

Human Paraoxonase 1(PON1)의 유전자 다형성에 따른 중풍환자의 습담 변증과의 상관성 연구

임지혜, 고미미, 이정섭, 방옥선, 차민호
한국한의학연구원 뇌질환연구센터

Genetic Association of SNPs Located at PON1 Gene with Dampness and Phlegm Pattern Identification among Korean Stroke Patients

Ji-hye Lim, Mi-mi Ko, Jung-sup Lee, Ok-sun Bang, Min-ho Cha
Brain Disease Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine

ABSTRACT

Objective : In the present study, we investigated genetic distribution of eight single nucleotide polymorphisms of PON1 between Dampness and Phlegm and non Dampness and Phlegm pattern identification(PI) among Korean stroke patients.

Materials and Methods : One hundred forty stroke subject without Dampness and Phlegm and fifty eight stroke subjects with Dampness and Phlegm were participated in this study. After informed consents, eight single nucleotide polymorphisms(SNPs) in PON1 of each subjects were identified by DNA sequencing and primer extension method and statistical analysis was performed to determine the significant difference between Dampness and Phlegm and non Dampness and Phlegm groups.

Results : Among anthropometric characteristics and blood parameters, waist circumference and total cholesterol were significantly higher in Dampness and Phlegm. Among 8 SNPs of PON1, frequency of M allele and subjects with M allele in L55M SNP were significantly higher in Dampness and Phlegm group ($p=0.0032$ and $p=0.0053$, respectively) but subjects with T allele in C-2033T SNP were lower in Dampness and Phlegm group($p=0.0302$). Effect of L55M and C-2033T on Dampness and Phlegm were 3.07% and 1.75%, respectively.

Conclusion : Our results suggest that L55M SNP in exon and C-2033T in promoter region of PON1 maybe affect to Dampness and Phlegm pattern identification. However, further study should be carried out to find out the detailed mechanism how L55M and C-2033T can affect Dampness and Phlegm stroke patients.

Key words : Dampness and Phlegm, Pattern identification, Paraoxonase 1, L55M, Stroke

1. 서 론

중풍(뇌졸중, stroke)은 뇌혈관의 순환장애로 국소적인 신경학적 결손을 나타내는 뇌혈관성 단일

질환으로 국민건강 국내 사망률 1위이며 급속한 노령화 사회로 접어들며 심각하게 관리가 필요한 질병이다¹.

한의학에서 중풍 환자의 치료에 있어서 환자의 증상별 차이에 따라 변증(pattern Identification)을 분별한 후 이에 따라 개인별로 다른 치료법을 선택한다. 한의학에서 중풍의 치료는 4가지 진찰방법 보고, 묻고, 듣고, 진맥을 하는 방법)을 통하여 환자의

· 교신저자: 차민호 대전시 유성구 전민동 엑스포로 483
한국한의학연구원 뇌질환연구센터
TEL: 042-868-9566 FAX: 042-868-9370
E-mail: mhchamin@kiom.re.kr

증상/징후를 얻고 이를 종합하여 환자의 불균형상태를 파악하는데 이를 변증(Pattern identification, PI)이라고 한다. 그러나, 변증과정은 한의사마다 조금씩 달라 이에 대한 표준화가 요구됨에 따라 2006년에 전국 11개 한의과 대학의 심계내과 전문가들로 구성된 '한의중풍진단 표준화위원회'에서 한의중풍변증 표준안을 제시하여 중풍의 변증아형을 화열증, 음허증, 기허증, 습담증, 어혈증으로 분류하고 각각의 임상지표를 도출하였다². 이 중 습담증(濕痰, Dampness and Phlegm)은 다양한 기전(감정의 부조화, 정기의 손상, 음식의 부절제, 외부사기의 침범)으로 체내의 기혈순환을 막아서 생긴 병적인 산물로 인하여 중풍이 유발되는 경우 나타나는 변증으로 이러한 병리적 산물은 인체 내에서 두통, 백태치훈, 현훈, 오심구토 등의 증상을 나타낸다³. 변증아형의 분류는 일반적으로 환자 개개인이 접한 환경적 요인과 숙주의 요인에 따라 각각 다른 형태를 띠지만 유전자 변이를 포함한 선천적 요인에 의해서도 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Ouyang 등은 중국인 관상동맥환자 200명을 대상으로 담증(痰證), 어혈증(瘀血證), 담어혈증(痰瘀血證) 및 비습담-비어혈증의 4가지 변증 유형으로 분류한 후, ApoE의 epsilon 4 변이의 분포를 조사한 결과, 담증에서 ε4 변이 및 E3/4 유전자형이 어혈증보다 증가하는 것을 보고하였고 An 등은 폐경기성 골다공증 여성 환자들을 대상으로 Estrogen receptor 내 유전자 변이를 변증별로 조사한 결과, 신음허양항(腎陰虛兩恒)증이 유전자 변이와 연관성이 있음을 확인하였다⁵⁻⁶. 이 외 정상인을 중의학변증에 따라 7개 유형으로 분류한 후 human leukocyte antigen(HLA)의 변이와의 상관성을 확인한 결과에서도 DQB1*03032 변이에 있어서는 기허증이, DRB1*09012 변이는 습담군에서 뚜렷하게 차이가 나타남을 보고하였다. 이처럼 중국에서는 다소 보고되어 있지만 현재 한국에서의 유전자 변이에 관련한 변증유형 분포의 상관성 연구결과가 거의 이루어져 있지 않은 상황이다⁷.

Paraoxonase 1(PON1) 유전자는 7번 염색체의 q21.3에 위치하며, PON2, PON3와 연결하여 PON family 연관군을 형성하고 있다. 고밀도 지질단백(HDL)의 아포지방단백 A1(Apolipoprotein A1: ApoA1)과 연관되어 존재하며, 체내에서 산소유리기 제거제(scavenger)로도 작용하는 것으로 알려진 PON1에 대하여 여러 유전자 변이가 보고되었고, 또한 이들 유전자 변이가 관상동맥질환(Coronary Artery Stenosis), 심장성 질환(Corony heart disease, CHD)이나 허혈성 중풍(ischemic stroke) 등의 여러 질환과 관련이 있다는 연구가 보고되고 있다⁸. 특히, 아미노산 변화를 유발하는 Q192R 유전자 변이의 경우 R형이 Q형에 비해 산화된 지질을 더 효율적으로 대사함으로 지질의 과산화에 영향을 주어 관상동맥 경련 및 협착증 등의 심혈관 질환의 위험을 높이는 것이 보고되었으며, L55M 변이는 L형이 M형에 비해 HDL 콜레스테롤과 ApoA1의 농도가 더 높아 위험을 낮추는 요인으로 작용하는 것이 알려져 있다⁹⁻¹⁰. 또한 PON1 프로모터 지역에 위치한 C-108와 G-909, G-162 변이는 SP1 transcription factor binding site로 PON 1의 전사율을 변화시키는 것으로 보고되었다¹¹. 이처럼 PON1은 지질대사의 작용에 중요한 역할을 함으로써 변이로 인한 대사이상으로 발생할 수 있는 비만, 관상질환 등과 밀접한 관련이 있기에²⁶ 본 연구에서는 한국인의 허혈성 중풍 환자를 대상으로 하여 PON1 유전자의 프로모터 지역 및 엑손지역에 존재하는 8개의 유전자 변이와 습담증에서의 분포를 확인하고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 연구대상자

경원대 인천한방병원, 경희대 한방병원, 대전대 한방병원, 동국대 한방병원, 동신대 한방병원, 원광대 한방병원 등 총 10개 병원에 2006년 12월부터 2007년 6월까지 입원한 중풍환자 중 발병일로부터

1개월 이내의 환자를 대상으로 하였으며, 본 연구는 한국한의학연구원 기관생명 윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다. 연구대상자들의 중풍 위험요인에 대한 정보(흡연, 음주, 가족력, 합병증 등)는 임상증례기록지(case report form : CRF)를 이용하여 조사하였다.

2. 변증진단

전체 중풍환자 274명을 대상으로 변증과 관련된 64개의 증상/징후가 포함된 CRF를 작성하고 이를 바탕으로 변증진단을 실시하였다. 변증진단은 3년 이상의 중풍전문가 2인이 독립적으로 실시하였으며, 두 명의 진단이 모두 습담증으로 일치한 경우 습담증 환자로 기준을 삼아 연구를 진행하였다. 전문가 2인의 변증이 일치하지 않은 환자 및 5개 유형 이외의 변증으로 진단된 환자 76명을 제외한 198명을 연구대상으로 하였으며, 이중 습담증 환자는 58명이었으며, 비습담증 환자는 140명이었다.

3. 유전자형 분석

연구대상자의 동의하에 혈액을 채혈하였으며, genomic DNA는 Genomic DNA extraction kit (GeneAll, Seoul, Korea)을 이용하여 제조사의 지침에 따라 추출하였다. 연구대상자의 PON1 유전자에 대한 유전자형 분석은 ABI PRISM SnaPshot™ Multiplex Kit(Foster City, CA, U.S.A)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 수행하였으며, 각 유전자

형 결정에 사용된 primer의 정보는 [Table 1]에 표시하였다. 또한 검사대상자 중 무작위로 5%를 대상으로 유전자 변이 지역에 대한 염기서열 분석은 Sequencing reaction clean up kit(Norgen Biotech corp, Canada)을 이용하여 수행하여 정확성을 확인하였다. 유전자 변이의 빈도에 대한 유전자 평형 조사 Hardy-Weinberg Equilibrium: HWE)는 χ^2 tests를 수행하여 확인하였으며, 이들 간의 연관관계를 알아보기 위한 Linkage disequilibrium(LD)분석은 HapAnalyzer software(ver. 1.0.1, available from <http://hap.ngri.go.kr/>)를 사용하였다²¹.

4. 통계분석

모든 연속변수는 Kolmogorov-Smirnov normality test를 시행하여 정규분포를 확인하였으며, 그 결과에 따라 정규분포를 따르는 경우는 T-test를 시행, 정규분포를 따르지 않는 경우는 wilcoxon test를 수행하였다. 다변량 분석에는 Logistic regression analysis를 시행하여 교차비 crude odds ratio: cOR)를, 성별과 연령을 보정한 교차비(adjusted odds ratio: aOR)를 분석한 후 95% 신뢰구간을 구하여 비교분석하였다. 이외 범주형 변수는 Chi-square test를 사용하여 분석하였다. 모든 통계값은 P<0.05 수준에서 유의성을 판별하였으며 본 연구의 통계 처리는 SAS software version 9.1.3(SAS Institute Inc, NC)을 이용하여 분석하였다.

Table 1. Primer sets used in amplification and genotyping of eight SNPs located at PON1 promoter and exon region

SNP		Sequences
C-2033T	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-TGGGTCAGGAATTCAGGCATGG-3' (R)
C-1434G	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-GATCATCATTCCCCCTCTTTTC-3' (F)
G-1266A	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-CATTTCTGCTTCCTTGGTGCC-3' (F)
T-1076C	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-CATGCTTTACTTATCACCTTTAG-3' (R)
G-909C	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-CAGCAGACAGCAGAGAAGAGA-3' (F)
G-832A	PCR	5'-CAGAAGTTAGGGGATGTCATTT-3' (F) 5'-AAACATTTATGAAACCCCCGC-3' (R)
	Genotyping	5'-GTGAGA ACTTCTCTGACTGCT-3' (F)
L55M	PCR	5'-GAGGAAAAAGCTCTAGTCCAT-3' (F) 5'-AATATGCATAGAACACGCATG-3' (R)
	Genotyping	5'-GTCCATTAGGCAGTATCTCCA-3' (F)
Q192R	PCR	5'-TCTAAGGATTGTATCGGCAGG-3' (F) 5'-TCACCCCCTGAAAAATTAAGAC-3' (R)
	Genotyping	5'-CTATTTTCTTGACCCCTACTTAC-3' (F)

III. 결 과

1. 습담증 및 비습담증의 임상적 특성비교

습담증 환자 58명과 140명의 비습담증 환자의 일반적인 임상적 특성을 비교하였다[Table 2]. 습담증 환자의 남성 비율이 48.3%로 비습담증 환자의 53.1%에 비해 약간 적었으나 유의적인 차이는 없었으며, 평균연령 또한 68.5세, 비습담증 환자의 평균연령 68세와 유사하였다. 이 두 변증 간의 신

체적 차이를 조사한 결과에서는 습담증 환자의 허리둘레가 89.34cm로 비습담증 환자의 85.57cm에 비해 유의적으로 증가하였으며($p=0.044$), 혈장 내 생화학적 지표들의 조사결과에서는 습담증 환자의 총콜레스테롤이 199.41mg/dL로 비습담증 환자의 186.01mg/dL에 비해 높은 경향성을 나타내었다($p=0.0501$). 이외의 BMI, WHR, 혈중 중성지방의 수치가 습담증에서 약간 증가하였으나 유의적인 차이를 확인할 수 없었다.

Table 2. General characteristics of Dampness & Phlegm and Non Dampness & Phlegm

Characteristic	Non Dampness & Phlegm (N = 140)	Dampness & Phlegm (N = 58)	P
Sex(M/F)	75/65	28/30	0.4973
Age	68(60, 75)	69(60, 73)	0.7582
Subtype. (ICH/SAH/CI)	20/120/0	11/46/1	0.2031
TOAST classification (LAA/CE/SVO/SOE/SUE)	20/3/88/6/2	5/1/37/0/2	0.368
Weight(kg)	61.39±10.81	63.25±10.37	0.3536
BMI(kg/m ²)	23.55±2.84	24.33±3.22	0.1849
Waist(cm)	85.57±8.23	89.34±9.14	0.0439
Hip(cm)	92.5(85.0, 96.0)	93.27±6.45	0.1122
WHR	0.94±0.07	0.96±0.05	0.1639
Smoking(Yes/No)	103/37	40/18	0.5102
Drinking(Yes/No)	94/46	35/23	0.3609
GOT(U/ml)	22.4(19.0, 28.0)	22.0(17.0, 26.0)	0.235
GPT(U/ml)	20.0(14.0, 30.0)	18.0(13.0, 26.7)	0.3138
T-Chol(mg/dL)	186.01±44.73	199.41±42.60	0.0501
Trig(mg/dL)	143.5(100.6, 219.5)	174.08±91.86	0.5267
HDL(mg/dL)	42.52±10.74	40.65(34.0, 47.8)	0.7169
Ldl_C(mg/dL)	113.72±38.13	122.15±41.14	0.2185
FBS(mg/dL)	118.0(100.0, 155.0)	112.0(98.0, 128.0)	0.7354
BUN	14.2(12.1, 19.5)	14.80±5.35	0.3168
Cr	0.9(0.7, 1.0)	1.0(0.7, 1.1)	0.7149

All results except age, subtype of stroke, TOAST classification, smoking, drinking are expressed as mean±SD for parametric variables or as median(interquartile range) for non-parametric variables. p-values with statistical significance were presented in bold.

2. PON 1 유전자 8개 SNPs의 유전자지도 및 minor allele frequency 분포

연구대상자의 PON1 유전자 내 8개 SNP들에 대한 유전자형을 분석하였다. 6개의 SNP는 PON1의 프로모터 지역에 위치하였으며, 2개는 각각 exon3 및 exon 5에 위치하였다. 이들 SNP들에 대한 유전

자 내 위치는 Fig. 1A에 표기하였으며, 각 SNP들에 대한 특징은 Table 2에 표시하였다[Fig. 1A, Table 3]. 이 SNP들의 연관성(linkage distribution)을 조사한 결과, r2값이 0.00-0.67이었으며, C-1434G와 G-909C 간에만 약간의 연관성을 보인 반면, 나머지 SNP들 간의 연관성은 확인되지 않았다[Fig. 1B].

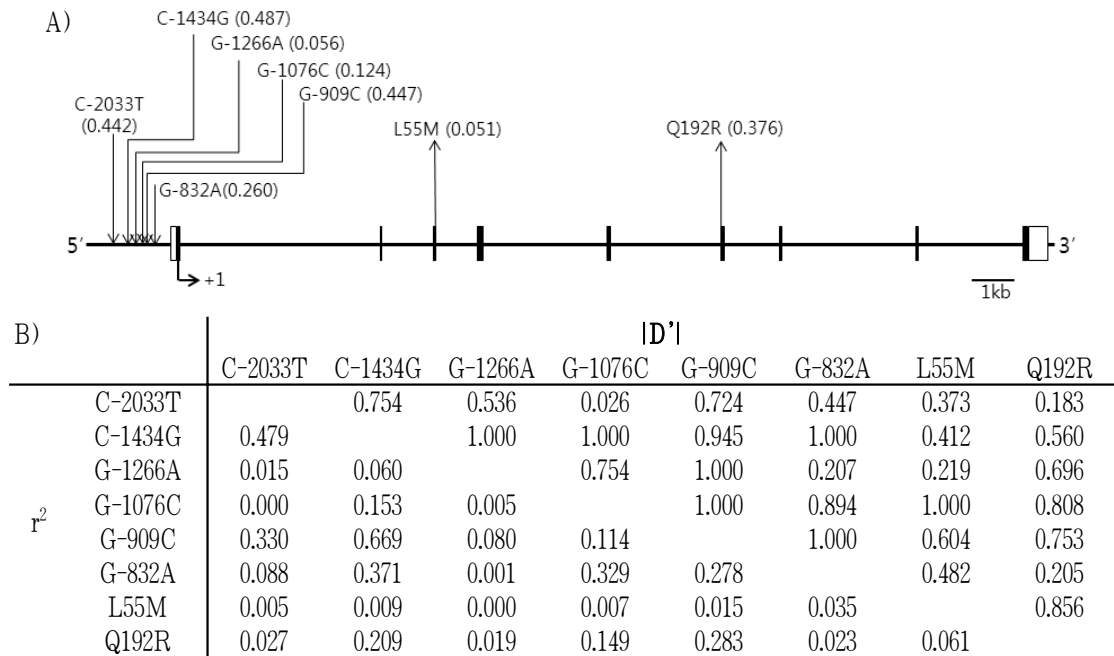


Fig. 1. Polymorphism in PON1.

A) Location of SNPs. Minor allele frequencies was shown in parenthesis. +1 indicates translational initial site. Open box and closed box represent non translated region and translated region, respectively. B) Linkage coefficient of eight SNPs

Table 3. Characteristics of SNPs identified by genomic sequencing of the promoter, exon of PON1 in 198 subjects

SNP	Position	Location relative to transcription start site	Nucleotide change	Location relative to p terminus of chromosome	Genotype distribution(N)			Minor allele frequency	HWE P
					CC	CR	RR		
rs13236941	Promoter	-2033	C>T	94955820	71	79	48	0.442	0.0072
rs705382	Promoter	-1434	C>G	94955221	47	109	42	0.487	0.1527
rs76283227	Promoter	-1266	G>A	94955053	176	22	-	0.056	0.9999
rs854573	Promoter	-1076	T>C	94954863	152	43	3	0.124	1.0001
rs854572	Promoter	-909	G>C	94954696	53	113	32	0.447	0.0298
rs854571	Promoter	-832	G>A	94954619	96	101	1	0.26	0.0001
rs854560	Exon 3	162	T>A	94946084	179	18	1	0.051	0.4118
rs662	Exon 6	573	G>A	94937446	74	99	25	0.376	0.3587

CC major homotype, CR hetero type, RR minor homotype

3. 습담증 유무에 따른 PON1 유전자 8개 SNPs의 유전형 분포 및 대립형질 빈도의 차이

중풍환자를 습담군과 비습담증 군으로 구분한 후, 8개 SNP들의 분포를 조사하였다[Table 4]. 엑손 3에 존재하는 L55M 변이의 변증 간 분포를 조사한 결과, 습담증의 M allele의 빈도가 10.34%로 비습담증의 2.86%에 비해 유의적으로 증가하였으며[p=0.0032, OR=0.248(0.098-0.527)], M allele를 가진 환자의 분포를 dominant model에서 비교한 결과에서도 습담증이 18.97%로 비습담증에서의 5.71%에 비해 유의적으로 증가하였다[p=0.0053, OR=3.023(1.512-10.701)][Table 5]. 반면 프로모터 지역에 존재하는 C-2033T 변이의 경우, T allele의 빈도가 습담증에서 33.62%로 비습담증의 48.57%에

비해 유의적으로 감소하였으며 [p=0.0075, OR=0.540(0.344-0.848)], recessive model에서 TT형을 가진 환자의 분포가 습담증에서 13.79%로 비습담증의 28.57%에 비해 유의적으로 감소하였다 [p=0.0302, OR=0.398(0.173-0.916)]. 이들 변이 이외의 다른 변이에서는 유의적인 차이를 확인할 수 없었다[Table 4, Table 5].

L55M 변이와 C-2033T 변이가 습담증에 미치는 영향을 알아보기 위하여 변화요인(source of variation)에 대한 분산분석을 수행한 결과, 성별과 나이에 비존적으로 L55M의 M allele의 효과가 3.07% (p=0.003)였으며, C(-2033)T 변이의 TT형의 효과가 1.75% (p=0.027)으로 성별 및 연령의 효과보다 높음을 확인할 수 있었다[Table 6].

Table 4. Allele distribution of PON1 polymorphism of Dampness & Phlegm and Non Dampness & Phlegm

Allele		Non Dampness & Phlegm	Dampness & Phlegm	cOR (95% CI)	P	aOR (95% CI)	P
C-2033T	C	144 (51.43)	77 (66.38)	0.536	0.0068	0.540	0.0075
	T	136 (48.57)	39 (33.62)	(0.342-0.842)		(0.344-0.848)	
C-1434G	C	141 (50.36)	62 (53.45)	0.883	0.5755	0.893	0.6113
	G	139 (49.64)	54 (46.55)	(0.573-1.363)		(0.578-1.380)	
G-1266A	G	265 (94.64)	109 (93.97)	1.135	0.789	1.160	0.7532
	A	15 (5.36)	7 (6.03)	(0.4500-2.857)		(0.459-2.933)	
T-1076C	T	247 (88.21)	100 (86.21)	1.198	0.5812	1.193	0.5918
	C	33 (11.79)	16 (13.79)	(0.001-2.273)		(0.626-2.273)	
G-909C	G	157 (56.07)	62 (53.45)	1.111	0.6328	1.103	0.6618
	C	123 (43.93)	54 (46.55)	(0.720-1.715)		(0.713-1.704)	
G-832A	G	211 (75.36)	82 (70.69)	1.267	0.3358	1.277	0.3226
	A	69 (24.64)	34 (29.31)	(0.782-2.058)		(0.787-2.075)	
L55M	T	272 (97.14)	104 (89.66)	3.922	0.0037	4.032	0.0032
	A	8 (2.86)	12 (10.34)	(1.560-9.901)		(1.595-10.204)	
Q192R	G	176 (62.86)	45 (38.79)	1.073	0.7577	1.075	0.7494
	A	104 (37.14)	71 (61.21)	(0.687-1.675)		(0.688-1.681)	

Data are presented as frequencies(percentages). cOR means crude odds ratio and aOR means adjust odds ratio adjusted by sex, age. p-values with statistical significance were presented in bold(<0.05).

Table 5. Genotype distribution of PON1 polymorphism of Dampness & Phlegm and Non Dampness & Phlegm

Model	SNPs	Geno type	Non Dampness & Phlegm	Dampness & Phlegm	OR (95% CI)*	P	aOR (95% CI)	P
*Do	C-2033T	CC	44(31.43)	27(46.55)	0.526	0.0448	0.534 (0.284-1.002)	0.0507
		CT +TT	96(68.57)	31(53.45)	(0.281-0.985)			
	C-1434G	CC	32(22.86)	15(25.86)	0.849	0.6513	0.872 (0.427-1.784)	0.7085
		CG +GG	108(77.14)	43(74.14)	(0.418-1.724)			
	G-1266A	GG	125(89.29)	51(87.93)	1.144	0.7826	1.172 (0.450-3.055)	0.7457
		GA +AA	15(10.71)	7(12.07)	(0.44-2.971)			
	T-1076C	TT	108(77.14)	44(75.86)	1.074	0.8460	1.067 (0.516-2.207)	0.8614
		CT +CC	32(22.86)	14(24.14)	(0.523-2.205)			
	G-909C	GG	39(27.86)	14(24.14)	1.214	0.5909	1.229 (0.604-2.498)	0.5695
		GC +CC	101(72.14)	44(75.86)	(0.599-2.458)			
	G-832A	GG	72(51.43)	24(41.38)	1.500	0.1991	1.517 (0.815-2.824)	0.1891
		GA +AA	68(48.57)	34(58.62)	(0.808-2.785)			
L55M	TT	132(94.29)	47(81.03)	3.862	0.0063	3.023 (1.512-10.701)	0.0053	
	TA +AA	8(5.71)	11(18.97)	(1.464-10.183)				
Q192R	GG	53(37.86)	21(36.21)	0.073	0.8271	1.083 (0.573-2.048)	0.8052	
	GA +AA	87(62.14)	37(63.79)	(0.569-2.026)				
C-2033T	CC+CT	100(71.43)	50(86.21)	0.400	0.0308	0.398 (0.173-0.916)	0.0302	
	TT	40(28.57)	8(13.79)	(0.174-0.919)				
C-1434G	CC+CG	109(77.86)	47(81.03)	0.823	0.6190	0.825 (0.382-1.782)	0.6243	
	GG	31(22.14)	11(18.97)	(0.382-1.774)				
G-1266A	GG+GA	140(100)	58(100)	ND	ND	ND	ND	
	AA	0(0)	0(0)					
T-1076C	TT+CT	139(99.29)	56 96.55	4.964	0.1945	5.046 (0.445-5.232)	0.1914	
	CC	1(0.71)	2(3.45)	(0.441-5.849)				
G-909C	GG+GC	118(84.29)	48(82.76)	1.117	0.7906	1.066 (0.465-2.447)	0.8795	
	CC	22(15.71)	10(17.24)	(0.492-2.535)				
G-832A	GG+GA	139(99.29)	58(100)	ND	ND	ND	ND	
	AA	1(0.71)	0(0)					
L55M	TT+TA	140(100)	57(98.28)	ND	ND	ND	ND	
	AA	0(0)	1(1.72)					
Q192R	GG+GA	123(87.86)	50(86.21)	1.158	0.7505	1.151 (0.461-2.873)	0.7632	
	AA	17(12.14)	8(13.79)	(0.470-2.854)				

Data are presented as frequencies(percentages). cOR means crude odds ratio and aOR means adjust odds ratio adjusted by sex, age. p-values with statistical significance were presented in bold(<0.05).

Table 6. Source of validation Dampness & Phlegm and Non Dampness & Phlegm

parameter	% ratio	p
Sex	0.32%	0.336
Age	0.06%	0.683
L55M	3.07%	0.003
C-2033T	1.75%	0.027

Source of validation is calculated by general linear model and p-values with statistical significance were presented in bold(<0.05).

IV. 고찰

본 연구에서는 중풍의 변증 유형 중 고지혈증 및 비만과 밀접한 연관성이 있는 습담증과 PON 1 내 유전자 변이간의 상관성을 조사하였다. 습담증 환자와 비습담증 환자에서 PON 1 유전자 변이의 분포를 비교한 결과, PON1의 아미노산 서열을 변화시키는 L55M 변이의 M allele의 빈도가 습담증에서 유의하게 높게 나타난 반면, PON1의 프로모터지역에 존재하는 C-2033T 변이는 습담증에서 낮게 나타났다[Table 5]. 이미 PON1의 L55M 변이와 고지혈증, 혈중 지질 및 중풍에 대해서는 많은 연구가 보고되어 있다^{15-16,22,24-25}. Roest 등은 고지혈증 환자의 가족력을 조사한 연구에서도 L55M, T-107C, G-162A, G-824A, C-907G 등의 유전자변이가 paraoxonase 활성을 변화시켜 죽상동맥경화증(atherosclerosis)을 증가시킨다는 결과를 발표하였으며²⁵, L55M 변이가 심혈관계 질환(cardiovascular disease, CVD)의 위험 증가요인인 혈장 내 arylesterase activity, lipid peroxidation(LPO)과 LDL-C, HDL-C, Total cholesterol(TC), oxidized-LDL(ox-LDL) 농도변화에 영향을 미치는 것도 알려져 있다²⁴. 그 밖에 Kim 등은 중풍환자를 대상으로 한 결과에서 PON1 프로모터 조절부위의 유전자 변이로 인한 활성변화가 혈중 HDL 콜레스테롤 및 총콜레스테롤 변화에 밀접히 연관되어 있다는 것을 보고하였고¹⁵, Koncsos 등은 유아기비만 환자를 대상으로

한 결과에서 낮은 PON1의 활성과 acylesterase, leptin, adiponectin 등의 지단백질들이 성인동맥경화증으로 유도가 가능한 중요한 마커로서의 활용 가능성을 확인하였다^{16,22}. 이처럼 PON1의 유전적 변이가 효소의 활성 및 반응기질에서의 변화에 관련이 있다고는 많이 알려져 있지만 중풍을 비롯한 관상동맥질환에서의 구체적인 작용기전에 대한 연구는 아직 미흡한 상황이다.

PON1 유전자 변이 및 활성변화는 혈중 콜레스테롤 변화(증가)와 관련된 지질대사 이상현상을 초래할 수 있다. 본 연구대상자에서도 M allele의 빈도가 높은 습담증 환자에서 혈중 T-cholesterol 수치가 비습담증 환자에 비해 증가하는 경향성을 보였으며, 또한 지질대사와 관련된 비만 지표인 허리둘레 또한 유의하게 증가하는 것을 확인하였다 [Table 2]. 또한 이전 연구에서도 중풍환자 중 많은 사람들이 고혈압이나 고지혈증을 선행질환으로 보유하고 있으며, 이러한 사람들이 대부분 습담형 중풍 환자인 경우가 많은 것이 보고되고 있다¹²⁻¹³.

습담증은 여러 가지 원인에 의해 정상적인 체액의 순환에 장애가 생겨 이로 인해 정체된 체액은 우리 몸에서 병리적인 파생물질로 전화하여 다시 신체 각 부위의 기혈소통을 방해한다. 중풍의 병리에서 원인이자 결과가 된다. 특히 습담증의 조성환경과 관련하여 현대인의 과음, 과식 등의 음식실조, 운동부족으로 인한 원활한 기혈전액의 순환실조가 이상지질혈증, 동맥경화, 비만 등의 결과로 나타나는 것으로 일반적으로 알려져 있고 한의학 관련 선행연구에서는 대사증후군, 비만 등이 습담증에서 높게 나타나는 것으로 알려져 있다¹⁴.

결론적으로 중풍환자에서 한의학적 변증 중 하나인 습담증이 지질 대사 및 산화스트레스와 관련된 PON1의 유전자 변이와 밀접한 연관성이 있음을 확인하였고, 따라서 변증이 식이 등의 노출된 환경적 요인뿐 아니라 유전자 변이와 같은 선천적 요인인과도 밀접한 연관성이 있음을 보여주고 있다. 그러나 본 연구결과는 몇 가지 한계점을 가지

고 있다. 첫째는 변증진단의 황금기준에 관한 문제이다. 본 연구에서는 충분한 임상경험이 있는 전문가 2인의 진단일치에 의해 변증형을 확정하였으나, 실제 전체 274명 중 76명은 전문가 간에 변증이 일치하지 않았다. 이러한 점은 많은 연구에서도 계속 지적되는 한계점으로 현재 한의계에서 진행되는 변증의 객관화, 표준화 연구의 성과가 발표됨으로써 지속적으로 개선될 것을 보인다. 둘째로는 PON1 유전자 변이와 습담증 간의 상관성을 일반화하기에는 대상 환자의 수가 적다는 것이다. 따라서 일반화를 위해 더 많은 변증 진단 환자를 대상으로 한 재현성 연구가 필요한 실정이다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 K09200의 지원을 받아 수행하였다.

This research was supported by a grant from the Korea Institute of Oriental Medicine (K09200)

참고문헌

1. 사망원인 통계연보, 통계청, 2004.
2. 전국한의과대학 심계내과학교실, 心系內科學, 서울: 군자출판사; 2006, p. 331-42, 393-408.
3. 정완우, 이원철. 중풍의 담인설에 대한 고찰. 동국대학교 한의학연구소논문집. 1999;8(1):133-44.
4. 조현경, 김중길, 강병갑, 유병찬, 백경민, 이인 등. 한국형중풍변증 표준시안의 습담변증 지표에 대한 연구. 대한한방내과학회지. 2006;27(1):237-52.
5. Ouyang T, Song JN, Miao Y, Lin Q, Niu XH, Jin H, Chen B. Study on relationship between polymorphism of apolipoprotein E gene and syndromes of phlegm and blood stasis in patients with coronary heart disease. Zhong Xi

- Yi Jie He Xue Bao. 2005 Nov;3(6):438-42.
6. An S, Li E, Tong X. Study on relationship between estrogen receptor gene polymorphism and syndrome differentiation typing of female postmenopausal osteoporosis in Traditional Chinese medicine. 2000 Dec;20(12):907-10.
7. Chen S, Lv F, Gao J, Lin J, Liu Z, Fu Y et al. HLA class II polymorphisms associated with the physiologic characteristics defined by Traditional Chinese Medicine: linking modern genetics with an ancient medicine. J Altern Complement Med. 2007 Mar;13(2):231-9.
8. 최태윤, 이유경, 김원배, 이동화, 현민수, 서세웅 등. 관동맥심질환 환자에서의 paraoxonase 2형의 유전자형 빈도에 대한 연구, 대한임상병리학회지, 1999;19(4):420-4.
9. Schmidt H, Schmidt R, Niederkorn K, Gradert A, Schumacher M, Watzinger N et al. Paraoxonase PON1 polymorphism leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. Stroke 1998;29:2043-8.
10. Voetsch B, Benke KS, Damasceno BP, Siqueira LH, Loscalzo J. Paraoxonase 192 Gln→Arg polymorphism: an independent risk factor for nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. Stroke. 2002;33:1459-64.
11. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JQ. Genetic variations of the paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. Clin Biochem. 2001; 34:475-81.
12. 강병갑, 고희연, 강경원, 박세욱, 김정철, 고미미 등. 중풍환자의 습담변증 진단지표에 관한 연구. 한국한의학연구원논문집. 2007;13(2):53-8.
13. 김소연, 이정섭, 강병갑, 고미미, 김정철, 방옥선. 중풍 환자에서 비수, 비만지표, 변증간 연관성에 대한 고찰, 대한한방내과학회지. 2009; 30(3):550-7.

14. 민인규, 김창현, 황재웅, 박주영, 이승엽, 최원우 등. 중풍(中風)환자의 습담변증(濕痰辨證) 대사 증후군과의 관련성 연구. 대한한의학회지. 2009 :30(1):109-19.
15. Kim NS, Kang K, Cha MH, Kang BJ, Moon JS, Kang BK. Decreased paraoxonase-1 activity is a risk factor for ischemic stroke in Koreans. *Biochem Biophys Res Community*. 2007;364 :157-62.
16. Koncsos P, Seres I, Harangi M, Illyés I, Józsa L, Gönczi F et al. Human Paraoxonase-1 Activity in Childhood Obesity and Its Relation to Leptin and Adiponectin Levels. *Clinical Investigation*. 2010;67(3):309-13.
17. Li C, Gu Q. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1995;96: 2882-91.
18. 성은주, 유전자분석을 위한 심혈관계 질환의 영양 치료, 대한임상건강증진학회. 2004:105-10.
19. James RW, Leviev I, Ruiz J, Passa P, Froguel P, Garin MC. Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2000;49:1390-3.
20. Kalkan Ucar S, Coker M, Sözmen E, Goksen Simsek D, Darcan S. An association among iron, copper, zinc, and selenium, and antioxidative status in dyslipidemic pediatric patients with glycogen storage disease types IA and III. *J Trace Elem Med Biol*. 2010 Jan;24(1):42-5.
21. Jung HY, Park JS, Park YJ, Kim YJ, Kimm K, Koh IS. (2004) HapAnalyzer: Minimum Haplotype Analysis System for Association Studies. *Genomics & Informatics*. 2004;2(2) :107-9.
22. Aydin M, Gencer M, Cetinkaya Y, Ozkok E, Ozbek Z, Kilic G et al. PON1 55/192 polymorphism, oxidative stress, type, prognosis and severity of stroke. *IUBMB Life*. 2006;58(3):165-72.
23. Mackinnon ES, El-Sohemy A, Rao AV, Rao LG. Paraoxonase 1 Polymorphisms 172T->A and 584A->G Modify the Association between Serum Concentrations of the Antioxidant Lycopene and Bone Turnover Markers and Oxidative Stress Parameters in Women 25-70 Years of Age. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2010;3(1):1-8.
24. Nus M, Frances F, Librelotto J, Canales A, Corella D, Sánchez-Montero JM, Sánchez-Muniz FJ. Arylesterase activity and antioxidant status depend on PON1-Q192R and PON1-L55M polymorphisms in subjects with increased risk of cardiovascular disease consuming walnut-enriched meat. *J Nutr*. 2007 Jul;137(7):1783-8.
25. Roest M, Jansen AC, Barendrecht A, Leus FR, Kastelein JJ, Voorbij HA. Variation at the paraoxonase gene locus contributes to carotid arterial wall thickness in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem*. 2005 Feb;38(2):123-7.
26. Elena Thomàs-Moyà, Yolanda Gómez-Pérez, Miguel Fiol2,3, Magdalena Gianotti, Isabel Lladó, Ana M. Proenza. Gender Related Differences in Paraoxonase 1 Response to High-fat Diet-induced Oxidative Stress. *Obesity*. 2008;16(10) :2232-8.