

건강한 성인 남녀에서 Apolipoprotein A-I 유전자 다형성과 혈중 지질농도와의 연관성

연세대학교 의과대학 심장혈관병원 심장내과,¹ 심혈관계질환 유전체연구센터, 심혈관연구소,² 연세대학교 생활과학대학 식품영양학과,³ (주) DNA 링크 부설연구소⁴

문재연^{1,2} · 조은영² · 김원호^{1,2} · 최성훈^{1,2} · 고영국^{1,2}
박현영^{1,2} · 이종호^{2,3} · 이종은^{2,4} · 장양수^{1,2}

The Impact of Apolipoprotein A-I Polymorphisms on the Lipid Profiles in Middle Aged Healthy Men and Women

Jae-Youn Moon, MD^{1,2}, Eun Young Cho, PhD², Won Ho Kim, MD^{1,2},
Seong Hun Choi, MD^{1,2}, Young-Guk Ko, MD^{1,2}, Hyun-Young Park, MD^{1,2},
Jong Ho Lee, PhD^{2,3}, Jong Eun Lee, PhD^{2,4} and Yang Soo Jang, MD^{1,2}

¹Division of Cardiology, Cardiovascular Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

²Cardiovascular Genome Center, Cardiovascular Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

³Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul,

⁴DNA link Inc, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Apolipoprotein A-I is the major lipoprotein constituent of high density lipoprotein in plasma. In this study, the role of two polymorphisms in the apo A-I gene was investigated on the serum lipid profiles and apo A-I levels in healthy men and women. **Subjects and Methods** : Blood samples were obtained from 417 subjects (M : F=169 : 248, mean age 47.2 years). The apo A-I genotypes were determined by SNP-IT assays using the SNPstream 25K™ system. **Results** : The frequencies of the A allele at the *XmnI* restriction site and position -75 bp were 0.25/0.23 and 0.19/0.17 in men and women, respectively. A strong positive linkage disequilibrium ($D' = 0.990$) between two polymorphisms was detected. In men, the A allele at the *XmnI* restriction site was associated with significantly lower levels of triglyceride ($p = 0.028$) compared to the G/G subjects, but no significant associations were detected between the G-75A polymorphism and any of the lipid traits examined. In women, each A allele for the *XmnI* restriction site and -75 bp polymorphisms were significantly associated with higher levels of apo A-I ($p = 0.032$ and $p = 0.012$). In the multiple regression analysis, the HDL, being a current drinker and the A allele of the *XmnI* restriction site polymorphism were major determinants of the serum apo A-I levels in women ($R^2 = 0.272$, $p < 0.05$). **Conclusion** : Our study showed that the A allele at *XmnI* restriction site in the apo A-I gene was associated with decreased triglyceride levels in men. Each A allele of two polymorphisms was associated with an elevated apo A-I level in women. (Korean Circulation J 2004; 34(12):1158-1166)

KEY WORDS : Apolipoprotein A-I ; Polymorphism ; Triglyceride ; HDL-cholesterol.

논문접수일 : 2004년 7월 21일

수정논문접수일 : 2004년 10월 11일

심사완료일 : 2004년 10월 19일

교신저자 : 장양수, 120-752 서울 서대문구 신촌동 134번지 1 연세대학교 의과대학 심장혈관병원 심장내과

전화 : (02) 361-7071 · 전송 : (02) 393-2041 · E-mail : Jangys1212@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

Apolipoprotein A-I (apo A-I)은 High density lipoprotein(HDL) 콜레스테롤을 구성하는 핵심 단백질이며 lecithin-cholesterol acyltransferase(LCAT)을 활성화시켜 콜레스테롤 역수송(reverse cholesterol transport) 과정에 관여한다.¹⁾ Apo A-I은 말초세포에서 간으로 콜레스테롤을 운반하는 HDL의 조절 및 활성화에 영향을 미쳐 관상동맥 질환을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 최근의 연구 결과에 의하면, HDL 콜레스테롤은 콜레스테롤 역수송 과정 외에도 항산화 작용, 항염증 작용, 항응고 작용 및 혈관내피세포의 보호 기능들을 통해 관상동맥질환의 발생위험을 낮추는 것으로 알려져 있다.³⁾ 혈중 HDL 콜레스테롤과 apo A-I 농도는 성별, 체질량지수(body mass index : BMI), 나이, 흡연 그리고 유전적 영향 등 여러 인자들에 의해 영향을 받는다.⁴⁻⁶⁾

고중성지방혈증은 관상동맥 질환을 일으키는 triglyceride-rich lipoprotein인 very low density lipoprotein(VLDL), intermediate density lipoprotein(IDL) 등이 높은 농도로 존재하는 것을 의미하며, 이러한 상태에서 죽상경화의 위험이 높아지는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ Kessler 등⁸⁾은 apo A-I 유전자의 5' end 부위에서 나타나는 *XmnI* 제한효소 작용부위(restriction site)의 유전자 다형성과 중성지방농도가 관련이 있음을 보고하였으며, 각각의 다른 형태의 고지혈증환자들을 중성지방 농도에 따라 분리했을 때, 중성지방 농도가 가장 높은 군에서 X2 대립인자의 빈도가 높았음을 보고하였다. *XmnI* 제한효소 작용부위의 다형성은 주로 가족성 고지혈증 환자군(familial combined hyperlipidemia : FCHL)에서 많은 빈도로 나타나 FCHL의 유전적인 병인으로 작용하는 것으로 생각된다.^{9,10)} 그러나 혈중지질 농도가 정상인 경우 *XmnI* X2 유전형과 고지혈증과의 관련성에 대해서는 아직 논란이 많은 실정이다.¹¹⁻¹³⁾ 또한 혈중 중성지방 농도와 *XmnI* 제한효소 작용부위의 유전자 다형성에 대한 연구결과는 국내에서 보고된 바가 없다.

Apo A-I 유전자의 전사조절 부위(promoter)의 다형성인 G-75A는 전사시작으로부터 -75번째 염기서열에 위치하며 Guanine이 Adenine으로 치환되는 것으로, 혈중 HDL 콜레스테롤 농도의 상승 및 apo A-I 농도와

의 관련성이 보고되었다.^{5,14-16)} 그러나, Barre 등¹⁷⁾은 G-75A 유전자 다형성과 혈중 HDL 콜레스테롤 농도와 관계가 없음을 보고하였으며, 또한 G-75A 유전자 다형성이 직접적으로 HDL 콜레스테롤 및 apo A-I 농도에 영향을 미친다기 보다는 apo A-I 농도를 조절하는 다른 유전자와 상호연관(linkage disequilibrium)되었을 가능성이 제시되었다.¹⁸⁾

그러나 이러한 연구 결과들은 대부분 서양인들을 대상으로 한 연구이며, 유전자 다형성의 분포는 인종 및 지역에 따라 많은 차이를 보이는 점을 고려할 때 한국인을 대상으로 한 연구가 필요하다. 본 연구는 한국인에서 apo A-I 유전자 다형성과 혈중 지질 농도 및 apo A-I 농도와의 관련성을 분석하여 관상동맥질환의 위험인자로서의 의의를 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

대 상

1999년 12월부터 2001년 12월까지 연세대학교 심혈관계질환 유전체연구센터의 검진에 참가한 건강한 일반인 417명(남 : 여=169 : 248, 47.2±10.4세)을 대상으로 하였다. 이들은 관상동맥 질환의 증상 또는 위험인자가 없고 고혈압, 당뇨병, 뇌혈관질환, 말초혈관질환이 없으며 또한 이러한 질환의 가족력이 없는 성인 남녀로 흉부 X-선상 심비대 소견이 없으며 심전도상 정상 소견을 보이는 경우로 하였다. 체질량지수가 30 kg/m² 이상이거나 중성지방이 400 mg/dL 이상인 경우, 지질강하제나 호르몬제제를 복용하는 경우는 연구대상에서 제외하였다.

모든 대상자에서 병력, 가족력, 흡연의 유무를 조사하였고, 신장과 체중을 측정하여 체질량지수를 계산하였다. 본 연구는 참여한 모든 대상들로부터 서면동의를 받은 후 진행되었다.

혈중 지질 및 지단백 농도 측정

혈액은 아침 공복시 정맥 채혈하여 -70℃로 냉동하여 보관하였다. 혈청 총콜레스테롤, 중성지방은 Auto Chemistry analyzer Express Plus(Chiron Diagnostics Co., MA, USA)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 chylomicron, LDL 콜레스테롤, VLDL을 침전시킨 후 상층액에 있는

HDL 콜레스테롤을 다시 효소법으로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은(Total cholesterol-HDL cholesterol-Triglyceride/5)의 공식을 이용하여 계산하였다. 혈중 apo A-I, Apo B 농도는 특이 항혈청과의 침전물 형태로 비탁적으로 340 nm 파장에서 Immuno-turbidometric analyzer(Cobas Integra Roche, Switzerland)로 측정하였다.

유전자 다형성의 분석

DNA는 EDTA 혈액으로부터 DNA isolation kit (Genra Genomic DNA purification kit, MN, USA)를 이용하여 5 mL 혈액에서 추출하였다.

Apo A-I 유전자 *XmnI* 제한효소 작용부위 유전자 다형성 분석을 위해 113 염기쌍을, G-75A 유전형분석을 위해서 125 염기쌍을 중합효소 연쇄반응(PCR)으로 증폭시킨 후 exonuclease를 이용하여 single strand로 분리하였다. 단일염기다형성의 유전형 분석을 위해 SNPs-stream 25K system(Orchid Biosciences, Princeton, NJ, USA)을 이용한 SNP-IT(SNP-Identification Technology, Orchid Biosciences, Princeton, NJ, USA) assay 방법을 이용하였다. 단일염기확장 반응은 단일염기다형성부위 직전까지의 sequence로 합성된 각각의 primer(*XmnI* : AATATTTTGGAAAGGAAGGA, G-75A : GATAAGCCCAGCCC)와 PCR산물을 annealing시킨 후 biotin 또는 fluorescein isothiocyanate (FITC)로 표지된 각각의 dideoxynucleotide와 반응시켜 단일염기 확장 후 반응이 종료되도록 한 후 표지자 분석을 통하여 다형성 부위에 결합된 nucleotide를 확인함으로써 유전형을 결정하였다.

통계 분석

자료의 통계처리와 분석은 SPSS for windows 12.0 (SPSS Inc. USA)를 사용하였다. 모든 통계값은 평균±표준편차로 표시하였다. 통계학적 유의수준은 p<0.05로 하였다.

본 연구에서 두 유전자 다형성의 AA유전형의 대상자 수가 적고 기존의 연구에서 A 대립인자의 우성적인(dominant) 효과가 보고되어 GA형과 AA형을 A대립인자 군으로 하여 GG유전형과 비교하였다.

유전형에 따른 기본적 임상특징, 지질, 지단백 농도,

apo A-I 농도의 차이는 χ^2 -test와 Student t-test를 이용하여 분석하였다. Apo A-I 유전자 다형성이 혈중 apo A-I 농도에 미치는 영향을 규명하기 위해 남녀에서 각각의 유전자 다형성과 연령, 비만도, 중성지방농도, HDL 콜레스테롤 농도, 흡연유무, 음주유무, 폐경등을 covariate로 하여 다중회귀분석(multiple regression)을 실시하였다.

두 가지 유전자 다형성간의 상호연관성(linkage disequilibrium : LD)검정을 위한 D' 값과 haplotype은 EH (estimated haplotype) program를 활용한 이스트텍사의 SNP analyzer (<http://www.istech21.com>)를 사용하여 분석하였다.

결 과

임상적 특성

연구대상자들의 임상적 특징은 Table 1과 같다. 대상자의 연령 분포는 26세부터 81세였으며 이들의 평균 연령은 47.2세였으며, 남성의 평균 연령은 46.4±11.0세, 여성의 평균 연령은 47.7±9.97세로 두 군간 차이는 없었다.

대상자 중 여성의 비율이 남성보다 많았으며(남 : 여 = 41% : 59%), 폐경 후 여성의 비율은 46%였다. 6개월 이상의 규칙적인 흡연 및 음주 습관을 유지하고 있는 현

Table 1. Baseline clinical characteristics in each sex group of study population

	Men (n=169)	Women (n=248)
Age (year)	46.4±11.0	47.7±9.97
BMI (kg/m ²)	23.6±2.57	22.9±2.83*
Triglyceride (mg/dL)	142±77.7	106±58.5 [†]
Total cholesterol (mg/dL)	204±38.8	205±35.9
LDL cholesterol (mg/dL)	129±34.4	132±33.5
HDL cholesterol (mg/dL)	46.3±11.8	52.6±11.8 [†]
Apolipoprotein A-I (mg/dL)	125±33.1	132±30.7
Apolipoprotein B (mg/dL)	84.0±25.1	83.1±33.0
Current smoker (%)	52.7	7.3 [†]
Current drinker (%)	82.8	37.9 [†]

Mean±SD. BMI: body mass index, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein. *: p<0.05, [†]: p<0.001 significantly different from men

재 흡연자 및 음주자의 비율은 남성에서 여성에 비해 유의하게 높았다($p < 0.001$).

남성에서 비만도($p < 0.05$)와 중성지방농도가 여성에 비해 유의하게 높았으며, HDL 콜레스테롤 농도는 여성에서 유의하게 높았다($p < 0.001$). 총콜레스테롤, apo A-I 농도는 두 군간 유의한 차이가 없었다.

Apo A-I 유전자 다형성 및 haplotype 빈도

Apo A-I 유전자의 두 가지 유전자 다형성의 빈도는 Table 2에 나타났다.

본 연구의 유전형분석 결과는 남, 녀 각각에서 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE)를 따르는 것으로 나타났다. Apo A-I 유전자의 *XmnI* 제한효소 작용부위의 유전자 다형성 빈도는 남자에서 GG : GA : AA 55% : 40% : 5%였으며 여자에서는 58% : 38% : 4%로 나타나 성별에 따른 유의적인 차이는 없었다. G-75A 유

전자 다형성의 유전형빈도는 남자에서 GG : GA : AA가 68% : 27% : 5%로 여자의 70% : 26% : 4%와 유의한 차이가 없었으며 A 대립인자의 빈도는 남자에서 0.19, 여자에서 0.17로 나타났다. 본 연구의 G-75A 유전자 다형성의 A 대립인자의 빈도는 서양인에서의 발현 빈도와 유사하게 나타났으며¹⁹⁾²⁰⁾ 두 유전자 다형성은 강한 양의 상호연관성(positive LD)을 나타냈다($D' = 0.990$, $p = 0.004$).

Apo A-I 유전자의 *XmnI* 제한효소 작용부위(1)와 G-75A 유전자 다형성(2)에 의한 haplotype은 G(1)-G(2), A(1)-A(2), A(1)-G(2)가 각각 76%, 18%, 6%였으며 G(1)-A(2)는 1%로 나타났으며, haplotype의 빈도는 *XmnI* 제한효소 작용부위 유전자 다형성의 주요 대립인자 유무에 따라 결정됨을 알 수 있었다(결과는 표로 제시하지 않았음).

Apo A-I 유전형에 따른 혈청 지질농도

XmnI 제한효소 작용부위 유전자 다형성에 따른 혈청 지질 농도는 Table 3과 같다. 남 녀에서 유전자 다형성에 따른 두 군간 평균 연령 및 비만도의 차이는 없었다. 남성의 A대립인자군의 중성지방 농도는 127 ± 71.1 mg/dL로 GG 유전형의 154 ± 81.1 mg/dL보다 유의하게 낮았으며($p = 0.028$), 두 군간 apo A-I 농도의 차이는 없었다. 그러나 흡연 습관에 따라 나누어 분석해 보면 비흡연 남성에서는 A대립인자군($n = 33$)의 apo A-I 농도가 133 ± 36.2 mg/dL로 GG 유전형($n = 47$)의 119 ± 28.0 mg/dL 보다 높은 경향을 나타냈으나($p =$

Table 2. Genotype frequency of apo A-I gene polymorphism in middle aged healthy men and women

Genotype		Men n (%)	Women n (%)
XmnI	GG	94 (55%)	143 (58%)
	GA	67 (40%)	95 (38%)
	AA	8 (5%)	10 (4%)
	G : A	0.75 : 0.25	0.77 : 0.23
G-75A	GG	115 (68%)	174 (70%)
	GA	45 (27%)	64 (26%)
	AA	9 (5%)	10 (4%)
	G : A	0.81 : 0.19	0.83 : 0.17

Table 3. Age, BMI and serum lipid levels by *XmnI* restriction site polymorphism in the Apo A-I gene in middle aged healthy men and women

	Men		Women	
	GG group (n=94)	GA+AA group (n=75)	GG group (n=143)	GA+AA group (n=105)
Age (year)	47.2 ± 10.2	45.5 ± 12.1	47.6 ± 10.0	48.0 ± 9.97
BMI (kg/m ²)	23.6 ± 2.51	23.5 ± 2.66	23.0 ± 2.89	22.8 ± 2.76
TG (mg/dL)	154 ± 81.1	127 ± 71.1*	111 ± 60.2	98.5 ± 55.6
TC (mg/dL)	202 ± 36.9	207 ± 41.2	205 ± 36.2	206 ± 35.6
LDL-C (mg/dL)	126 ± 33.9	133 ± 34.8	131 ± 33.7	133 ± 33.3
HDL-C (mg/dL)	45.2 ± 11.2	47.7 ± 12.4	51.8 ± 11.5	53.6 ± 12.2
Apo A-I (mg/dL)	123 ± 33.7	123 ± 33.7	128 ± 28.3	138 ± 33.1*
Apo B (mg/dL)	83.7 ± 24.1	84.5 ± 26.4	84.8 ± 35.7	80.6 ± 28.7

Mean ± SD. BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, Apo: apolipoprotein. *: $p < 0.05$ significantly different from GG group by student's t-test in each sex group

Table 4. Age, BMI and serum lipid levels by G-75A polymorphism in the apo A-I gene in middle aged healthy men and women

	Men		Women	
	GG group (n=115)	GA+AA group (n=54)	GG group (n=174)	GA+AA group (n=74)
Age (year)	46.1±10.3	47.2±12.6	47.0±10.3	49.5±9.03
BMI (kg/m ²)	23.7±2.62	23.2±2.45	22.8±2.93	23.3±2.58
TG (mg/dL)	148±81.0	129±69.3	107±57.7	103±60.7
TC (mg/dL)	202±36.9	208±42.5	204±35.9	208±36.1
LDL-C (mg/dL)	127±33.1	134±37.0	131±33.1	133±34.5
HDL-C (mg/dL)	45.4±11.2	48.4±12.8	51.7±11.0	54.6±13.4
Apo A-I (mg/dL)	126±34.6	125±30.1	129±27.0	141±37.3*
Apo B (mg/dL)	82.2±24.2	88.1±26.7	82.7±33.7	84.2±31.4

Mean±SD. BMI: body mass index, TG: triglyceride, TC: total cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, Apo: apolipoprotein. *: p<0.05 significantly different from GG group by student's t-test in each sex group

0.084), 흡연군에서는 유의한 차이가 없었다(A 대립인자군 vs GG : 125±29.6 mg/dL vs 130±38.8 mg/dL). 여성에서는 A 대립인자군의 중성지방농도가 GG 유전형군에 비해 낮은 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(111±60.2 mg/dL vs 98.5±55.6 mg/dL, p=0.086). 그러나 A 대립인자군의 apo A-I 농도는 138±33.1 mg/dL로 GG 유전형의 129±28.3 mg/dL에 비해 유의하게 높았다(p=0.032). 남, 녀 모두에서 A 대립인자군의 HDL 콜레스테롤 농도 및 apo B 농도는 GG 유전형군과 유의적인 차이가 없었다.

G-75A 유전형에 따른 혈중 지질 및 apo A-I 농도는 Table 4에 나타내었다. 남성에서 유전형에 따른 중성지방, HDL 콜레스테롤 농도 및 apo A-I 농도는 유의적인 차이가 없었다. 흡연습관에 따라 나누어 분석했을 때도 유의적인 차이는 없었다. 여성의 A 대립인자군의 HDL 콜레스테롤 농도는 54.6±13.4mg/dL로 GG 유전형군의 51.7±11.0 mg/dL 보다 높은 경향을 나타냈으나 통계적 유의성은 없었다(p=0.078). A 대립인자군의 apo A-I 농도는 141±37.3 mg/dL로 GG 유전형군의 129±27.0 mg/dL에 비해 유의하게 높았다(p=0.013). 다른 혈청 지질농도들은 두 군간 유의한 차이가 없었다.

Apo A-I 유전형이 혈청 지질농도에 미치는 영향

남, 녀에서 두 가지 apo A-I 유전자 다형성이 혈중 apo A-I 농도에 미치는 영향은 Table 5와 같다. 다중회귀분석결과 apo A-I 유전자의 두 가지 유전자 다형

Table 5. Multiple stepwise linear regression analysis on serum apo A-I concentration in middle aged healthy men and women

	Beta	R ² (cumulative)	p
Men			
HDL cholesterol	0.652	0.425	0.000
Women			
HDL cholesterol	0.425	0.210	0.000
Current drinker	0.196	0.244	0.004
Xmn1 A carrier	0.166	0.272	0.013

HDL: High density lipoprotein. Covariate: age, BMI, triglyceride, HDL cholesterol current smoker, current drinker, menopausal status.

성은 남성에서는 혈중 apo A-I 농도와는 유의한 관련성이 없었다. 그러나 여성에서는 HDL 콜레스테롤 농도, 현재 음주습관, Xmn1 제한효소 작용부위 유전자 다형성의 A 대립인자는 apo A-I 농도를 유의적으로 증가시키는 인자로 분석되었다(R²=0.272, p<0.05).

고 찰

여러 연구를 통해 낮은 혈중 HDL 콜레스테롤 농도는 관상동맥질환 발생의 예측인자로 알려져 있으며, HDL 콜레스테롤이 낮을수록 관상동맥 질환의 발생 위험도가 증가하는 것으로 보고 되었다.²¹⁾ 혈중 HDL 콜레스테롤의 농도의 증가는 apo A-I 농도와 유의한 관련이 있으며, apo A-I 농도가 증가된 군에서 관상동맥질환의 발생이 적으며,²²⁾ apo A-I 농도가 HDL 콜레스테롤보다

관상동맥 질환발생의 더 좋은 예측인자로 작용할 수 있다고 제시되기도 하였다.²³⁾ 본 연구는 apo A-I 유전자의 *XmnI* 제한효소 작용부위, G-75A 유전자 다형성이 혈중 지질농도 및 apo A-I 농도에 미치는 영향을 건강한 성인 남녀를 대상으로 평가하고자 하였다.

Apo A-I 유전자는 AI-CIII-AIV 유전자결합체(gene cluster) 형태로 11번 염색체의 long arm에 존재하며 이들 각각의 apolipoprotein 유전자들은 서로 유사한 구조를 나타낸다.⁹⁾ Apo A-I 유전자내 *XmnI* 제한효소 작용부위의 유전자 다형성은 5' flanking 시작 부위에서 대략 2.5 kb 떨어진 부위의 Guanine이 Adenine으로 치환되어 나타나며 1985년 Kessling 등⁸⁾이 보고하였다. *XmnI* 제한효소 작용부위의 유전자 다형성 중 흔하게 관찰되는 유전자를 X1(G) 대립인자로, 드물게 관찰되는 유전자를 X2(A) 대립인자로 명명하였으며, 본 연구의 X2 대립인자의 빈도(남 : 0.25, 여 : 0.23)는 대부분 일본인들로 구성된 비유럽인들의 X2 대립인자 빈도(0.26) 및 Zhang 등²⁴⁾이 보고한 중국인들의 X2 대립인자의 빈도(0.29)와 유사하였다. 그러나 이러한 결과는 유럽 및 서구인들에서의 X2 발현빈도(0.09-0.16)에 비해 높은 수치를 나타내어 *XmnI* 작용부위 유전자 다형성 발현빈도의 인종적 차이를 확인해 주었다.¹¹⁻¹³⁾

유전자 다형성과 혈청 지질농도와의 관련성에 대한 분석결과, 본 연구에서는 *XmnI* 제한효소 작용부위 유전자 다형성의 GG 유전형에 갖는 남성의 중성지방 농도는 GA 및 AA 유전형군에 비해 유의적으로 높았다. 그러나 여성에서는 중성지방 농도는 두 구간 유의한 차이가 없었으며 GG 유전형군의 apo A-I 농도가 GA, AA 유전형군에 비해 유의적으로 낮았다. Wile 등¹¹⁾이 유럽인들을 대상으로 분석한 결과에서는 남성 관상동맥질환군의 A 대립인자군의 HDL 콜레스테롤과 apo A-I 농도가 G 대립인자군에 비해 높았으나, 관상동맥질환이 없는 남성군에서는 유전형에 따른 혈중 지질농도와 apo A-I 농도의 차이가 없음을 보고하였다. Anderson 등¹²⁾이 미국인 고등학생들을 대상으로 분석한 결과에서는 G 대립인자를 가진 여성에서 중성지방 농도가 증가되어 있음을 보고하였다. 또한 G 대립인자의 빈도가 가족성 고지혈증 환자군에서 높음이 보고 되었다.⁹⁾¹⁰⁾ 하지만 Kee 등¹³⁾이 보고한 614명의 심근경색증 환자와 764명의 정상 대조군을 대상으로 한 대규모 연구에서는 *XmnI* 제한효소 작용부위 유전자 다형성의 빈도는 두

구간 차이가 없었으며 유전자 다형성에 따른 혈중 지질농도, lipoprotein 및 apolipoprotein 농도의 차이가 없는 것으로 보고되어 서로 상반된 연구결과가 발표되고 있는 실정이다.

여러 연구에서 나타난 apo A-I 유전자 다형성과 혈청 지질농도와의 관련성의 차이는 다른 부위의 유전자 다형성 및 인접 유전자와의 상관성에 의한 복합적인 결과라고 제시되고 있으나 아직 정확한 기전은 밝혀지지 않은 상태이다.¹³⁾¹⁸⁾ 실제로 *XmnI* 제한효소 부위의 유전자 다형성은 MspI 제한효소 작용부위(G-75A)의 유전자 다형성과는 양의 상호연관성이 밝혀졌고, 동일한 염색체상에 존재하며 지방분해에 관여하는 apo C-III 유전자의 3' uncoding region의 SstI 유전자 다형성과는 음의 상호연관성(negative LD)이 보고되었다.¹⁸⁾ Apo C-III SstI 유전자 다형성은 apo C-III 유전자발현을 증가시켜 중성지방농도의 증가에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 본 연구에서 보여진 apo A-I 유전자 다형성에 따른 중성지방농도의 증가는 Apo C-III Sst I 유전자 다형성과의 상호연관성으로 설명될 수 있을 것이다.

유전자 전사조절부위에 위치한 G-75A 유전자 다형성은 apo A-I의 전사율에 직접적으로 영향을 미쳐 A 대립인자의 경우 apo A-I 합성을 증가시킬 수 있음이 보고되었다.²⁵⁾ 그러나 Danek 등²⁶⁾은 -75A 대립인자는 apo A-I의 전사에 영향을 미치지 않는다고 보고하였다.

본 연구의 G-75A 유전자 다형성의 A 대립인자의 빈도는 서양인들에서의 발현 빈도와 유사하게 나타났으며 성별에 따른 차이도 없었다.¹⁹⁾²⁰⁾ 혈청 지질농도와의 관련성에 대한 분석 결과 G-75A 유전자 다형성과 HDL 콜레스테롤 농도간의 상호 관련성은 없었다. 또한 본 연구에서는 여성에서는 -75A 대립인자는 apo A-I 농도의 증가와 유의한 관련성을 나타냈으나 남성에서는 이러한 관련성이 관찰되지 않았다. 많은 연구에서 -75A 대립인자의 존재는 혈청 HDL 콜레스테롤 및 apo A-I 농도를 증가시키는 결과를 나타냈으나¹⁴⁾¹⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾ 다른 연구에서는 이러한 결과를 검증하지 못하였다.¹⁹⁾²⁹⁾ 또한 남성에서는 비흡연군에서만 유의한 관련성이 있는 것으로 보고되었다.²⁸⁾

지금까지 보고된 여러 연구들의 결과의 차이는 최근 발표된 Ordovas 등³⁰⁾의 연구결과를 고려해 볼때 유전자와 환경적인 요인간의 상호작용에 대한 고려가 필요함을 강조하고 있다. 755명의 남성과 822명의 여성을

대상으로 한 분석에서 G-75A 유전자 다형성이 혈중 지질농도에 미치는 영향은 식이내 불포화지방산(polyunsaturated fatty acid) 섭취량에 따라 다르게 나타났다. 여성에서 LDL 콜레스테롤을 낮추는 것으로 인식되어 온 불포화지방산 섭취가 총 에너지 섭취량의 8% 이상인 군에서는 -75A 대립인자군에서 HDL 및 apo A-I 농도가 증가하였으나, 불포화지방산 섭취가 총 에너지 섭취량의 4% 미만인 경우에는 -75A 대립인자군에서 apo A-I 농도가 감소되는 반대의 경향을 보고하였다. 그러나 이러한 유전자-식이와의 관련성은 남성에서는 관찰되지 않아 유전자 전사율을 낮추는 것으로 알려진 남성 호르몬(androgen) 및 전사율을 증가시키는 것으로 알려진 여성호르몬(estradiol) 등의 호르몬도 영향을 줄 것으로 여겨지고 있다.³⁰⁾

즉 전사조절 부위에 위치한 G-75A의 유전자 다형성은 흡연, 식이내 지방 섭취량, 호르몬 분비 등 유전자 전사율에 영향을 줄 수 있는 여러 요인과의 복합적인 관련성에 의해 여러 연구에서 보고된 결과가 차이나는 것으로 여겨지며 본 연구에서도 apo A-I 농도가 남성에 비해 높게 나타나는 여성에서만 apo A-I 농도와 유전자 다형성과의 관련성이 유의적으로 나타난 것으로 여겨진다.

결론적으로 심혈관계 질환이 동반되지 않은 건강한 성인 남녀에서 *XmnI* 제한 효소 작용부위 유전자 다형성 및 G-75A 유전자 다형성은 서로 강한 상호 연관성을 보이며 남성에서는 중성지방 농도와 여성에서는 apo A-I 농도와 유의한 관련성을 나타냈다. 차후에는 바람직한 혈청 지질농도와 관련한 apo A-I 유전자의 두 가지 유전자 다형성의 A 대립인자의 존재가 관상동맥질환 및 다른 심혈관계 질환의 발생 및 진전에 미치는 영향을 규명하기 위한 연구로 확대되어야 할 것이다.

요 약

배경 및 목적:

HDL 콜레스테롤의 구성 단백질인 Apolipoprotein (apo) A-I의 유전자 다형성은 지질 대사에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 심혈관계 질환이 없는 한국인 성인남녀에서 apo A-I 유전자 다형성과 혈중 지질 농도 및 apo A-I 농도와의 관련성을 분석하였다.

방 법:

417명의(남: 여=169:248, 47.2±10.4세) 건강한

성인 남녀를 대상으로 본 연구를 진행하였다. apo A-I 유전자의 *XmnI* 작용부위와 G-75A 유전자 다형성 분석은 단일염기확장(Single base extension) 방법의 SNPstream 25K system을 이용한 SNP-IT assay 방법으로 실시하였다.

결 과:

Apo A-I의 *XmnI* 제한효소 작용부위의 유전자다형성의 A 대립인자 발현빈도는 남자와 여자에서 각각 0.25, 0.23으로 서양인들의 0.12-0.14에 비해서 높았으며, G-75A 유전자 다형성의 A 대립인자의 빈도는 남자에서 0.19, 여자에서 0.17였고 두 유전자 다형성은 상호 강하게 연관되어 있었다(D': 0.990, p=0.004).

남성에서 *XmnI* 작용부위 유전자 다형성의 A대립인자군의 중성지방 농도는 128±71.1 mg/dL로 GG 유전형의 중성지방 농도 154±81.1 mg/dL보다 유의적으로 낮았으나(p=0.028), 여성에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 여성에서는 A대립인자군의 apoA-I 농도는 GG 유전형에 비해 유의적으로 높았다.

G-75A 유전자 다형성의 A대립인자군의 HDL 콜레스테롤 농도는 남녀모두에서 유전형에 따른 유의적인 차이는 없었다. 그러나 여성에서 A대립인자군의 apo A-I 농도는 141.7±37.3 mg/dL로 GG 유전형에 비해 유의적으로 높았다.

다중회귀분석결과 apo A-I 유전자의 두 가지 유전자 다형성은 남성에서는 혈중 apo A-I 농도와 유의한 관련이 없었으나 여성에서는 HDL 콜레스테롤 농도, 현재 흡연, *XmnI* 작용부위의 유전자 다형성의 A 대립인자는 apo A-I 농도를 유의적으로 증가시키는 인자로 분석되었다.

결 론:

건강한 한국인 성인에서 Apo A-I *XmnI* 작용부위 및 G-75A 유전자 다형성은 유전자 다형성은 남성에서는 중성지방농도와 여성에서는 apo A-I 농도와 유의한 관련성을 나타냈으며 이 두 유전자 다형성은 상호연관되어 있었다.

중심 단어: 아포단백 A-I; 유전자 다형성; HDL 콜레스테롤; 중성지방.

본 연구는 2000보건의료기술 연구개발사업의 연구비(00-PJ3-PG6-GN01-0001)의 지원으로 이루어졌음.

REFERENCES

- 1) Soutar AK, Garner CW, Baker HN, Sparrow JT, Jackson RL, Gotto AM, Smith LC. *Effect of the human plasma apolipoproteins and phosphatidylcholine acyl donor on the activity of lecithin: cholesterol acyltransferase. Biochemistry* 1975;14:3057-64.
- 2) Rubin EM, Krauss RM, Spangler EA, Verstuyft JG, Clift SM. *Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein AI. Nature* 1991;353:265-7.
- 3) O'Connell BJ, Genest J Jr. *High density lipoproteins and endothelial function. Circulation* 2001;104:1978-83.
- 4) Frick MH, Elo O, Haapa K, Heinonen OP, Heinsaimi P, Helo p, Huttunen JK, Kaitaniemi P, Koskinen P, Manninen V. *Helsinki Heart Study: primary prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia: safety of treatment, changes in risk factors and incidence of coronary heart disease. N Engl J Med* 1987;317:1237-45.
- 5) Sigurdsson G Jr, Gudnason V, Sigurdsson G, Humphries SE. *Interaction between a polymorphism of apo A-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I. Arterioscler Thromb* 1992;12:1017-22.
- 6) Wilson PW, Anderson KM, Harris T, Kannel WB, Castelli WP. *Determinants of change in total cholesterol and HDL-C with age. J Gerontol* 1994;49:M252-7.
- 7) Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, Cole TG, Sussex B, Stampfer MJ, Pfeffer MA, Braunwald E. *VLDL, Apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial. Circulation* 2000;102:1886-92.
- 8) Kessling AM, Horsthemke B, Humphries SE. *A study of DNA polymorphism around the human apolipoprotein AI gene in hyperlipidaemic and normal individuals. Clin Genet* 1985;28:296-306.
- 9) Hayden MR, Kirk H, Clark C, Frohlich J, Rabkin S, McLeod R, Hewitt J. *DNA polymorphisms in an around the apo-AI-CIII genes and genetic hyperlipidemias. Am J Hum Genet* 1987;40:421-30.
- 10) Dallinga-Thie GM, Bu XD, van Linde-Siebbius Trip M, Rotter JI, Lusi AJ, De Bruin TW. *Apolipoprotein AI-CIII-AIV gene cluster in familial combined hyperlipidemia: effects on LDL-cholesterol and apolipoproteins B and CIII. J Lipid Res* 1996;37:136-47.
- 11) Wile DB, Barbir M, Gallagher J, Myant NB, Ritchie CD, Thompson GR, Humphries SE. *Apolipoprotein A-I polymorphisms: frequency in patients with coronary artery disease and healthy controls and association with serum apo A-I and HDL cholesterol concentration. Atherosclerosis* 1989;78:9-18.
- 12) Anderson RA, Burns TL, Lee J, Swendon D, Bristow JL. *Restriction fragment length polymorphisms associated with abnormal lipid levels in an adolescent population. Atherosclerosis* 1989;77:227-37.
- 13) Kee F, Amouyel P, Fumeron F, Arveiler D, Cambou JP, Evans A, Cambien F, Fruchart JC, Ducimetiere P, Dallongeville J. *Lack of association between genetic variations of apo AI-CIII-AIV gene cluster and myocardial infarction in a sample of European male. Atherosclerosis* 1999;145:187-95.
- 14) Talmud PJ, Ye S, Humphries SE. *Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein AI gene associated with differences in apolipoprotein AI level. Genet Epidemiol* 1994;11:265-80.
- 15) Saha N, Tay JS, Low PS, Humphries SE. *Guanidine to adenine (G/A) substitution in the promoter region of the apolipoprotein A-I gene is associated with elevated serum apolipoprotein A-I levels in Chinese non-smokers. Genet Epidemiol* 1994;11:255-64.
- 16) Jeenah M, Kessling A, Miller N, Humphries S. *G to A substitution in the promoter region of the apolipoprotein AI gene is associated with elevated serum apolipoprotein AI and high density lipoprotein cholesterol concentrations. Mol Biol Med* 1990;7:233-41.
- 17) Barre DE, Guerra R, Verstraete R, Wang Z, Grundy SM, Cohen JC. *Genetic analysis of a polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene promoter: effect on plasma HDL-cholesterol levels. J Lipid Res* 1994;35:1292-6.
- 18) Marasco O, Melina F, Mele E, Quaresima B, Zingone A, Focarelli E, Picciotti E, Martelli ML, Fotino L, Vigna MF. *Linkage disequilibrium of three polymorphic RFLP markers in the apolipoprotein AI-CIII gene cluster on chromosome 11. Hum Genet* 1993;91:169-74.
- 19) Pagani F, Sidoli A, Giudici GA, Barengi L, Vergani C, Baralle FE. *Human apolipoprotein A-I gene promoter polymorphism: association with hyperalphalipoproteinemia. J Lipid Res* 1990;31:1371-7.
- 20) Larson IA, Ordovas JM, Barnard JR, Hoffmann MM, Feussner G, Lamou-Fava S, Schaefer EJ. *Effects of apolipoprotein A-I genetic variations on plasma apolipoprotein, serum lipoprotein and glucose levels. Clin Genet* 2002;61:176-84.
- 21) Gordon DJ, Rifkind BM. *High density lipoproteins: the clinical implications of recent studies. N Engl J Med* 1989;321:1311-6.
- 22) Rader DJ, Schaefer JR, Lohse P, Ikewaki K, Thomas F, Harris WA, Zech LA, Dujovne CA, Brewer HB Jr. *Increased production of apolipoprotein A-I associated with elevated plasma levels of high-density lipoproteins, apolipoprotein A-I, and lipoprotein A-I in a patient with familial hyperalphalipoproteinemia. Metabolism* 1993;42:1429-34.
- 23) Rader DJ, Hoeg JM, Brewer HB Jr. *Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease. Ann Intern Med* 1994;120:1012-25.
- 24) Zhang Q, Liu Y, Liu BW, Fan P, Cavanna J, Galton DJ. *Common genetic variants of lipoprotein lipase and apolipoproteins AI-CIII that related to coronary artery disease. Mol Genet Metab* 1998;64:177-83.
- 25) Angotti E, Mele E, Costanzo F, Avvedimento EV. *A polymorphism (G to A transition) in the -78 position of the apolipoprotein A-I promoter increases transcription efficiency. J Biol Chem* 1994;269:17371-4.
- 26) Danek GM, Valenti M, Baralle FE, Romano M. *The A/G polymorphism in the -78 position of the apolipoprotein A-I promoter does not have a direct effect on transcriptional efficiency. Biochim Biophys Acta* 1998;1398:67-74.
- 27) Peacock RE, Hamsten A, Johansson J, Nilsson-Ehle P, Humphries S. *Association of genotypes at the apolipoprotein AI-CIII-AIV, apolipoprotein B and lipoprotein lipase gene loci with coronary atherosclerosis and high density lipoprotein subclasses. Clin Genet* 1994;46:273-82.
- 28) Peacock RE, Temple A, Gudnason V, Rosseneu M, Humphries SE. *Variation at the lipoprotein lipase and apolipoprotein AI-CIII gene loci are associated with fasting lipid*

- and lipoprotein traits in a population sample from Iceland: interaction between genotype, gender and smoking status. *Genet Epidemiol* 1997;14:265-82.
- 29) Kamboh MI, Aston CE, Nestlerode CM, McAllister AE, Hamman RF. Haplotype analysis of two APOA1/MspI polymorphisms in relation to plasma levels of apo A-I and HDL-cholesterol. *Atherosclerosis* 1996;127:255-62.
- 30) Ordovas JM, Corella D, Cupples LA, Demissie S, Kelleher A, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker K. Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the APOA1 G-A polymorphism on HDL cholesterol concentrations in a sex-specific manner. *Am J Clin Nutr* 2002;75:38-46.