

## 한국인에서의 아디포넥틴의 유전자다형성과 제2형 당뇨병과의 연관성

유민 · 김수원\*

계명대학교 자연과학대학 생물학과

Received September 30, 2009 / Accepted October 13, 2009

**Association of Adiponectin Polymorphisms with Type 2 Diabetes in Korean Population.** Min Yoo and Su Won Kim\*. *Department of Biology, College of Natural Sciences, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea* - Type 2-diabetes is a typical polygenic disease complex, for which several common risk alleles have been identified. Adiponectin, which modulates insulin resistance as well as glucose and lipid metabolism, has recently been associated with type 2-diabetes (T2DM). Therefore, we investigated the genotype for the T45G and G267T polymorphisms in adiponectin genes in the Korean population and compared genotypes of patients with those of a control group. 100 patients (63 male, 37 female), who previously underwent T2DM and 100 controls (36 male, 63 female) participated in this study. There was a strong association between T45G polymorphism in the adiponectin gene and T2DM. The present study shows that adiponectin T45G polymorphism may be associated with the pathogenesis of T2DM. Further studies with a larger population may be needed for the development of diagnostic methods at genetic levels such as DNA chip.

**Key words :** Adiponectin gene, polymorphism, type 2 Diabetes, Korean population

### 서 론

에너지의 저장소로만 알려져 왔던 지방조직이 최근 들어 cytokine, 성장인자, 보체단백 그리고 adipokine과 같은 호르몬을 분비함으로써 인슐린 저항성, 에너지 대사, 탄수화물 및 지질 대사, 염증반응, 혈관벽 및 혈압 유지, 심혈관계, 면역계 등에 영향을 주는 내분비 기관으로 알려지면서 그 작용 및 조절과정에 대한 관심이 높아지고 있다[1]. 지방조직이 분비하는 대표적인 adipokine으로는 adiponectin, leptin, resistin, TNF- $\alpha$ , interleukin-6, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 등이 있다.

그 중에서도 adiponectin은 1995년 Scherer 등에 의해 처음으로 보고되었으며 그 뒤 다른 여러 사람들에 의해 발견되면서 adiponectin, adipocyte complement-related protein of 30kd (Acrp30), AdipoQ, adipose most abundant gene transcript (apM1), gelatin binding protein of 28 kd (GBD28) 등의 다양한 이름으로 불리어지기도 한다[7]. Adiponectin은 지방세포에서 분비되는 단백질로서 항당뇨, 항염증 그리고 항동맥경화성을 가진 것으로 알려져 있다. 혈중 adiponectin 농도는 비만, 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환에서 감소되어 있다. Adiponectin 유전자는 염색체상에서 3q27 부위에 위치하는데, 이 부위는 제2형 당뇨병 감수성과 연관된 것으로 확인되어 있으며, 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있다[6]. 현재 adiponectin 유전자의 유전자다형성과 비만, 인슐린 저항

그리고 제2형 당뇨병과의 연관성에 대한 연구는 인종 및 민족 집단간의 genome wide scan 등의 방식 등으로 많이 시행되고 있다[3,5]. 그 중에서 exon 2에 위치한 T45G 유전자 다형성의 경우 제2형 당뇨병과 인슐린 저항성의 요소와 연관되어 있음이 보고 되어 있다.

제2형 당뇨병은 인슐린저항성과 췌장 베타세포의 기능 이상 및 이로 인한 혈당상승을 특징으로 하는 대사성질환이며 질환의 발생은 복합적인 유전적 경향을 보인다. 최근 수년간 새로운 분자생물학적 연구기법의 발달과 함께 제2형 당뇨병의 발현과 관련된 원인유전자를 발견하기 위한 많은 연구결과가 발표되었으며, genome wide scan 등의 방법이 발달하면서 유전자 다형성 연구 역시 활발히 진행되고 있다. 그러나 유전자 다형성의 경우에는 민족과 인종마다 다르게 보고되어 있다 [3,5,8,10]. 이에 본 연구에서는 한국인에서의 adiponectin 유전자의 유전자다형성과 제2형 당뇨병과의 상관관계를 조사해보았다.

### 재료 및 방법

#### 대상

본 연구는 대조군 100명, 제2형 당뇨병 환자군 100명을 대상으로 하였고, 성비는 전체적으로 남자 99명, 여자 101명이었다. 평균 연령은 제2형 당뇨병 환자군 62.8세, 대조군 63.2세였다. 대조군은 60세 이상, 공복혈당 110 mg/dl 이하, 당화혈색소 5.8% 이하인 100명으로 고혈압, 심근경색, 협심증, 고지혈증, 뇌졸중, 갑상선, 결핵, 간질환, 천식, 관절염, 우울증, 파킨슨병, 골다공증, 전립선 비대증, 암 등의 질병이 없는 사람으로

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-580-5953, Fax : +82-53-580-5953

E-mail : thebestone21@kmu.ac.kr

정하였으며, 남자 36명, 여자 64명이었다. 제2형 당뇨병 환자군은 2006년 4월부터 2006년 8월까지 경북대학교 병원과 계명대학교 동산의료원 내분비내과를 내원하였던 환자 100명으로 제2형 당뇨병의 과거 병력이 있거나 내원 후 제2형 당뇨병 진단을 받은 환자를 대상 환자군으로 정하였으며 남자 63명, 여자 37명이었다. 대상자에게 시행된 모든 검사들은 임상시험심사위원회(Institutional Review Board, IRB)의 기준에 맞게 환자들의 자발적인 서면 동의 하에 이루어졌다.

### 설문조사 및 신체계측

현재의 병력, 과거력, 흡연력, 음주력, 사회 인구학적 특성 등은 설문지를 이용하여 자기 기입식 방법으로 작성되었다. 조사에 사용된 설문지는 한국인 만성병 역학조사 및 유전체 연구사업의 설문지를 참고하였다. 대상자는 검사 전날 밤부터 최소한 10시간 이상 금식한 공복 상태에서 가벼운 의복을 착용하게 하였고, 자동신장체중계를 이용하여 신장과 체중을 동시에 측정하였다. 체질량지수(body mass index, BMI = kg/m<sup>2</sup>)는 측정된 기본 신체 계측기로부터 산출하였다.

### 임상검사

혈액 검사는 전날 밤부터 최소한 10시간 이상 금식한 공복 상태에서 채혈한 후, 당화혈색소, 공복 혈장 포도당, 중성지방, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤을 측정하였다. 당화혈색소, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤, 중성지방은 Histachi Modular D2400 기계 (Roche, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고, 공복혈당은 Modular Analytics SWA (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 측정하였다.

### 채혈 및 DNA 분리

채혈된 혈액의 일부는 EDTA 처리된 시험관에 넣어 냉장 보관하였다가 실험실로 운반하여 DNA를 분리하였다. DNA 분리는 "Genomic DNA isolation kit (Gentra, Maryland, USA)"를 이용하였다. 6 ml의 RBC lysis solution을 혈액 2 ml에 넣은 후 5분간 흔들어 섞어주었고, 4°C에서 3,500 rpm의 속도로 5분간 원심분리한 후, 상등액과 분리하였다. Vortex mixer로 잘 풀어준 후 Cell lysis solution 2 ml를 넣고 다시 vortex mixer로 10초간 잘 섞어준 후 10분 이상 실온에서 방치하였다. Protein precipitation 용액 0.7 ml를 넣고 충분히 vortex한 후 4°C에서 3,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 단백질을 포함한 모든 불순물을 가라앉혔다. 상등액을 조심스럽게 100% isopropyl alcohol 2 ml에 옮겨 DNA가 보일 때까지 섞었다. 2,500 rpm으로 5분 동안 원심분리한 후 상등액은 버리고, 70% ethanol로 탈수시켰다. DNA 수용액 150 µl를 넣어 2~3시간 정도 65°C에서 방치한 후 -20°C에서 보관한 후 사용하였다.

### 유전자 분석 및 유전자 다형성 검사

유전자 분석을 위해서 Applied Biosystems 7300 Real Time PCR (Applied Biosystems, California, USA)을 사용하였다. PCR 반응 조건은 T45G의 경우에는 pre-denaturation 반응을 95°C에서 10분, denaturation 반응을 95°C에서 30초, annealing 반응을 59°C에서 30초, extension 반응을 72°C에서 30초로 설정하여 35 cycle 반복해 DNA를 증폭시킨 후 마지막으로 extension 반응을 72°C에서 10분간 유지하였다. G276T의 경우에는 annealing 반응을 57°C에서 실시한 것을 제외하고 나머지 반응은 모두 같았다.

### 통계학적 분석

제2형 당뇨병 환자군과 대조군 사이의 대립형질(allele)의 빈도와 유전자형(genotype) 빈도의 차이에 대한 통계분석은 SPSS version 15.0 프로그램을 사용하였다. 변수는 평균±표준편차로 나타내었고 각각의 단일 염기 다형성이 Hardy-Weinberg 평형을 따르는지 알아보았다. 로지스틱 회귀분석을 이용하여 Odds Ratio (OR)과 신뢰구간(95% Confidence Interval: CI)을 구하였고, 연령, 성별, 허리둘레 등의 교란변수들을 보정하였다. 통계적 유의수준은 p<0.005로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 대상자의 일반적 특성 및 건강행태

본 연구에 참여한 제2형 당뇨병이 없는 대조군 100명과 제2형 당뇨병 환자군 100명의 임상적 특징은 Table 1에 나타

Table 1. Clinical data of patients and controls

Variables	Controls (n=100)	Cases (n=100)	P
Age (yr)	63.24±2.79	62.80±10.69	0.658
BMI <sup>a</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	23.51±2.89	23.78±4.75	0.633
Sex			
Male	36	63	
Female	64	37	
Total cholesterol (mmol/l)	192.21±32.88	179.48±39.75	0.014
HDL-cholesterol <sup>b</sup> (mmol/l)	46.76±11.37	42.80±8.57	0.006
LDL-cholesterol <sup>c</sup> (mmol/l)	123.52±29.27	117.31±36.13	0.184
Triglyceride (mmol/l)	109.66±48.07	137.78±64.95	0.001
Diabetes (%)	1.5	35.4	0.000
Hypertension (%)	22	48	0.043
FBS (mmol/l)	89.09±5.89	125.08±50.36	<0.001
Smoking (%)	20	54.5	0.000
HbA1C	5.31±0.31	6.78±1.70	<0.001
hsCRP <sup>d</sup>	1.55±3.13	0.75±1.72	0.027

Data are shown as means±the standard deviation.

<sup>a</sup>Body mass index.

<sup>b</sup>High density lipoprotein cholesterol.

<sup>c</sup>Low density lipoprotein cholesterol.

<sup>d</sup>High-sensitivity C-reactive protein.

내었다. 제2형 당뇨병 환자군과 대조군 대상자의 평균 연령은 각각 63.3과 63.8세로 대조군에서 유의하게 높게 나타났으며 남녀 비율은 제2형 당뇨병 환자군에서는 남성이, 대조군에서 여성이 유의하게 많았다. BMI, 중성지방은 제2형 당뇨병 환자군에서 의미 있게 높았으나, 고밀도 콜레스테롤은 대조군에서 의미 있게 높았다. 흡연상태는 제2형 당뇨병 환자군이 대조군에 비해 유의하게 많았다. 저밀도 콜레스테롤의 경우에는 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에 의미 있는 차이는 없었다.

**Adiponectin 유전자 다형성과 Type 2 Diabetes의 연관성**

전체 대상군에서 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium을 따르는 것으로 확인되었다. Adiponectin T45G의 유전자형(genotype)은 대조군 100명에서 TT 동형접합체 32%, TG 이형접합체 46%, GG 동형접합체 22%였으며, 제2형 당뇨병 환자군 100명에서 TT 동형접합체 46%, TG 이형접합체 29%, GG 동형접합체 25%였다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서 유전자형의 분포는 유의한 차이를 보였다( $p < 0.010$ ) (Table 2). 성별을 보정한 상태에서 adiponectin T45G의 유전자형(genotype)은 남자의 경우, 대조군 36명에서 TT 동형접합체 9명, TG 이형접합체 20명, GG 이형접합체는 7명이었으며, 제2형 당뇨병 환자군 63명에서 TT 동형접합체 33명, TG 이형접합체 13명, GG 동형접합체 17명이었으나, 여자의 경우는 대조군 64명에서 TT 동형접합체 23명, TG 이형접합체 26명, GG 동형접합체는 15명이었으며, 제2형 당뇨병 환자군 37명에서 TT 동형접합체 13명, TG 이형접합체 16명, GG 동형접합체는 8명이었다(Table 3). Adiponectin G276T의 유전자형(genotype)은 대조군 100명에서 GG 동형접합체 28%, GT 이형접합체 45%, TT 동형접합체 27%였으며, 제2형 당뇨병 환자군 100명에서 GG 동형접합체 21%, GT 이형접합체 55%, GG 동형접합체 24%였다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서 유전자형의 분포는 의미 있는 차이는 보이지 않았다( $p < 0.14$ ) (Table 4). 성별을 보정한 상태에서 adiponectin G276T의 유전자형(genotype)은 남자의 경우, 대조군 36명에서 GG 동형접합체 8명, GT 이형접합체 18명, TT 이형접합체는 10명이었으며, 제2형 당뇨병 환자군 63명에서 GG 동형접합체 16명, GT 이형접합체 30명, TT 동형접합체 17명이었으나, 여자의 경우는 대조군 64명에서 GG 동형접합체 20명, GT 이형접합체 27명, TT 동형접합체는 17명이었으며, 제2형 당뇨병 환자군 37명에서 GG 동형접합체 5명, GT 이형접합체 25명, TT 동형접합체는 7명이었다(Table 5). T45G 유전자 다형성이나 G276T 유전자 다형성 모두 남녀간의 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서는 남자군과 여자군에서 모두 유의한 차이를 보이지는 않았지만, 향후 지속적으로 그 수를 늘려가며 실험을 추가함으로써 이를 연구해 볼 필요가 있

Table 2. Genotype frequencies of adiponectin gene in position 45

Genotype	Controls (n=100)	Cases (n=100)	P
TT	32	46	0.010
TG	46	29	
GG	22	25	

Table 3. Comparison of males and females for genotype frequencies of adiponectin gene in position T45G

Genotype	Male		Female	
	Control (n=36)	Case (n=63)	Control (n=64)	Case (n=37)
TT	9	33	23	13
TG	20	13	26	16
GG	7	17	15	8

Table 4. Genotype frequencies of adiponectin gene in position 276

Genotype	Controls (n=100)	Cases (n=100)	P
GG	28	21	0.14
GT	45	55	
TT	27	24	

Table 5. Comparison of males and females for genotype frequencies of adiponectin gene in position 276

Genotype	Male		Female	
	Control (n=36)	Case (n=63)	Control (n=64)	Case (n=37)
GG	8	16	20	5
GT	18	30	27	25
TT	10	17	17	7

을 것이다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 각각에서 유전자형에 따른 혈압, 총 콜레스테롤, 중성지방, 체질량지수, 허리둘레, 허리엉덩이 둘레비 등의 유의한 차이는 없었다. 요약하면, adiponectin의 유전자 다형성 중 T45G의 경우에는 한국인에서의 제2형 당뇨병과 유의성을 가졌으나, G276T의 경우에는 유의적인 연관성이 없는 것으로 확인되었다. 이는 같은 동양인인 일본의 연구와 비교하였을 때 한 연구에서는 T45G의 경우에는 제2형 당뇨병과 관련이 없다고 보고된 곳도 있으나[9], 그 외의 연구에서는 T45G와 G276T가 관련이 있다고 보고되기도 하였다[4]. 또한 미국의 경우에는 유의성이 없다고 보고되기도 하고[6], 프로모터 부위의 -11377, -11391 유전자 다형성과 T45G와 G276T 유전자 다형성이 프랑스인에서는 긴밀하게 연관되어 있음이 보고된 바 있으나, 이탈리아, 일본, 한

국 등에서의 연구에서는 프로코터 부위의 이들 유전자 다형성과 관련이 입증되지 않기도 하였다[10]. 당뇨병과 같은 대사성 질환의 경우에는 여러 유전자들이 작용하는 것으로 알려져 있기 때문에 집단 별로 유전적인 차이가 발생하거나 linkage disequilibrium의 차이 등의 이유로 인종집단 간에 차이가 나는 것으로 생각되고 있다[2,3,4,5]. 따라서 앞으로 대조군의 수와 환자 수를 늘리고 adiponectin의 다른 유전자 다형성을 후보로 하여 계속 연구를 진행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

Adiponectin은 지방세포에서 분비되는 아디포카인 중의 하나로서 에너지 대사, 인슐린 저항성, 심혈관계에 조절역할을 하는 것으로 밝혀지고 있다. Adiponectin 유전자는 염색체상에서 제2형 당뇨병 감수성과 연관된 것으로 확인된 3q27 부위에 위치하는데[4], adiponectin 유전자의 일부 유전자 다형성이 adiponectin 농도, 제2형 당뇨병, 비만과 연관되어 있음이 보고된 바 있으며, 그 중 대표적인 것이 T45G와 G276T이다. 따라서 본 연구에서는 adiponectin 유전자 다형성과 제2형 당뇨병 사이에 어떠한 연관성이 한국인에서도 있는지 알아보았다. 연구 결과 T45G 유전자 다형성은 제2형 당뇨병과 유의성을 가짐을 확인하였으나, G276T의 경우에는 유의적인 연관성을 보이지 않는 것으로 확인되었다. 이는 여러 인구 집단과 비교하였을 때에 T45G 유전자 다형성의 경우에는 한국인에서 제2형 당뇨병의 marker로 사용하는 것이 가능하다고 판단된다. Adiponectin은 이미 항염증반응, 항동맥경화 작용이 있다는 것이 알려져 있을 뿐만 아니라 제2형 당뇨병과도 관련이 있다고 보고되어 있으므로 adiponectin을 증가시킴으로써 제2형 당뇨병이나 비만 등의 치료 및 예방 효과를 보일 수 있을 것으로 보고 있다. 따라서 adiponectin의 분자 수준에서의 연구를 위해서 유전자 다형성과 제2형 당뇨병과의 연관성에 대한 연구는 필수적이라 할 수 있으며, adiponectin 유전자 다형성에 관한 본 연구결과의 임상적인 의미를 확실하게 확인하기 위하여서는 향후 대상 환자 수와 대조군을 더욱 늘리고 다양한 adiponectin 유전자 다형성을 후보로 하여 추가적인 연구를 할 필요가 있을 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과임.

## References

- Ahima, R. S. and J. S. Flier. 2000. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends. Ecdocrinol. Metab.* **11**, 327-332.
- Gu, H. F., A. Abulaiti, and C. G. Ostenson. 2004. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish caucasians. *Diabetes* **53**, S31-S35.
- Hara, K., P. Boutin, Y. Mori, K. Tobe, C. Dina, K. Yasuda, T. Yamauchi, S. Otabe, T. Okada, K. Eto, H. Kadowaki, R. Hagura, Y. Akanuma, Y. Yazaki, R. Nagai, M. Taniyama, K. Matsubara, M. Yoda, Y. Nakano, M. Tomita, S. Kimura, C. Ito, P. Froguel, and T. Kadowaki. 2002. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* **51**, 536-540.
- Hu, F. B. and A. Doria. 2004. Genetic variation at the adiponectin locus and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes* **53**, 209-213.
- Menzaghi, C., T. Ercolino, R. Di Paola, A. H. Berg, J. H. Warram, P. E. Scherer, V. Trischitta, and A. Doria. 2002. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* **51**, 2306-2312.
- Saito, K., T. Tobe, S. Minoshima, S. Asakawa, J. Sumiya, M. Yoda, Y. Nakano, N. Shimizu, and M. Tomita. 1999. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene* **229**, 67-73.
- Scherer, P. E., S. Williams, M. Fogliano, G. Baldini, and H. F. Lodish. 1995. A novel serum protein similar to C1q produced exclusively in adipocyte. *J. Biol. Chem.* **270**, 6746-6749.
- Stumvoll, M., O. Tschritter, A. Fritsche, H. Staiger, W. Renn, M. Weisser, F. Machicao, and H. Haring. 2002. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* **51**, 37-41.
- Takahashi, M., Y. Arita, K. M. Yamagata, Y. Matsukawa, K. Okutomi, M. Horie, I. Shimomura, K. Hotta, H. Kuriyama, S. Kihara, T. Nakamura, S. Yamashita, T. Funahashi, and Y. Matsuzawa. 2000. Genomic structure and mutation in adipose-specific gene, adiponectin. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **24**, 861-868.
- Vasseur, F., N. Gelbecque, C. Dina, S. Lobbens, V. Delannoy, S. Gaget, P. Boutin, M. Vaxillaire, F. Lepretre, S. Dupont, K. Hara, K. Clement, B. Bihain, T. Kadowaki, and P. Froguel. 2002. 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.* **11**, 2607-2614.