

## 사상체질의 유전적 다형성 연구 - MTHFR의 단일염기다형성을 중심으로 -

이수경\* · 송일병\*\*

### Abstract

## Research of genetic polymorphisms of Sasang Constitution - focusing on SNP of MTHFR gene -

Lee Su-kyung\* · Song Il-byung\*\*

\*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, Hospital of Oriental Medicine, Kyung-Hee Univ.

\*\*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee Univ.

Sasang Constitutional Medicine is based on the diversity of Human being and medically developed the response variation to diseases and medicines. The diversity is categorized as four from physiology, pathology, symptoms, to therapy. So that is related the difference of individual characteristics in Western Science. Single nucleotide polymorphism is the basic tool to research genetic polymorphisms.

We researched the polymorphism site of MTHFR gene on 1p36.3, which is relatively reported the occlusive vascular disease. In the clinical research of brain infarction, the occurrence was different according to constitution. The 677C/T Polymorphism site of MTHFR was not significantly different in constitution group. But this research was the first trial about the single nucleotide polymorphism according to constitution.

The more researchs of many genes are necessary to find the characteristics of constitution.

Key Words : Sasang Constitution, Polymorphism, MTHFR, SNP

### 1. 서론

사상체질의학은 사람을 태양인, 태음인, 소양인, 소음인으로 구분하여 생리, 병리부터 질병의 치료까지 달리하는 의학으로 현재까지 100여 년 간 한국인을 대상으로 임상적으로 활용되고 있으며 다양한 질환에서 임상적 치료 효과가 유의하게 나타나고

있다. 체질은 한 개체가 지니는 모든 특성을 포괄하는 용어로 사상의학에서의 체질은 생리, 병리적 대사의 특성, 개체의 성격과 장단점, 다른 사람 또는 사회와의 관계, 약물에 대한 반응과 질환에 대한 이환율의 차이를 모두 포함한다. 그러므로 체질은 그 개체가 지니는 모든 속성을 내포한다고 할 수 있다.

\* 경희대학교 부속한방병원 사상체질과 \*\*경희대학교 한의과대학 사상의학과

교신저자: 이수경 주소)서울 동대문구 회기동1번지 경희의료원 사상체질과 전화)958-9274 E-mail)sukyung@khmc.or.kr

\* 이 연구는 2000년도 경희대학교 연구비지원에 의한 결과임.

이러한 체질은 한의학에서 심성, 체형과 용모, 체질증과 체질 병증등이 진단 기준이 되나 주관적인 면이 있으며 그 개체가 지니는 모든 특성을 설명할 수 있는 현대 과학의 도구는 없었다. 그러나 최근 Human Genome Project가 완성되어 인간이 지니는 유전체의 구조적인 골격은 밝혀져 인간의 유전 정보에 대한 많은 정보가 제공되고 있다. 인간의 모든 속성을 포괄하는 체질은 이러한 유전 정보를 전체적으로 분석하여 각 개체의 유전적 소이가 다름을 밝히면 증명될 수 있을 것이다.

사상체질의 유전적 특성에 대한 연구는 한국한의 학연구원과 경희대학교 사상의학과가 1996년부터 1998년까지 진행하여 Genetic marker로서 STR locus에 대한 각 체질 집단의 allele를 비교하여 각 체질 집단의 상관성을 살펴보았으며,<sup>12)</sup> 그 외 ACE 유전자와 사상체질과의 상관성을 살펴 본 연구가<sup>14)</sup> 있었다.

인간 유전체가 빠른 속도로 밝혀지면서 개인마다 차이가 있는 다형성 부위들이 보고되고 있다. 그 중 염기 서열에서 개인적 특성이 있는 단일염기다형성 (single nucleotide polymorphisms:SNPs)은 개개인의 유전적 차이를 나타내며 개개인의 특성을 나타내는 표지자로 떠오르고 있다.<sup>8)9)</sup> 단백질이 합성되는 exon의 coding region에서는 배열된 염기 차이로 합성되는 아미노산이 달라지게 되고 그로 인해 단백질 기능이 달라져 대사과정이 달라지게 되고 이는 질병의 이환율의 차이나 약물에 따른 반응까지 달라지게 된다.

그러므로 본 연구에서는 사상인의 체질에 따라 단일염기다형성을 확인하기 위한 것으로 각 체질의 유전자 pool을 만들고 이를 1번 염색체의 1p36.3의 부위에 존재하는 MTHFR 유전자의 SNP의 여부를 확인하고자 하였다.

MTHFR 유전자는 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase를 합성하는 것으로 이는 occlusive vascular disease, neural tube defects, colon cancer 질환과 관련되어 있는 것으로 현재까지 보고되고 있다.

이는 뇌혈관과 심장혈관의 동맥경화현상과 관련성을 유추할 수 있다. 현재까지 보고된 바에 의하면 체질별 질환의 이환 차이를 고려할 때 현재 뇌경색 질환에 있어 태음인과 소양인의 발병이 높고 태양인과 소음인의 발병이 낮은 것을 고려하면 MTHFR 유전자의 다형성이 폐쇄성 혈관 질환에 관련된다고

볼 때 MTHFR의 다형성의 차이를 각 체질집단에서 살펴 볼 수 있을 것이다. 본 연구에서는 이러한 가설을 검증하는 것을 목표로 하면 현재 보고된 MTHFR의 SNP 부위 중 occlusive vascular disease와 관련된 Coding region인 exon4의 222 codon의 SNP를 체질별로 유의한 차이가 있는 지를 검증하고자 하였다.

## 2. 연구 방법

체질적 특성이 전형적인 체질 집단의 Genomic DNA를 대상으로 MTHFR의 Coding region인 exon4의 222 codon의 SNP의 발현 빈도를 분석하고 체질 집단에 따른 통계적 편중이 있는지를 조사하였다.

### (1) 체질 집단의 유전자 확보

사상체질의 유전적 다형성 연구의 가장 기본은 정확한 체질 진단에 근거한 대상군의 설정이다. 경희대학교 사상체질과에서 체질이 전형적인 것으로 진단되고 다른 질환을 지니고 있지 않은 건강인을 태음인, 소양인, 소음인 각 체질별로 24명, 태양인 4명을 대상으로 하였다. 그들에게서 실험의 취지와 방법을 설명하는 동의서에 서명을 받은 다음 혈액을 5ml 채취하였다.

### (2) DNA 추출

Phycoll-Hypaque를 이용하여 Whoool Blood에서 림프구를 분리한 genomic DNA를 추출하였다. 동일한 농도로 맞추어 TE에 녹인 각 개인의 Genomic DNA를 2ml씩 추출하여 체질집단의 Gene Pool을 만들었다.

### (3) PCR

아래의 Oligonucleotide primer를 이용해 체질집단의 Gene Pool을 대상으로 PCR 기기(Perkin Elmer 9600)를 이용하여 Polymerase Chain Reaction을 시행하여 체질 집단의 유전체 SNPs 자료를 확보하였다.

Lt Primer : GCITTGAGGCTGACCTGAAG

Rt Primer : AAGCGGAAGAATGTGTGTCAGC

Product Length : 107 bp

**(4) DNA sequencing과 자료 분석**

염기서열 분석은 DNA sequencer(ABI 373A DNA sequencer)를 이용하여 시행하였다. 얻어지는 자료들을 중심으로 SNP에 나타나는 염기의 빈도를 분석한다.

**3. 연구 결과**

MTHFR의 677C/T Polymorphism을 확인하기 위해 Primer를 사용하여 각 체질집단의 유전자 Pool을 PCR 하여 Sequence를 분석한 결과 아래 <표 1>과 같은 Sequence를 확인하였다.

염기의 발현빈도를 확인한 결과 아래 표 2와 같은 결과를 얻었다.

**4. 고찰**

MTHFR은 사람의 1번 염색체 1p36.3에 위치하며 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase를 coding하는 유전자이다. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase는 5,10-methylenetetrahydrofolate를 5-methyltetrahydrofolate로 전환하는데 촉매작용을 하는데 5-methyltetrahydrofolate는 homocysteine remethylation을 methionine으로 cosubstrate 하는 역할을 한다. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase의 결손은 엽산 대사의 장애로 흔한 타고난 질환으

로 알려져 있었다.<sup>1)</sup>

1991년 Kang,S.S에 의해 thermolabile MTHFR이 coronary artery 질환과 긍정적으로 관련된다<sup>2)</sup>고 제기된 이후로 MTHFR과 occlusive vascular disease와의 관련성에 대한 연구가 활발해 1995년에는 Frosst et al에 의해 nucleotide (nt) 677에서 C가 T로 대체되는 다형성이 혈관질환에서 중요한 유전적 위험인자가 된다고 제시하였다.<sup>1)</sup>

이들이 밝힌 다형성 부위로는 exon 4에 위치하는 C/T 다형성으로 이는 protein의 합성에서 GCC/GTC로 222번 Codon에서 alanin/valine의 차이를 유발하게 된다. 이는 MTHFR의 thermolabile form의 합성에 관여되는 것으로 알려졌다. 이 다형성은 occlusive vascular disease, neural tube defects, colon cancer의 세 다양한 요인에 의한 질환과 관련되어 있는 것으로 현재 보고되고 있다.

이에 본 연구는 사상체질에 따른 질병의 이환의 차이를 고려할 때 뇌혈관질환의 발생에 체질적 차이가 있음을 임상에서 확인할 수 있다. 그러므로 폐쇄성 혈관장애를 유발하는 MTHFR 유전자의 다형성이 체질에 따른 차이가 있을 것이라는 가설 아래 본 연구를 진행하였다.

MTHFR 유전자 exon 4의 C/T 다형성을 체질별로 살펴 보아 위의 표와 같은 결과를 얻었다. 이번 연구 결과에 의하면 소음인 집단과 태양인 집단에서

표 1. MTHFR의 exon 4의 sequence

196	G[GT TAC CCC AAA GGC CAC CCC GAA GCA GGG AGC TTT GAG GCT GAC	210
211	CTG AAG CAC TTG AAG GAG AAG GTG TCT GCG GGA G[C/T]C GAT TTC ATC	225
226	ATC ACG CAG CTT TTC TTT GAG GCT GAC ACA TTC TTC CGC TTT GTG	240
241	AAG GCA TGC ACC GAC ATG GGC ATC ACT TGC CCC ATC GTC CCC GGG	255
256	ATC TTT CCC ATC CAG} GGC TAC CAC TCC CTT CGG CAG CTT GTG AAG	270

[ ] : exon 4의 Sequence, G[C/T]C : Polymorphism Site  
 Primer : L (TGCTTTGAGGCTGACCTGAAG) R (AAGCGGAAGAATGTGTGACG)

표 2. 체질집단별 MTHFR의 C/T(677) 다형성 발현의 빈도

Gene	Description	locus	Polymorphism	Amino Acid change	소음인 (24명)	소양인 (24명)	태음인 (24명)	태양인 (4명)
MTHFR	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1p36.3	677c/t	ala222val G[C/T]C	CT(C) 1.6/1.5/0.7 C:0.44	CT(C) 1.5/1.6/0.7 C:0.50	CT(C) 1.5/1.6/0.7 C:0.50	CT(C) 1.4/1.3/0.3 C:0.44

222번 codon의 GTC의 발현 빈도가 0.56으로 소양인 집단과 태음인 집단의 0.5보다 더욱 높은 것으로 나타났다. 그러나 이는 그간 체질별 질환 이환율을 고려한 것과는 다른 결과이다. 즉, 현재까지 질병의 체질적 이환 정도를 고려한 연구에 의하면 태음인과 소양인에서 흔히 뇌경색의 폐쇄성 혈관 장애가 흔히 유발되게 되는데<sup>1)15)16)</sup> 유전적 특성으로 살펴본 결과에만 의한다면 소음인집단과 태양인집단이 exon 4의 C가 T로 대체되어 Valine이 합성되어 혈관질환이 나타날 확률이 더욱 높게 된다. 또한 각 체질 집단의 구분에 있어서 소음인 집단과 태양인 집단의 T의 발현 빈도가 동일하고 소양인 집단과 태음인 집단의 발현 빈도가 동일해 네 체질의 체질 집단 구分的 유의성은 없는 것으로 판단된다.

전세계적으로 그 간의 연구에서 MTHFR의 polymorphism에 대해서 두 방향의 연구들이 발표되었다. Adams et al<sup>2)</sup> 등은 MTHFR의 thermolabile variant가 심근경색의 주요한 위험인자는 아니며 관상동맥질환을 가진 hyperhomocysteinemia의 관련되어 중요한 역할을 하지는 않는다고 보고하였으며 Van Bockxmeer et al<sup>6)</sup>은 Western Austerians에서 관상동맥질환과 관련성이 발견되지 않았다고 발표하였으며 Schwartz et al<sup>5)</sup>은 심근경색이후에 생존한 non-Hispanic white female을 대상으로 하여 대립형질을 살펴 본 결과 별 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

그러나 Morita et al<sup>4)</sup> 등이 관상동맥질환으로 확진된 Japanese male을 대상으로 다형성을 살펴 본 결과에 의하면 현저하게 유의한 결과를 얻었다. 이러한 두 방향의 결과에 대해서는 민족의 차이, 실험군의 크기 등의 여러 가지 원인이 있을 수가 있을 것이다. 그러나 일단 동양계에 유의한 결과가 나타나리라는 가설에 근거한 체질별 MTHFR의 다형성에 관해 살펴 본 것은 확연한 유의성을 얻지 못하였다.

그러나 이는 유전체의 다형성을 체질과 연관해서 살펴 본 최초의 연구로 연구의 방향설정과 기능성을 지닌 유전자를 중심으로 체질적 차이를 찾으려는 연구의 시초로서 의미가 있을 것이며 향후 이와 같은 연구결과들이 장기간 많은 수의 유전자를 대상으로 축적된다면 체질적 유전체의 차이를 밝히는데 큰 의미가 있을 것이다.

## Reference

1. Frosst, P.; Blom, H. J.; Milos, R.; Goyette, P.; Sheppard, C. A.; Matthews, R. G.; Boers, G. J. H.; den Heijer, M.; Kluijtmans, L. A. J.; van den Heuvel, L. P.; Rozen, R. : A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet.* 10: 111-113, 1995.
2. Adams, M.; Smith, P. D.; Martin, D.; Thompson, J. R.; Lodwick, D.; Samani, N. J. : Genetic analysis of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for myocardial infarction. *Quart. J. Med.* 89: 437-444, 1996.
3. Kang, S.-S.; Wong, P. W. K.; Susmano, A.; Sora, J.; Norusis, M.; Ruggie, N. : Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am. J. Hum. Genet.* 48: 536-545, 1991.
4. Morita, H.; Taguchi, J.; Kurihara, H.; Kitaoka, M.; Kaneda, H.; Kurihara, Y.; Maemura, K.; Shindo, T.; Minamino, T.; Ohno, M.; Yamaoki, K.; Ogasawara, K.; Aizawa, T.; Suzuki, S.; Yazaki, Y. : Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 95: 2032-2036, 1997.
5. Schwartz, S. M.; Siscovick, D. S.; Malinow, M. R.; Rosendaal, F. R.; Beverly, R. K.; Hess, D. L.; Psaty, B. M.; Longstreth, W. T., Jr.; Koepsell, T. D.; Raghunathan, T. E.; Reitsma, P. H. : Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 96: 412-417, 1997.
6. Van Bockxmeer, F. M.; Mamotte, C. D. S.; Vasikaran, S. D.; Taylor, R. R. : Methylenetetrahydrofolate reductase gene and coronary artery disease. *Circulation* 95: 21-23, 1997.
7. Ralph Snydermann 외, Oversight Mechanisms for Clinical Research, 287(28), 595-596, 2000

8. Alan F.Wright 외, Population choice in mapping genes for complex diseases, *Nature Genetics*, 23(1), 397-404, 1999
9. Kenneth M. Weiss 외, How many disease does I take to map a gene with SNPs, *Nature Genetics*, 26(1), 151-157, 2000
10. Pui-Yan Kwok 외, Comparative Analysis of Human DNA Variations by Fluorescence-Based Sequencing of PCR Products, *Genomics*, 23, 138-144, 1994
11. 송일병, 사상의학적 증풍 관리의 임상적 연구, *사상의학회지*, 8(2), 117-130, 1996
12. 조동욱 안선경 김도균 김대원 지상은 이의주 홍석철 고병희 조황성, Amp-FLP을 이용한 사상체질의 유전적 분석 연구, *사상의학회지*, 9(2), 163-174, 1997
13. 조황성, 사상체질과 유전학, *사상의학회지*, 10(1), 13-24, 1998
14. 최승훈 임용빈 이준우 김홍열 강철훈, 사상체질 유형과 ACE 유전자 Type과의 상관관계, *사상의학회지*, 10(2), 283-290, 1998
15. 김종원, 뇌졸중에 대한 한방치료법 연구 및 한방·양방·한양방 협진 치료 효과에 관한 연구, *사상의학회지*, 10(2), 351-430, 1998
16. 최재영 박성식, 사상의학적 증풍 치험 157예에 대한 임상적 연구, *사상의학회지*, 10(2), 431-454, 1998