

Association of Hepatocyte Nuclear Factor-4 α (HNF-4 α) Polymorphisms (rs1884614) with Type 2 Diabetes in Korean Population

Su-Won Kim and Min Yoo[†]

Department of Biology, College of Natural Sciences, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

The hepatocyte nuclear factor-4 α (HNF-4 α), transcription factor involved in the regulation of serum lipid and glucose levels, has recently been reported to be associated with type 2 diabetes. Therefore, we investigated the genotype for the rs1884614 of HNF-4 α gene in Korean population and compared genotype of patients with control group. 100 patients (Male 63, Female 37), who previously underwent type 2 diabetes (T2DM) and 100 controls (Male 36, Female 64) participated in this study. According to our present study there was no association between rs1884614 polymorphism in HNF-4 α gene and T2DM in Koreans although other reports showed that HNF-4 α polymorphisms might be associated with the pathogenesis of T2DM in Pima Indians et al. We assume that this finding should contribute to understanding of type 2 diabetes in Korean population in detail at genetic level.

Key Words: SNP, Korean population, Diabetes

전 세계적으로 서구화가 진행되면서 당뇨병 등 대사성 질환의 유병률이 급증하고 있다. 우리나라 역시 식생활 습관의 변화로 인해 이러한 대사성질환의 증가가 사회적 문제시 되고 있는데, 2005년 통계치로 보면 대사성질환으로 인한 사망률이 전체 사망률의 40%를 차지하였다. 따라서 이로 인한 개인 치료비 및 국가의료 재정의 지출 역시 엄청나게 증가하고 있는 실정이다. 인슐린저항성과 췌장 베타세포의 기능 이상으로 인한 혈당 상승이 특징인 제2형 당뇨병은 복합적인 유전적 경향을 보인다. 최근 들어 인간게놈프로젝트의 완성과 함께 이러한 대사성질환의 원인이 되는 유전자를 발견하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 분자생물학적 연구기법이 발달함에 따라 신뢰도 역시 급증하고 있는 실정이다. 당뇨병의 한 형태로 알려져 있는 "maturity-onset diabetes of the young (MODY)"는 25세 미만의 젊은 나이에 발생하여, 췌장 베타세포의 기능 장애를 일으키기에 인슐린 분비능의 장애를 초래하는 질환이다. 현재까지 6종류의 유전자 아형이 알려져 있는데, 당분해과정에 관여하는 glucokinase (GCK) 유전자 변이에 의하여 발생하는 MODY2와 췌장

β -세포 유전자의 발현을 조절하는 전사인자의 변이에 의하여 생기는 나머지 다섯 종류의 MODY (1, 3, 4, 5, 6)가 그것이다 (Tattersall et al., 1975; Fajans et al., 2001). 그 중에서도 MODY1은 20번 염색체에 위치한 hepatocyte nuclear factor (HNF)-4 α 유전자 변이에 의하는 것으로 알려져 있다 (Wang et al., 2000). HNF-4 α 는 췌장 베타세포의 발생, 분화에 중요한 역할을 하는 전사인자로서, 포도당의 이동과 대사에 작용하는 여러 단백질의 발현을 조절하고, 췌장 베타세포의 발생과 분화를 조절함으로써 인슐린 분비를 조절하는 것으로 알려져 있다. 이러한 HNF-4 α 유전자 변이가 있는 경우 포도당의 이동과 분비에 관여하는 유전자 발현이 정상적으로 이루어지지 않는다는 연구결과로 미루어 HNF-4 α 유전자가 인슐린 분비에 관여하고 있음을 짐작할 수 있다. 특히, Pima Indian의 경우에는 HNF-4 α rs1884614 유전자 다형성 (polymorphism)이 제2형 당뇨병과의 연관성이 있다고 보고되어 있다 (Muller et al., 2005). 이에 본 연구에서는 HNF-4 α 의 유전자 다형성 중에서 promoter의 -3,926 bp 염기서열인 rs1884614 유전자 다형성과 제2형 당뇨병 사이에 어떠한 연관성이 한국인에게도 존재하는지를 알아보고자 하였다.

본 연구는 대조군 100명, 제2형 당뇨병 환자군 100명을 대상으로 하였고, 성비는 전체적으로 남자 99명, 여자 101명이었다. 평균 연령은 제2형 당뇨병 환자군 62.8세,

*논문 접수: 2009년 3월 9일

수정재접수: 2009년 3월 16일

[†]교신저자: 유민, (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000,

계명대학교 자연과학대학 생물학과

Tel: +82-53-580-5537, Fax: +82-53-580-5537

e-mail: ymin@kmu.ac.kr

Table 1. Genotype frequencies of HNF-4 α gene (rs1884614) in Korean population

Genotype	Controls (n=100)	Cases (n=100)
CC	77	62
CT	21	34
TT	2	4

대조군 63.2세였다. 제2형 당뇨병 환자군은 경북대학교 병원과 동산의료원 내분비내과의 내원환자로부터 제공 받았으며, 이는 임상시험 심사위원회 (Institutional Review Board, IRB)의 기준에 맞게 환자들의 자발적인 서면 동의하에 이루어졌다. 모든 대조군과 환자군의 혈액은 전날 밤부터 금식한 공복 상태에서 채혈한 후, 당화혈색소, 공복 혈장 포도당, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤, 중성지방의 수치를 측정하였다. 한국인 만성병 역학조사 및 유전체 연구사업의 설문지를 참고한 설문지를 이용하여 현재의 병력, 과거력, 흡연력, 음주력 등을 조사하였다. 본 연구에 참여한 제2형 당뇨병이 없는 대조군 100명과 제2형 당뇨병 환자군 100명의 임상적 특징은 기존에 보고한 내용과 동일하다 (Yoo et al., 2009)에 나타내었다. BMI, 중성지방, 고밀도 콜레스테롤은 제2형 당뇨병 환자군에서 의미있게 높았으나, 저밀도 콜레스테롤의 경우에는 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에 의미있는 차이가 없었다. 흡연상태는 제2형 당뇨병 환자군이 대조군에 비해 유의하게 많았다.

채혈된 혈액으로부터 DNA isolation kit (Genra)를 이용해 genomic DNA를 분리하였다. Polymorphism을 확인하기 위해 Polymerase Chain Reaction (PCR)을 실시하였고, 기기는 Applied Biosystems 7300 Real Time PCR (Applied Biosystems)을 사용하였다. 반응 조건은 pre-denaturation을 92°C에서 10분, denaturation을 94°C에서 30초, annealing을 65°C에서 30초, extension을 72°C에서 30초로 하여 35 cycle 반복하였다. 필요할 경우에는 DNA sequencing을 병행하여 실시하였다.

실험결과, 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 각각에서 유전자형에 따른 혈압, 총 콜레스테롤, 중성지방, 체질량지수, 허리둘레, 허리엉덩이 둘레비 등의 유의한 차이는 발견되지 않았다. 또한 전체 대상군에서 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium을 따르는 것으로 확인되었다. HNF-4 α rs1884614의 유전자형 (genotype)은 대조군 100명에서 CC 동형접합체 77%, CT 이형접합체 21%, TT 동형접합체 2%였으며, 제2형 당뇨병 환자군 100명에서

Table 2. Comparison of males and females for genotype frequencies of HNF-4 α gene (rs1884614)

Genotype	Male		Female	
	Controls (n=36)	Cases (n=63)	Controls (n=64)	Cases (n=37)
CC	29	43	48	19
CT	5	18	16	16
TT	2	2	0	2

CC 동형접합체 62%, CT 이형접합체 34%, TT 동형접합체 4%였다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서 유전자형의 분포는 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1). 성별을 보정한 상태에서 HNF-4 α rs1884614의 유전자형 (genotype)은 남자의 경우, 대조군 36명에서 CC 동형접합체 29명, CT 이형접합체 5명, TT 이형접합체는 2명이었으며, 제2형 당뇨병 환자군 63명에서 CC 동형접합체 43명, CT 이형접합체 18명, TT 동형접합체 2명으로 나타났다. 여자의 경우는 대조군 64명에서 CC 동형접합체 48명, CT 이형접합체 16명이었으나, TT 동형접합체는 한명도 없었으며, 제2형 당뇨병 환자군 37명에서 CC 동형접합체 19명, CT 이형접합체 16명, TT 동형접합체가 2명이었다. 남·녀간의 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서는 남자군과 여자군 사이에서는 큰 차이를 보이지는 않았지만, 향후 지속적으로 그 수를 늘려가며 실험을 추가할 필요가 있다 (Table 2). 요약하면, HNF-4 α 의 유전자 변이인 rs1884614와 한국인에서의 제2형 당뇨병 사이에는 일단 유의적인 연관성이 없는 것으로 확인되었다. 이는 같은 동양계이면서도 유의성을 강하게 보인 Pima Indian 등과 비교할 때 한국인만의 고유한 통계적 data로서 의미가 있다고 판단된다 (Love-Gregory et al., 2004; Muller et al., 2005). 이들 보고에서는 폴란드, 독일, 러시아계 유대인들도 상당한 연관성을 보였는데, 반면에 Caucasian들은 한국인처럼 HNF-4 α 와 제2형 당뇨병과의 연관성이 없다고 보고된 바도 있어 대단히 흥미로우며 (Vaxillaire et al., 2005) 인종적 차원에서 지속적으로 연구를 확대할 필요가 있다고 본다. 현재로서는 당뇨병 같은 대사성질환의 경우 여러 유전자들이 상호 작용함으로써 발생되기 때문에 인구 집단 사이에서 이러한 유전적 차이가 생기는 것으로 해석할 수밖에 없다. 따라서 앞으로 환자 수와 대조군 수를 늘리고 다양한 유전자 다형성을 후보로 하여 계속 연구를 진행할 필요가 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술재단의 지역 혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과임.

REFERENCES

- Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, O'Connell P, Stern MP. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet.* 1999. 64: 1127-1140.
- Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N. Engl. J. Med.* 2001. 345: 971-980.
- Heman WH, Fajans SS, Smith MJ, Polonsky KS, Bell GI, Halter JB. Diminished insulin and glucagons secretory responses to arginine in nondiabetic subject with a mutation in the hepatocyte nuclear factor 4A/MODY1 gene. *Diabetes* 1997. 46: 1749-1754.
- Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, Furuta H, Hinokio Y, Cockburn BN, Lindner T, Yamagata K, Ogata M, Tomonaga O, Kuroki H, Kasahara T, Iwamoto Y, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 β gene associated with MODY3. *Nat Genet.* 1977. 17: 384-385.
- Love-Gregory LD, Wasson J, Ma J, Jin CH, Glaser B, Suarez BK, Permutt MA. A common polymorphism in the upstream promoter region of the hepatocyte nuclear factor-4 α gene on chromosome 20q is associated with type 2 diabetes and appears to contribute to the evidence for linkage in an Ashkenazi Jewish population. *Diabetes* 2004. 53: 1134-1140.
- Muller YL, Indante AM, Hanson RL, Love-Gregory L, Knowler W, Bogardus C, Baier LJ. Variants in hepatocyte nuclear factor 4 α are modestly associated with type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes* 2005. 54: 3035-3039.
- Rissanen J, Wang H, Miettinen R, Karkkainen P, Mykkanen L, Kuusisto J, Karhapaa P, Niskanen L, Uusitapa M, Laakso M. Variants in the hepatocyte nuclear factor-1 α and 4 α genes in Finnish and Chinese subjects with late-onset type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000. 23: 1533-1538.
- Stoffel M, Duncan SA. The maturity-onset diabetes of the young (MODY1) transcription factor-HNF-4 α regulates expression of genes required for glucose transport and metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997. 94: 13209-13214.
- Tattersall RB, Fajans SS. A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people. *Diabetes* 1975. 24: 44-53.
- Vaxillaire M, Dina C, Lobbens S, Dechaume A, Vasseur-Delannoy V, Helbecque N, Charpentier G, Froguel P. Effect of common polymorphisms in the HNF4 α promoter on susceptibility to type 2 diabetes in the French Caucasian population. *Diabetologia* 2005. 48: 440-444.
- Wang H, Malchler P, Antirrozzi PA, Hanenfeldt KA. HNF-4 α regulates the expression of pancreatic beta cell genes implicated in glucose metabolism and nutrient-induced insulin secretion. *J Biol Chem.* 2000. 275: 35953-35959.
- Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, Southam L, Cox RD, Lathro GM, Boriraj VV, Chen X, Cox NJ, Oda Y, Yano H, Le Beau MM, Yamada S, Nishigori H, Takeda J, Fajans SS, Hattersley AT, Iwasaki N, Hansen T, Pedersen O, Polonsky KS, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature* 1996. 384: 455-458.
- Yokoi N, Kanmori M, Horikawa Y, Takeda J, Sanke T, Furuta H, Nanjo K, Mori H, Kasuga M, Hara K, Kadowaki T, Tanizawa Y, Oka Y, Iwami Y, Ohgawara H, Yamada Y, Seino Y, Yano H, Cos NJ, Seino S. Association studies of variants in the genes involved in pancreatic β -cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. *Diabetes* 2006. 55: 2379-2386.
- Yoo M, Kim SW. Association of hepatocyte nuclear factor-4 α polymorphisms with type 2 diabetes in Koreans. *J Life Sci.* 2009. (in press)
- Zhu Q, Yamagata K, Miura A, Shihara N, Horikawa Y, Takeda J, Miyagawa J, Matsuzawa Y. T3011 mutation in HNF-4 α gene is a loss-of-function mutation in hepatocyte and is association with late-onset type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia* 2003. 46: 567-573.