

안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성 (Genetic Polymorphism)과 좌심실 비대와의 관련성*

서울대학교 의과대학 내과학교실, 인하대학교 의과대학 내과학교실**

조성욱** · 김호수 · 송종민 · 최진호 · 이상철 · 김철호 · 손대원

오병희 · 이명묵 · 박영배 · 최윤식 · 서정돈 · 이영우

= Abstract =

Correlation Between Insertion/Deletion Polymorphism of Angiotensin I-Converting Enzyme Gene and Left Ventricular Hypertrophy

Seong-Wook Cho, M.D.,** Hyo-Soo Kim, M.D., Jong-Min Song, M.D.,
Jin-Ho Choi, M.D., Sang-Cheul Lee, M.D., Cheol-Ho Kim, M.D.,
Dae-Won Sohn, M.D., Byung-Hee Oh, M.D., Myoung-Mook Lee, M.D.,
Young-Bae Park, M.D., Yun-Shik Choi, M.D.,
Jung-Don Seo, M.D., Young-Woo Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

*Department of Internal Medicine,** Inha University College of Medicine, Sunghnam, Korea*

Background : It was reported that patients who have left ventricular hypertrophy have higher D allele frequency of angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism, especially in Caucasian normotensive men. We studied to know whether genetic polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene is associated with the development of left ventricular hypertrophy in Korean people whose genotype frequency is quite different from that of Caucasians.

Methods : Total 156 patients were included in this study. Presence of hypertension was checked with the criteria that hypertensives are one whose blood pressures were all above 140/90 at least 3 times spanning 2 months or one who had been diagnosed as hypertension and on his medication. Left ventricular mass index(LVMI) was calculated using electrocardiogram by Rautaharju equation, and left ventricular hypertrophy(LVH) was defined as LVMI was above 131g/m² in male or above 110g/m² in female. Genomic DNA was extracted from the mononuclear cell of each subjects and PCR was performed using new primers for the region of intron 16 and exon 17.

Results : Genotype frequencies of D/D genotype and D allele were 0.200 and 0.413 respectively in group with LVH(n = 40), 0.103 and 0.392 respectively in group without LVH(n = 116). There was no significant difference with each other group. However, when only the normotensives were included in this analysis, frequency of D/D genotype is significantly higher in group with LVH(0.231, n = 26) than in group without LVH(0.076, n = 79)(Fisher's exact test, $p < 0.05$). There was no significant difference in genotype frequency between the normotensives(n = 105) and the hypertensives(n = 51).

Conclusions : In Korean people, D allele of polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene is also associated with development of left ventricular hypertrophy in the normotensives and is not associated with essential hypertension.

KEY WORDS : Angiotensin I-converting enzyme · Left ventricular hypertrophy · Polymorphism.

서 론

좌심실 비대는 그 자체가 심혈관계의 합병증으로 사망율을 높이는 것으로 알려져 있으며 1992년 Dahlöf등¹⁾이 여러가지 항고혈압제중에서 비록 혈압강하효과는 같을지라도 ACE inhibitor가 좌심실 비대를 호전시키는데 있어서 훨씬 우월하였다고 한 보고를 근거로 좌심실 비대를 호전시키는 ACE inhibitor 등의 항고혈압제가 더 선호되고 있는 실정이다.

안지오텐신 II는 심근의 단백질 형성을 촉진하여 심근의 비대를 유발하며²⁾ ACE inhibitor는 bradykinin을 통하여 심근의 증식을 억제한다고 알려져 있는 바³⁾ 안지오텐신 II의 형성을 촉진시키며 브라디키닌을 분해시키는 안지오텐신 전환효소는 심근 비대와 연관이 되어 있으리라고 생각 된다.

안지오텐신 전환효소의 DNA에는 두가지 allele의 다형성(polymorphism)이 있음이 알려져 있다. Intron 16 후반부에 약 287bp의 유전자 분절이 삽입(insertion) 되어 있는 allele(I allele)과 결손(deletion) 되어있는 allele(D allele)이 있고 각 개체는 I/I, I/D, D/D의 세가지의 유전자 형중 한가지를 가진다. 1992년에 이것을 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 쉽게 알아낼 수 있는 방법이 알려지면서 최근 2년동안 이들에 대한 많은 연구들이 주로 서양에서 이루어지고 있다.

여러 보고들 중에, 좌심실 비후(concentric left ventricular hypertrophy)가 있는 환자들 중 특히 혈압이 정상인 남자에서 정상인에 비하여 D/D형이 많음이 알려져 있다⁴⁾. 하지만 고혈압과의 연관성에 대하여서는 여러가지 상반된 보고들이 있어 왔으나 현재는 이러한 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성과 고혈압과는 별로 연관성이 없는 것으로 받아들여지고 있는 상황이다. 본 저자들은 주로 서양에서 보고되고 있는 안지오텐신 전환효소 유전자의 유전적 다형성의 양상과 좌심실 비대 및 고혈압과의 연관성에 대한 이러한 결과들이, 과연 서양

인들과 유전형의 분포양상이 다른 우리나라와 같은 동양인에서도 같은 양상으로 존재하는지의 여부를 알고자 이 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

총 156명의 환자들을 대상으로 연구를 시행하였다. 각 환자들은 고혈압의 유무를 판정하되 2개월 간격으로 3회 측정된 혈압이 모두 140/90 이상을 보인 경우나 과거에 고혈압 진단을 받고 현재 항고혈압제 투여를 하고 있는 사람들을 고혈압으로 정의하였다. 심전도를 이용한 좌심실 mass index를 Rautaharju의 식을 이용하여 산출하였고 남자는 131g/m^2 이상, 여자는 110g/m^2 이상을 좌심실 비대가 있는 것으로 정의하였다^{5,6)}. 고혈압 외에 심전도상 유의한 변화를 초래할 수 있는 심근경색증, 심실전도장애, WPW 증후군 및 심장판막 질환 환자는 연구대상에서 제외하였다.

고혈압이 있는 군(51명) 중에서 심전도상 좌심실 비대가 있는 사람은 14명, 없는 사람은 37명이었고, 고혈압이 없는 군(105명) 중에서는 좌심실 비대가 있는 사람은 26명, 없는 사람은 79명이었다. 고혈압 유무와 좌심실 비대 유무에 따라 구분한 네 군에서 대상 환자의 연령 및 body mass index 상의 유의할 만한 차이는 없었다(Table 1).

2. 분자생물학적 실험방법

각 환자의 말초혈액을 채취하여 단핵구층에서 genomic DNA를 추출하였다. 이것을 intron 16과 exon 17 primer를 이용하여 중합효소 연쇄반응을 시행하였고 이 산물을 Etidium bromide가 포함된 2.8% agarose gel에 전기영동시켜서 자외선으로 그 결과를 확인하는 방법을 사용하였다.

3. 통계적 방법

양 군 사이의 분율의 비교는 X^2 test 및 Fisher's ex-

Table 1. Subjects that were enrolled in this study Values : Mean±SD

	LVH(+)	LVH(-)	LVH(+)	LVH(-)
n	14	37	26	79
M : F	3 : 11	28 : 9	7 : 19	60 : 19
Age(yrs)	57.7±6.1	58.5±7.6	54.5±10.1	55.0±13.3
BMI(kg/m ²)	25.7±3.7	24.2±2.5	24.7± 3.6	23.6± 3.0

Table 2. Genotype frequencies of the patients with or without left ventricular hypertrophy

	n	D/D	I/D	I/I	D allele	I allele
LVH(+)	40	8(0.200)	17(0.425)	15(0.375)	0.413	0.588
LVH(-)	116	12(0.103)	67(0.578)	37(0.319)	0.392	0.608

Table 3. Genotype frequencies in the patients with or without LVH classified by hypertension

	n	D/D	I/D	I/I	D allele	I allele
Normotensive						
LVH(+)	26	6(0.231)*	14(0.538)	6(0.231)	0.500	0.500
LVH(-)	79	6(0.076)	48(0.608)	25(0.316)	0.380	0.620
Hypertensive						
LVH(+)	14	2(0.143)	3(0.214)	9(0.643)	0.250	0.750
LVH(-)	37	6(0.162)	19(0.514)	12(0.324)	0.419	0.581

* : $p < 0.05$ with normotensive LVH(-) by Fisher's exact test

Table 4. Genotype frequencies in the patients with or without hypertension

	n	D/D	I/D	I/I	D	I
Normotensive	105	12(0.114)	62(0.590)	31(0.295)	0.410	0.590
Hypertensive	51	8(0.157)	22(0.431)	21(0.412)	0.373	0.627

act test를 이용하였으며, 양 군 사이의 평균치의 비교에는 student t-test를 이용하였다.

압 환자군(51명)의 유전형의 빈도를 비교하였을 때에는 유전형이나 allele의 빈도상 차이는 없었다(Table 4).

연구 결과

좌심실 비대가 있는 40명과 비대가 없는 116명을 대상으로 안지오텐신 전환효소 유전자의 유전형의 분포를 비교하여 보았다. D/D 형의 빈도 및 D allele의 빈도는 좌심실 비대가 있는 군에서 각각 0.200, 0.413이고 좌심실 비대가 없는 군에서는 각각 0.103, 0.392로서 양군 사이에 차이는 없었다(Table 2).

그러나, 혈압이 정상인 환자들만을 대상으로 유전자형의 분포를 보았을 때 좌심실 비대가 있는 군(26명)에서의 D/D의 빈도는 0.231로서 좌심실 비대가 없는 군(79명)에서의 0.076에 비하여 유의하게 높았다(Fisher's exact test, $p < 0.05$)(Table 3).

전체 대상군중 혈압이 정상인 환자군(105명)과 고혈

고 안

혈압이 정상인 사람만을 대상으로 했을 때 좌심실 비대가 있는 군에서의 D/D의 빈도가 좌심실 비대가 없는 군의 D/D의 빈도보다 높은 것을 알 수 있었다. 즉, 고혈압이 좌심실 비대에 미치는 영향을 배제하였을 때 D/D형과 좌심실 비대는 서로 연관성을 가지고 있다고 하겠다.

이는 서양에서의 결과와 유사한 소견을 보인다. 1994년에 독일의 Schunkert등⁴⁾이 좌심실 비후(concentric left ventricular hypertrophy)가 있는 환자들 중 특히 혈압이 정상인 남자에서 정상인에 비하여 D/D형이 많음을 발표하였다.

결국, 우리나라는 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형

성 양상이 서양과 다르지만 D/D 형은 동일하게 좌심실 비대와 연관이 있는 것으로 생각된다.

안지오텐신 전환효소의 유전적 다형성이 좌심실 비대와 연관성이 있으리라는 것은 1993년 Sadoshima²⁾ 등의 안지오텐신 II가 심근의 단백질 형성을 촉진하여 심근의 비대를 유발한다는 보고와 1992년 Farhy등의 ACE inhibitor가 bradykinin을 통하여 심근의 증식을 억제한다는 보고³⁾ 등을 참고할 때 그 가능성을 충분히 생각하게 한다. 즉 심근의 안지오텐신 전환효소는 안지오텐신 II의 형성을 촉진시키며 브라디키닌을 분해시킴으로 결국 심근의 증식을 촉진시키는 방향으로 작용하게 되며, 이는 D allele을 지닌 환자에서 혈장내의 안지오텐신 전환효소의 활성도나 농도가 높다는 사실에 비쳐 볼 때⁷⁾ D allele을 지닌 사람에게서 좌심실 비대의 발생이 많으리라는 것을 짐작할 수 있다.

본 연구의 결과는 좌심실 비대의 발생에 고혈압등의 물리적인 외부요인만이 아니라 내분비적 또는 paracrine 이나 autocrine 적인 요인들, 그 중 특히 안지오텐신 전환효소를 포함한 레닌 안지오텐신계가 관여한다는 것에 대한 임상적인 증거로서 의미가 있으며, 이것은 1992년 Dahlof등¹¹⁾이 여러가지 항고혈압제중에서 비록 혈압강하효과는 같을지라도 ACE inhibitor가 좌심실 비대를 호전시키는데 있어서 훨씬 우월하였다고 한 보고를 뒷받침해 주는 것이다.

1993년 Schunkert^{8,9)} 등은 압력과부하에 의한 좌심실 비후를 지닌 쥐의 심근에서 안지오텐신 전환효소의 mRNA의 양이 증가한다는 사실을 보고하였다. 본 연구의 결과와 함께 생각하여 볼 때 안지오텐신 전환효소 유전자의 발현(expression)은 압력과부하등의 물리적인 외부요인에 의하여 촉진될 뿐만 아니라, 유전적으로 D allele을 지닌 사람에게서도 아직 원인이 알려지지 않은 모종의 기전에 의하여 그 발현이 촉진되며 이 과정에서 성장조절 유전자(growth regulator)인 ras oncogene, c-myc, c-fos, c-jun등의 proto-oncogenes과 유전적 상호작용을 일으켜 비후성 심근병증을 일으키고 더 나아가 죽사를 일으키는 등의 임상양상의 변화를 초래할 수 있다는 점을 시사한다.

1993년 미국의 Marian등¹⁰⁾은 β myosin heavy chain의 유전자에 돌연사의 빈도가 높다고 알려진 돌연변이가 있는 가족중의 비후성 심근병증(hypertrophic cardiomyopathy) 환자에서 D/D 형이 월등히 많음을

보고하였다. 비후성 심근병증은 고혈압등의 물리적인 외부요인 없이 좌심실의 특정부위에 비후를 일으키는 것으로서, 본 연구의 대상 중 고혈압이 없는 좌심실 비대군의 양상이 매우 심화된 경우로 볼 수 있을 것이며, 결국 이것도 같은 의미를 지닌 것으로 보아야 할 것이다.

안지오텐신 전환효소 유전자의 유전적 다형성과 고혈압과의 연관성에 대하여서는 여러가지 상반된 보고들이 있어 왔으나 현재는 이러한 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성과 고혈압과는 별로 연관성이 없는 것으로 받아들여지고 있는 상황이다. 1991년에 일본의 Nara¹¹⁾, 1992년에 호주의 Zee¹²⁾, 1993년에 호주의 Morris¹³⁾등이 고혈압과 안지오텐신 전환효소의 유전적 다형성과 상관관계가 있으며 I allele이 고혈압과 연관성을 가진다고 하였다. 그러나, 1993년 일본에서 Nabika등¹⁴⁾이 다시 쥐에서 고혈압과 역상관관계가 있는 1/MCT96.1 band가 ACE locus와 연관이 없음을 이야기 하므로써 앞서의 자신들의 이야기를 뒤집었고, 그 밖에 1990년 프랑스의 Rigat⁷⁾, 1993년 일본의 Higashimori¹⁵⁾, 1993년 독일의 Schmidt¹⁶⁾등이 안지오텐신 전환효소의 유전적 다형성이 고혈압과 연관성이 없음을 시사하였고, 호주에서도 1993년 Summers¹⁷⁾등이 호주의 대가족을 대상으로 한 연구에서 역시 연관성이 없음을 발표하였다. 본 연구의 결과에서 보듯이 일본에서의 보고와 함께¹⁵⁾ 동양에서도 역시 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성과 본태성 고혈압과는 연관관계가 없는 것으로 생각된다.

요 약

배 경 :

좌심실 비후(concentric left ventricular hypertrophy)가 있는 환자들 중 특히 혈압이 정상인 남자에서 정상인에 비하여 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성에 의한 유전형 중 D/D 형이 많음이 알려져 있다. 고혈압과의 연관성에 대하여서는 여러가지 상반된 보고들이 있어 왔으나 현재는 이러한 안지오텐신 전환효소 유전자의 다형성과 고혈압과는 별로 연관성이 없는 것으로 받아들여지고 있는 상황이다. 본 저자들은 주로 서양에서 보고되고 있는 안지오텐신 전환효소 유전자의 유전적 다형성의 양상과 좌심실 비대 및 고혈압과의 연관성에 대한 이러한 결과들이, 과연 서양인들과 유전형의

분포양상이 다른 우리나라와 같은 동양인에서도 같은 양상으로 존재하는지의 여부를 알고자 하였다.

대상 및 방법 :

총 156명의 환자들을 대상으로 연구를 시행하였다. 각 환자들은 고혈압의 유무를 판정하되 2개월 간격으로 3회 측정한 혈압이 모두 140/90 이상을 보인 경우나 과거에 고혈압 진단을 받고 현재 항고혈압제 투여를 하고 있는 사람들을 고혈압으로 정의하였다. 심전도를 이용한 좌심실 mass index를 Rautaharju의 식을 이용하여 산출하였고 남자는 131g/m^2 이상, 여자는 110g/m^2 이상을 좌심실 비대가 있는 것으로 정의하였다. 각 환자의 말초혈액을 채취하여 단백핵추출에서 genomic DNA를 추출하였다. 이것을 intron 16과 exon 17의 nucleotides에 상응하는 primers를 이용하여 중합효소 연쇄반응을 시행하였고 이 산물을 Etidium bromide가 포함된 2.8% agarose gel에 전기영동시켜서 자외선으로 그 결과를 확인하였다.

결 과 :

좌심실 비대가 있는 40명과 좌심실 비대가 없는 116명을 대상으로 안지오텐신 전환효소 유전자의 유전형의 분포를 비교하여 보았다. D/D 형의 빈도 및 D allele의 빈도는 좌심실 비대가 있는 군에서 각각 0.200, 0.413이고 좌심실 비대가 없는 군에서는 각각 0.103, 0.392로서 양군사이에 의미있는 차이는 없었다.

그러나, 혈압이 정상인 환자들만을 대상으로 유전형의 분포를 보았을 때 좌심실 비대가 있는 군(26명)에서의 D/D 형의 빈도는 0.231로서 좌심실 비대가 없는 군(79명)에서의 0.076에 비하여 유의하게 높았다(Fisher's exact test, $p < 0.05$).

전체 대상군중 혈압이 정상인 환자군(105명)과 고혈압 환자군(51명)의 유전형의 빈도를 비교하였을 때에는 유전형이나 allele의 빈도상 의미있는 차이는 없었다.

결 론 :

안지오텐신 전환효소 유전자의 유전적 다형성중 D allele은 혈압이 정상인 환자에서의 좌심실 비대의 발생과 연관이 있으며, 본태성 고혈압과는 연관성이 없으리라 보고 사료된다.

References

1) Dahlof B, Pennert K., Hansson L : *Regression of*

*left ventricular hypertrophy- a meta-analysis. Clin Exp Hypertens [A]*14 : 173-180, 1992

- 2) Sadoshima J-I, Izumo S : *Molecular Characterization of Angiotensin II-induced Hypertrophy of Cardiac Myocytes and Hyperplasia of Cardiac Fibroblasts : Critical Role of the AT1 Receptor Subtype. Circ Res* 73 : 413-423, 1993
- 3) Farhy RD, Ho KL, Carretero OA, Scicli A : *Kinins Mediate the Antiproliferative effect of Ramipril in Rat Carotid Artery. Biochem Biophys Res Commun* 182 : 283-288, 1992
- 4) Schunkert H., Hense H-W., Holmer SR, Stender M., Perz S., Keil U., Lorell BH, Riegger GAH : *Association between a Deletion Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene and Left Ventricular Hypertrophy. N Engl J Med* 330 : 1634-1638, 1994
- 5) Rautaharju PM, LaCroix AZ, Savage DD, Haynes SG, Madans JH, Solf HK, Ladden W., Keller J., Cornoni-Huntley J : *Electrocardiographic Estimate of Left Ventricular Mass Versus Radiographic Cardiac Size and the Risk of Cardiovascular Disease Mortality in the Epidemiologic Follow-Up Study of the First National Health and Nutrition Examination Survey. Am J Cardiol* 62 : 59-66, 1988
- 6) Wolf HK, Hurggraf GW, Cuddy E., Milliken JA, Rautaharju PM, Smith ER, Warren JW : *Prediction of Left Ventricular Mass from the Electrocardiogram. J of Electrocardiology Vol 24 No 2 : 121-127, 1991*
- 7) Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F., Cambien F., Corvol P., Scubrier F : *An Insertion/Deletion Polymorphism in the Angiotensin I-converting Enzyme Gene Accounting for Half the Variance of Serum Enzyme Levels. J. Clin. Invest.* 86 : 1343-1346, 1990
- 8) Schunkert H., Dzau VJ, Tang SS, Hirsch AT, Apstein CS, Lorell BH : *Increased Rat Cardiac Angiotensin Converting Enzyme Activity in mRNA Expression in Pressure Overload Left Ventricular Hypertrophy. J Clin Invest Vol 85 : 1913-1920, 1990*
- 9) Schunkert H., Jackson B., Tang SS : *Distribution and Functional Significance of Cardiac Angiotensin Converting Enzyme in Hypertrophied Rat Hearts. Circulation* 87 : 1328-1339, 1993
- 10) Marian AJ, Yu Q., Workman R., Greve G., Roberts R : *Angiotensin-converting Enzyme Po-*

- lymorphism in Hypertrophic Cardiomyopathy and Sudden Cardiac Death. Lancet* 342 : 1085-1086, 1993
- 11) Nara Y., Nabika T., Ikeda K., Sawamura M., Endo J., Tamori Y : *Blood Pressure Cosegregates with a Microsatellite of Angiotensin I converting Enzyme(ACE) in F2 Generation from a Cross Between Original Normotensive Wistar-Kyoto Rat(WKY) and Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat(SHRSP). Bioch & Biophysical Research Communications* 181(3) : 941-956, 1991
 - 12) Zee RYL, Lou Y., Griffiths LR, Morris BJ : *Association of a Polymorphism of the Angiotensin I-converting Enzyme Gene with Essential Hypertension. Bioch & Biophysical Research Communications* 84(1) : 9-15, 1992
 - 13) Morris BJ, Zee RYL, Ying LH, Griffiths LR : *Independent, Marked Associations of Alleles of the Insulin Receptor and Dipeptidyl Carboxypeptidase-I Genes with Essential Hypertension. Clinical Science* 85 : 189-195, 1993
 - 14) Nabika T., Nara Y., Ikeda K., Endo J., Yamori Y : *A New Genetic Locus Cosegregating with Blood Pressure in F2 Progeny Obtained from Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats and Wistar-Kyoto Rats. Journal of Hypertension* 11 : 13-18, 1993
 - 15) Higashimori K., Ahao Y., Higaki J., Kamitani A., Katsuya T., Nakura J., Miki T., Mikami H., Ogi-hara T : *Association Analysis of a Polymorphism of the Angiotensin Converting Enzyme Gene with Essential Hypertension in the Japanese Population. Bioch & Biophysical Research Communications* 91(2) : 399-404, 1993
 - 16) Schmidt S., Van Hooft IMS, Grobbee DE, Ganten D., Ritz E : *Polymorphism of the Angiotensin I converting Enzyme Gene is Apparently not Related to High Blood Pressure : Dutch Hypertension and Offspring Study. Journal of Hypertension* 11 : 345-348, 1993
 - 17) Summers KM, West JA, Huggard PR, West MJ : *Angiotensin-Converting Enzyme and Regulation of Blood Pressure in a Large Australian Family. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 20(5) : 320-323, 1993