics of Indian origin.* *J Med Genet* 28: 97-100, 1991
 21. Masuda K, Yano H, Miura T, Morimoto M, Kitano N, Seino Y: *Hind III site causing Proinsulin Kyoto and Pst I site polymorphism of the insulin gene in Japanese: its lack of association with either IDDM or NIDDM.* *Endocr J* 41:71-74, 1994
 22. Horst-Sikorska W, Krzyzagorska E, Chlebowska H: *Investigation of the insulin gene by the amplification method in vitro.* *Endokrynologia Polska* 43:31-37, 1992
 23. Metcalf KA, Hitman GA, Fennessy MJ, McCarthy MI, Tuomilehto J et al: *In Finland insulin gene region encoded susceptibility to IDDM exerts maximum effect when there is low HLA-DR associated risk.* *Diabetologia* 38: 1223-1229, 1995