Original Articles Korean Circulation J 2001;31(6):551-559

관동맥질환 환자에서 저용량 엽산 보충요법이 혈중 호모시스테인 농도에 미치는 영향

충북대학교 의과대학 내과학교실,[1] 임상병리학교실,[2] 산부인과학교실,[3] 의학연구소,[4]
충북대학교 생활과학대학 식품영양학과[5]
박영선[1*] · 조민자[5*] · 전원중[1] · 이혜영[1,4] · 연태진[1,4] · 채희복[1,4]
김기남[5] · 손보라[2,4] · 김동운[1,4] · 김학순[3,4] · 조명찬[1,4]

Influence of Low-Dose Folic Acid Replacement Treatment on Plasma Homocysteine Level in Korean Coronary Artery Disease Patients

Young-Sun Park, MD[1*], Min-Ja Cho[5*], Weon-Jung Jeon, MD[1], Hae-Young Lee[1,4], Tae-Jin Youn, MD[1,4], Hee-Bok Chae, MD[1,4], Ki-Nam Kim, PhD[5], Bo-Ra Son, MD[2,4], Dong-Woon Kim, MD[1,4], Hak-Soon Kim, MD[3,4] and Myeong-Chan Cho, MD[1,4]

[1]Department of Internal Medicine, [2]Clinical Pathology, [3]Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, [4]Medical Research Institute, [5]Department of Food and Nutrition, College of Home Economics, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

ABSTRACT

Background: An elevated plasma homocysteine level (tHcy) is one of the risk factors for coronary artery disease (CAD). It has been demonstrated that low-dose folate supplementation significantly decreased tHcy inhealthy, young women. Homozygosity for cytosine-to-thymine substitation at nucleotide 677 (C677T) in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene appears to be correlated with an elevated tHcy in the situation of low blood folate concentrations. In this study, we evaluated the response gained from low-dose folate treatment on the tHcy and whether genetic variation of the MTHFR gene might influence on the response of the folate treatment in Korean CAD patients. **Methods**: CAD patients (n=43), confirmed by coronary angiography, and controls were analyzed for CAD risk factors including tHcy and MTHFR gene (C677T) polymorphism. Patients were treated daily with 0.25mg folate for 4 weeks and the level of folate and tHcy was reevaluated. **Results**: Low-dose folate treatment for 4 weeks significantly increased the folate level (38%, $p<0.05$), although it did not influence tHcy. CAD patients whose tHcy was decreased with folate replacement (n=21) were characterized by low basal folate level (7.0±2.6 vs 9.1±2.7 nmol/L, $p<0.05$) and high basal tHcy (12.6±4.4 vs 8.6±2.4 μmol/L, $p<0.05$) as compared to the patients whose tHcy was unaffected or increased with folate. tHcy was decreased 11.2 and 12.6% each in patients with high basal tHcy (>10 μmol/L) and low folate levels (<7 nmol/L), however it increased 7.3 and 4.5% in CAD patients with low tHcy and high folate levels ($p<0.05$, each). MTHFR C-677T polymorphism was not a significant contributing factor for tHcy or for the response to folate supplementation. **Conclusion**: Low-dose folate treatment can decrease tHcy in CAD patients with low basal folate level and high

논문접수일 : 2001년 3월 9일
심사완료일 : 2001년 5월 18일
교신저자 : 조명찬, 361 - 711 충북 청주시 흥덕구 개신동 62 충북대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (043) 269 - 6356 · 전송 : (043) 273 - 3252 E - mail : mccho@med.chungbuk.ac.kr

basal tHcy. The C677T MTHFR gene mutation does not influence the effects of low-dose folate supplementation on tHcy in Korean CAD patients. **(Korean Circulation J 2001;31(6):551-559)**

KEY WORDS : Homocysteine · Folate · Coronary artery disease · MTHFR gene.

서 론

고호모시스테인혈증은 심혈관질환이 없는 성인의 5~17%, 관동맥질환 환자의 20~40%에서 동반되며,[1-3] 관동맥질환의 위험인자로 잘 알려진 흡연, 고지혈증, 고혈압, 당뇨 및 가족력 등이 없이도 성인에서 조기에 관동맥질환을 일으키는 위험인자의 하나로 알려져 있다.[4] 고호모시스테인혈증이 관동맥질환의 예후에 미치는 영향에 관해서는 아직 많은 논란이 있지만, Assanelli[5]의 연구에서 고호모시스테인혈증은 관동맥질환 환자군에서 독립적인 사망의 중요한 예측인자라고 보고하였고, Morita 등[6]의 연구에서는 경피적관동맥성형술 후 발생하는 재협착의 강력한 위험인자로 밝혀져 관동맥질환의 2차 예방 및 재협착 방지에 있어서 고호모시스테인혈증 조절의 중요성을 시사하고 있다.

혈중 호모시스테인 농도와 엽산, vitamine B12 사이에 강한 역상관 관계가 있으며,[7][8] 엽산과 vitamine B12의 보충은 혈중 호모시스테인의 농도를 효과적으로 낮추는 능력이 있는 것으로 알려져 있다.[9][10] 이처럼 효과적인 호모시스테인의 대사에는 리보플라빈, vitamine B6, vitamine B12 그리고 엽산 등이 필요한 것으로 알려져 있다. 한편, 고호모시스테인혈증의 원인으로는 여러 효소의 선천적 결핍도 관여하게 되는데, cystathione-β-synthase deficiency 또는 호모시스테인이 메티오닌으로의 remethylation되는데 필요한 효소인 methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)의 열불안정성 돌연변이(cytosine-to-thymine substitution at nucleotide 677, C677T)와 같은 유전자 다형성이 그 중요한 예이다.[1][7][11-13] 이중 MTHFR의 돌연변이 중 C677T 동질접합체(homozygosity)는 MTHFR 효소의 활성도가 감소되어 있어 엽산의 섭취가 불충분할 때 호모시스테인의 혈중 농도가 상승한다고 알려져 있다.[14]

고호모시스테인혈증이 관동맥질환의 위험인자로서 관심을 끄는 이유 중의 하나는 식이요법이나 엽산의 보충 등과 같은 방법으로 교정할 수 있는 위험인자라는 점이다. 전술한 바와 같이 혈중 호모시스테인은 엽산의 영양 상태와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있어서,[8-10][15] 최근 엽산 투여를 통하여 호모시스테인 농도를 낮추기 위한 노력도 이어지고 있는데, 6주 동안 매일 650 μg 이상의 엽산 공급으로 혈중 호모시스테인 농도가 42% 감소되는 것이 알려져 있다.[16] 하지만, 보충된 엽산이 호모시스테인을 메티오닌으로 remethylation시키는데 모두 다 사용되는 것은 아니며,[17] 엽산 보충에 의한 잠재적 독성의 가능성 등이 제기되고 있기 때문에[18-20] 필요한 엽산 보충을 막고 최적의 엽산 보충 농도를 찾는 것이 중요한 과제로 남아 있다. 또한 가능한 낮은 농도의 엽산 투여를 통해 호모시스테인의 혈중 농도를 감소시킬 수 있다면, 엽산의 약제 투여가 아닌 엽산 강화 식품만을 통해서도 충분히 고호모시스테인 혈증을 조절할 수 있을 것이다. 이러한 관점에서 Brouwer 등[21]은 건강한 여성에서 매일 250 μg의 엽산 보충으로 혈중 호모시스테인의 농도를 효과적으로 감소시킬 수 있는 것으로 보고한 바 있다.

따라서, 저자들은 관동맥질환자 및 대조군에서 호모시스테인 및 엽산의 농도를 비교하고, 식생활 습관(특히, 엽산 섭취)과의 관련성을 알아보았으며, MTHFR 열불안정성 효소의 동질 접합체 빈도 및 이들과 호모시스테인, 엽산 농도와의 상관관계를 분석하였다. 또한 환자군에서 250 μg의 저용량 엽산 보충이 혈중 호모시스테인 농도에 미치는 영향과 저용량 엽산 보충으로 호모시스테인 농도가 감소한 군의 특징을 규명하였다.

대상 및 방법

대 상

본원에서 시행한 관동맥조영술에서 하나 또는 그 이상의 주요 관동맥에 50%이상의 유의한 협착이 있는 43명의 환자들과 본원 입원 환자 중 대사성 질환과 임상적으로 또는 심전도상에서 의심되는 심혈관질환 및 고혈압이 없고 혈중 호모시스테인 농도에 영향을 미칠 수 있는 어떠한 vitamine도 공급받은 적이 없는 21명

의 대조군이 대상이 되었으며, 기존의 갑상선 질환, 간 질환 또는 신장 기능 이상 및 약물 복용을 요하는 만성 질환이나 현재 임신중인 경우는 제외되었다. 이들을 대상으로 전향적인 연구를 시행하였다.

방 법

임상정보 조사

환자군과 대조군을 대상으로 평소 식이를 포함한 생활습관에 대해 영양사가 직접 설문조사를 하였다. 나이, 성별, 고콜레스테롤 혈증, 고혈압, 당뇨, 흡연을 포함하여 주요 관동맥질환 위험인자들을 조사하였고, 환자군은 엽산 250 μg을 한 달 동안 복용하였다.

혈중 호모시스테인, 엽산의 농도 측정

검체의 채취는 12시간 금식 후 공복상태에서 Vacutainer system(Becton Dickinson Co., LTD, USA)을 사용하였으며, SST tube에 전혈 7 ml을 분주하여 30분 실온에서 방치한 후 원심분리(3000 rpm, 10 min)하여 상층액인 혈청을 분리하였고, -70℃에 보관한 후 분석에 사용하였다.

혈중 호모시스테인 농도 측정

호모시스테인의 측정은 microparticle enzyme immunoassay method(MEIA, method, Abbott, USA)을 사용하였다. 먼저 dithioreitol(DDT)를 이용하여 혈장 단백과 기타 물질들에 결합되어 있는 호모시스테인을 하나의 형태로 환원시키고 SAH-hydrolase 효소를 이용하여 adenosine을 결합시켜서 SAH(S-adenosylhomocysteine)로 변환시킨 다음 형광물질을 결합한 tracer와 SAH에 대한 단일클론항체를 반응시키면 SAH와 tracer가 단일클론항체를 놓고 서로 경쟁반응을 일으키게 된다. 호모시스테인의 농도는 형광의 세기를 측정하여 구하였다.

혈중 엽산 농도 측정

엽산의 농도는 ion capture assay(ICA)를 이용한 MEIA법을 사용하여 측정하였다. 단클론항체와 결합된 folate binding protein(FBP)는 음전하의 analyte complex를 형성하게 되며 이 복합체는 electrostatic interaction에 의해 양전하의 matirix에 capture된다. 검체 내의 엽산 유리물질인 sodium hydroxide와 DTT를 사용하여 내인성 FBP으로부터 유리시키면 검체내 엽산은 복합체의 FBP와 결합한다. Unoccupied FBP를 pteroic acid(folate analogue)와 alkaline phosphatase의 conjugate와 반응시키며 이것을 MEIA optical assembly에 의한 형광물질 측정으로 정량화하였다.

MTHFR 유전자 검사

전혈 250 μL에서 phenol/chlorform 방법으로 분리한 DNA 표본을 sense primer(5'-TGAAGG AGA-AGGTGTCTGCGGGA-3')와 antisense primer(5'-AGGACGGTGAGAGTG-3')를 사용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 시행하였다. 198bp 생성물을 증폭시키기 위해 95℃에서 60초 동안 변성시킨 후 62℃에서 90초 동안 아닐링을 시킨 다음 72℃에서 60초 동안 연장반응을 시행하는 과정을 35회 반복하였다. 증폭된 단편들은 37℃에서 3~4시간 동안 C677T 변이를 인식할 수 있는 제한효소인 *Hinf*I(10unit/reaction mixture)로 분해하였다. A(Ala) 대립 유전자(allele)에서 얻어진 198 bp 단편은 *Hinf*I로 분해되지 않는 반면에, V(Val) allele에서 얻어진 같은 길이의 단편들은 175 bp와 23 bp 단편으로 분해되었다. 이후 *Hinf*I으로 처리한 단편들은 2.5% agarose gel로 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 유전자형을 관찰하였다.

통계분석

연구 결과는 SPSS를 이용하여 통계 처리하였다. 관동맥질환 환자군과 대조군 사이의 혈중 호모시스테인과 엽산 농도를 포함한 다른 임상정보들의 비교 및 저용량 엽산 보충 후 혈중 호모시스테인 농도 감소를 보인 군과 증가를 보인 군의 혈중 호모시스테인과 엽산 농도의 비교도 student t-test를 이용하였다. 혈중 호모시스테인 농도 및 엽산 농도에 따른 저용량 엽산 보충의 효과 또한 student t-test를 이용하였다. 혈중 호모시스테인과 엽산농도간의 상관관계는 linear regression으로 검정하였다. 관동맥 질환 환자군과 대조군 사이의 MTHFR 유전자형 빈도의 차이는 χ^2-test를 이용하여 검정하였으며 저용량 엽산 보충에 의한 혈중 호모시스테인 농도변화와 임상 인자및 관동맥질환 위험인자간의 상관관계를 분석(Pearson's correlation

coefficients)하였고, 모든 수치는 평균±표준편차로 표현하였고 p 값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의하다고 보았다.

결 과

임상양상 비교

관동맥질환 환자군의 평균 나이는 61.3±9.6세였고 대조군의 평균 나이는 53.4±10.8세였으며. BMI는 각각 24.3±3.3, 21.7±3.7 kg/m^{2}로 환자군에서 유의하게 높았다(p<0.01). 가족력, 음주의 경우 관동맥질환 환자군에서 상대적으로 많은 빈도(p<0.05)를 보였으나 흡연과 열량 섭취량, 운동량 그리고 엽산의 섭취량 및 섭취 빈도는 두 군 사이에 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 당뇨는 두 군 사이에 큰 차이를 보이지 않았지만, 혈압, 총 혈중 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 중성지방은 대조군에 비해 환자군에서 유의하게 높았다(p<0.05). 혈중 호모시스테인과 엽산농도는 관동맥질환 환자군에서 각각 10.7±4.1, 8.0±2.8 nmol/L, 대조군에서 각각 9.6±4.5, 7.7±3.8 nmol/L로 두 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

한편, 관동맥질환 환자군(r=-0.62) 및 대조군(r=-0.54)에서 혈중 호모시스테인과 엽산농도는 모두 음의 상관관계를 보였다(Fig. 1).

각 군에서 MTHFR의 열불안정성효소인 동질접합체 빈도

환자군 43명 중 MTHFR 유전자의 열불안정성 돌연변이의 발생빈도는 동질접합체가 7명(16.3%), 이형접합체가 18명(41.9%), wild type은 18명(41.8%)였으며, 대조군 21명 중 동질접합체는 4명(19.1%), 이형접합체는 10명(47.6%), wild type은 7명(33.3%)으로 관동맥질환 환자군과 대조군에서 MTHFR의 유전자형

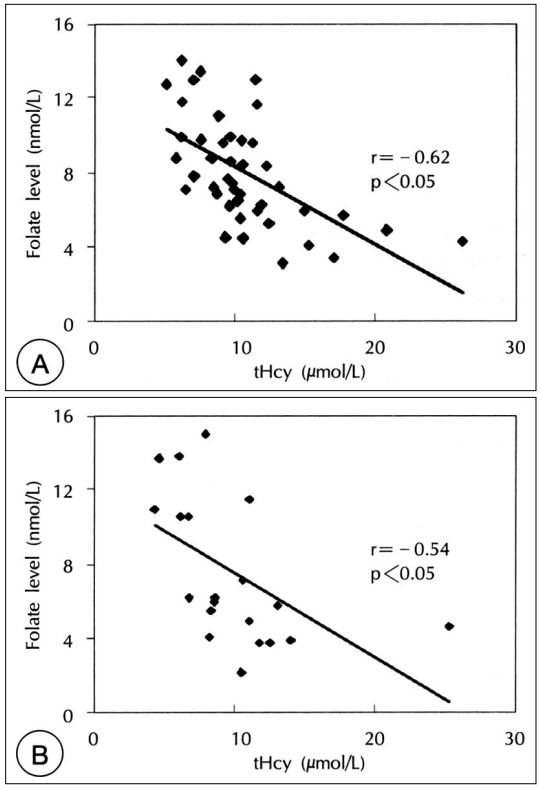

Fig. 1. Correlation between tHcy and folate level in CAD patients (A) and in controls (B) (p<0.05).

Table 1. Baseline characteristics and homocysteine and folate level

	환자군 (n=43)	대조군 (n=21)	p
Age (years)	61.3± 9.6	53.4± 10.8	<0.005
BMI (kg/m^2)	24.3± 3.3	21.7± 13.7	<0.01
SBP (mmHg)	130.5± 16.1	112.4± 14.5	<0.0001
DBP (mmHg)	77.6± 11.1	70.0± 8.4	<0.01
알코올 섭취량 (주당횟수)	3.4± 0.8	2.8± 1.3	<0.02
흡연량 (cigarettes/day)	6.2± 10.4	18.2± 11.0	NS
열량 섭취량 (칼로리)	1381.3±343.2	1420.9±412.2	NS
엽산 섭취량 (μg/day)	95.5± 46.6	102.6± 61.1	NS
호모시스테인 농도 (μmol/L)	10.7± 4.1	9.6± 4.5	NS
엽산 농도 (nmol/L)	8.0± 2.8	7.7± 3.8	NS
총콜레스테롤 (mg/dL)	190.3± 33.9	141.0± 41.5	<0.0001
LDL-콜레스테롤 (mg/dL)	111.6± 34.3	85.7± 34.2	<0.01
중성지방 (mg/dL)	163.4± 57.4	119± 44.3	<0.005

빈도는 유의한 차이를 보이지 않았으며, MTHFR의 유전자형에 따른 혈중 호모시스테인 농도도 통계학적인 차이가 없었다.

저용량의 엽산 보충 후 혈중 엽산과 호모시스테인의 농도변화

관동맥질환군에서 저용량의 엽산 보충 후 혈중 엽산 농도 변화 및 변화율(%)은 각각 3.0±2.3 nmol/L(p=0.0001) 및 48.9±55%(p=0.0001)로 통계학적으로 유의한 증가를 보였다. 그러나, 혈중 호모시스테인의 농도변화와 변화율(%)은 각각 -0.4±2.7 μmol/L(p=0.32), -0.8±20.22%(p=0.84)로 유의한 감소를 보이지는 않았다.

저용량 엽산 보충으로 혈중 호모시스테인 농도 감소를 보인 군과 감소를 보이지 않은 군의 임상적 특징

감소를 보인 군(감소군)은 관상동맥 질환 환자군 43명중 21명으로, 250 μg의 엽산 보충 후 혈중 호모시스테인 농도가 평균 2.02 μmol/L 감소하였으며, 감소군의 기저 혈중 호모시스테인 농도는 12.6±4.4 μmol/L로 감소를 보이지 않은 군(비감소군)의 혈중 호모시스테인 농도인 8.6±2.4 μmol/L보다 상대적으로 유의하게 높았다(p<0.001). 또한 감소군(7.0±2.6 nmol/L)은 비감소군(9.1±2.7 nmol/L)에 비해 혈중 엽산농도가 상대적으로 낮았다(p<0.01).

감소군과 비감소군간의 기저 혈중 호모시스테인 농도와 엽산 농도 이외의 다른 관동맥질환 위험인자 및 관동맥조영술에서의 협착 정도는 통계학적으로 의미 있는 차이가 없었다.

혈중 호모시스테인 농도 및 엽산 농도에 따른 저용량 엽산 보충의 효과

기저 혈중 호모시스테인 농도 및 엽산 농도에 따른 저용량 엽산 보충 요법의 효과를 알아보기 위해, 혈중 호모시스테인 농도 및 엽산 농도의 중간값인 10 μmol/L와 7 nmol/L로 대상 환자군을 나누어 치료의 효과를 알아보았다. 기저 혈중 호모시스테인 농도가 10 μmol/L이상인 고호모시스테인군의 저용량 엽산 치료 후 혈중 호모시스테인 농도는 평균 11.2±0.4% 감소하여, 혈중 호모시스테인 농도가 10 μmol/L 이하인 저호모시스테인군에서 7.3±2.7% 증가한 것과 비교하여 유의한 차이를 나타내었으며(p<0.05, Fig. 2), 기저 혈중 엽산 농도가 7 nmol/L이하인 저엽산군에서 엽산 치료 후 혈중 호모시스테인 농도는 평균 12.6±3.4% 감소하여 혈중 엽산 농도 7 nmol/L이상인 고엽산군의 4.5±2.9% 증가와 비교하여 유의한 차이를 나타내었다(p<0.05, Fig. 3).

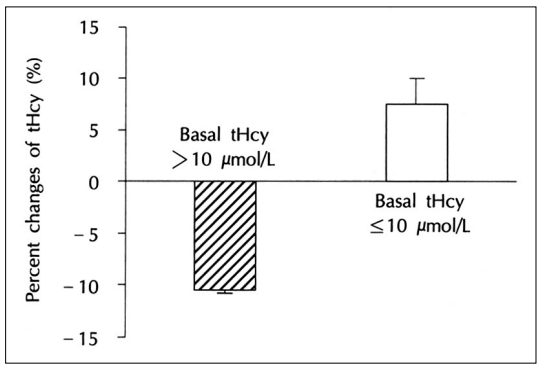

Fig. 2. Percent changes of tHcy after low dose folate replacement in patients with high basal tHcy (>10 μmol/L) and low basal tHcy (≤10 μmol/L) (p<0.05).

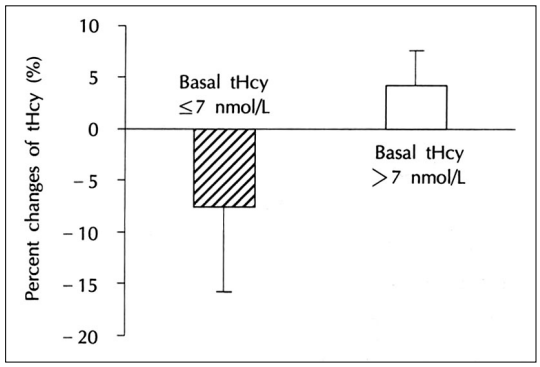

Fig. 3. Percent changes of tHcy after low-dose folate replacement in patients with high basal folate level (>7 nmol/L) and low basal folate level (≤7 nmol/L) (p<0.05).

Table 2. Influence of MTFHR genotype on tHcy changes after low-dose folate replacement

Genotype	혈중호모시스테인 농도 변화 (μmol/L)
Homozygote	-1.48±5.7
Wild type	0.18±1.5
Heterozygote	-0.59±1.9

고호모시스테인군과 저호모시스테인군, 그리고 고엽산군과 저엽산군간의 기저 혈중 호모시스테인 농도와 엽산 농도 이외 다른 임상인자와 관동맥질환 위험인자 및 관동맥조영술에서의 협착 정도는 통계학적으로 의

미 있는 차이가 없었다.

MTHFR 돌연변이와 혈중 호모시스테인 농도 변화와의 관련성

MTHFR 동형접합체에서 저용량 엽산 보충에 의해 혈중 호모시스테인 농도가 더 많이 감소하는 경향이 있었으나 통계적인 유의성은 없었다(p=0.38, Table 2).

고 안

증가된 혈중 호모시스테인은 관동맥질환이나 뇌혈관질환 등을 유발하는 혈관 협착과 연관된다. 이의 정확한 기전은 확실하지는 않지만 내피에 대한 직접적인 독성,[11)22)23)] nitric oxide의 생성 저하, nitric oxide의 분해 증가 또는 혈관평활근 세포의 증식 자극[24)] 및 thrombomodulin 발현의 downregulation, factor V의 활성화, protein C 활성 억제의 결과로 발생하는 과응고상태(hypercoagulable state)[25)]와 그 외 증가된 혈소판 응집 등으로 설명하고 있다.[26)] 또한 이와 같은 혈관확장 장애와 혈전생성촉진 이외에도 LDL 콜레스테롤의 산화를 촉진시켜 혈관내피세포의 산화성 손상을 유발하는 것으로 알려져 있다.[27)28)] 외국의 경우 관동맥질환자의 20~40% 정도가 고호모시스테인 혈증인 것으로 알려져 있으며[29)] 혈중 호모시스테인의 농도를 측정한 연구들에서 대조군과 비교하여 혈중 호모시스테인의 농도가 더 높은 것으로 알려져 있다.[30-33)] 그러나, Alfthan 등[34)]의 보고와 같이 고호모시스테인혈증이 관동맥질환과 상관이 없다는 상반된 결과도 있다. 국내의 연구를 보면, Kim 등[35)]의 연구에서는 환자군의 혈중 호모시스테인 농도가 평균 9.6 μmol/L 로 대조군의 5.9 μmol/L와 비교하여 유의한 차이(p<0.001)를 보였으며 Han 등[4)]은 환자군에서 14.9 μmol/L, 대조군에서 10.8 μmol/L(p<0.05)로, Lee 등[36)]은 심근경색 환자군에서 11.3 μmol/L, 대조군에서 6.35 μmol/L(p<0.001)로 보고하여 모두 환자군이 대조군과 비교하여 유의하게 혈중 호모시스테인 농도가 높았다. 그러나, 본 연구에서는 환자군의 기저 혈중 호모시스테인 농도는 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었다. 본 연구의 결과가 국내의 다른 연구와는 다른 양상을 보이는 이유로서는 본 연구의 환자군에서 혈중 엽산 농도가 좀 더 높았다는 점을 들 수 있겠다. 즉, 본 연구에서는 환자군의 엽산농도가 8.0±2.8 nmol/L로서 대조군의 7.7±3.8 nmol/L와 비교하였을 때 유의한 차이가 없었으며, 일일 엽산 섭취량 또한 환자군이 95.5 μg, 대조군이 102.6 μg으로 차이가 없었다. 한편, Han 등의 연구에서는 환자군의 혈중 엽산 농도는 대조군에 비해 유의하게 낮은 값을 보이고(6.7±3.6 vs 11.0±5.7 nmol/L, p<0.05) 있으며[4)] 비록 통계적인 유의성은 없으나, Lee 등[36)]의 연구와 Kim 등[35)]의 연구에서 모두 환자군이 대조군과 비교하여 혈중 엽산 농도가 낮은 경향을 보였다. 본 연구에서 환자군과 대조군 사이에 혈중 호모시스테인 농도 및 엽산 농도에 차이가 없는 이유가 지역적 특성 혹은 식이 습관의 차이에 의한 것인지는 대상환자의 수가 적은 이유인지는 확실하지는 않으며, 향후 지역적 차이 혹은 엽산 섭취량에 따른 관동맥질환의 발병률에 차이가 있는지에 대한 대규모 연구가 필요할 것으로 생각된다.

한편, 본 연구에서 MTHFR의 동질 접합체의 빈도는 관동맥질환 환자군에서 16.3%, 대조군에서 19.1%로 두 군간에 차이가 없었다. 미국이나, 일본, 캐나다등에서는 전 인구의 5~12%가 열불안정성 효소의 동질접합체(homozygote)로 보고되어 있고, 이러한 동질접합체인 경우 호모시스테인의 혈중농도가 높고 심혈관질환의 위험도도 증가하는 것으로 알려져 있다.[37)] 국내에서는 Moon 등[14)]의 연구에서 동질접합체의 빈도가 관동맥질환 환자군에서는 20%, 대조군에서는 14%로, 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이를 보이지는 않았지만, 관동맥질환 환자군에서 동질접합체의 경우에는 혈중 호모시스테인의 농도가 wild type에 비하여 통계학적으로 유의하게 높아(p<0.01) 어느 정도의 연관성은 있었다. 그러나, 돌연변이 자체가 심혈관계질환 위험도를 증가시키지는 않는다는 반론도 있는데, Brattstrom 등[38)]은 MTHFR 돌연변이 중 동질접합체는 혈중 엽산 농도가 평균 이하 농도를 보일 경우에만 경한 고호모시스테인 혈증을 유발하며 심혈관질환의 빈도를 증가시키지는 않는다고 주장하였고, 이들에 의해 시행된 meta-analysis에서는 TT genotype의 빈도는 혈관질환의 유무에 상관없이 차이를 보이지 않았다.[37)] 또한, 전술한 바와 같이 동질 접합체는 엽산의 투여가 부족할 경우에만 혈중 호모시스테인 농도를 올리는 것으로 알려져 있기 때문에[39)40)] 본 연구의 경우와 같이 기저 혈중 엽산 농도가 높은 경우에는 동질접합체에 의한

효과가 나타나지 않을 수 있을 것으로 보인다.

이미 잘 알려진 바와 같은 혈중 호모시스테인 농도와 엽산 농도와의 역상관 관계와 함께, 관동맥환자군과 대조군 사이에 혈중 엽산 농도의 차이가 없을 때에는 두 군 사이에 호모시스테인의 농도가 차이가 없으며 MTHFR 유전자의 다형성도 호모시스테인의 농도에 영향을 주지 않을 수 있다는 본 연구의 관찰은, 적절한 엽산 공급이 호모시스테인의 대사에 매우 중요하다는 것을 다시 한번 시사하는 것으로 생각된다. 이에 저자들은 저용량의 엽산 보충이 호모시스테인 농도에 미치는 효과를 알아보고자 하였다. 4주 동안 매일 250 μg의 저용량 엽산을 관동맥질환 환자군에게 보충하였을 때 혈중 호모시스테인 농도는 감소하는 경향은 보였으나 통계학적인 의미는 없었다. 그러나, 초기 혈중 호모시스테인 농도가 상대적으로 높고 초기 혈중 엽산 농도가 상대적으로 낮은 관동맥질환 환자들은 저용량 엽산의 보충을 통해 혈중 호모시스테인 농도가 감소되었다.

호모시스테인 농도가 높을수록 엽산 보충 요법에 의한 호모시스테인 감소 효과가 크다라는 연구 결과는 Brouwer 등[21] 및 Ward 등[41]의 연구에서도 나타난 바 있으며, 아마도 이러한 현상 때문에 기저 호모시스테인의 농도가 그다지 높지 않았던 본 연구의 대상 환자에서 저용량의 엽산 보충이 큰 효과를 보이지 않았었던 것으로 생각된다. 그러나, 초기 혈중 엽산 농도가 높고 혈중 호모시스테인 농도가 높지 않은 환자에게서 저용량의 엽산 보충이 전혀 효과가 없는지에 대해서는, 본 연구의 엽산 투여기간이 4주간에 불과하기 때문에 이 연구만으로 결론을 내릴 수는 없을 것으로 생각된다.

결론적으로 저용량의 엽산 보충 요법을 통하여 낮은 혈중 엽산 농도와 높은 혈중 호모시스테인 농도를 가진 관동맥질환 환자에서 혈중 호모시스테인 농도를 감소시킬 수 있을 것으로 보인다. 향후 저용량 엽산 보충요법과 고농도 엽산 보충요법의 효과에 대한 비교가 필요할 것이며, 저용량 엽산 보충이 환자의 예후를 향상시킬 수 있는지에 대한 장기적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :
혈중 호모시스테인의 농도가 높을수록 관동맥질환의 발생이 증가하며, 엽산 보충으로 혈중 호모시스테인 농도를 감소시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 관동맥질환 환자에서 저용량의 엽산 보충 요법이 혈중 호모시스테인 농도에 미치는 영향 및 이와 연관된 인자들을 알아보고자 하였다.

방 법 :
관동맥조영술로 증명된 관동맥질환 환자군 43명과 대조군 21명에서 혈중 호모시스테인 농도, 엽산 농도를 포함한 관동맥질환의 위험인자 및 methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) 유전자의 돌연변이(C677T)의 빈도를 측정하였다. 환자군은 0.25 mg의 엽산을 하루에 한번씩 4주간 복용하도록 한 후 혈중 호모시스테인과 엽산 농도를 재측정하였다.

결 과 :
관동맥질환 환자군 및 대조군 모두에서 혈중 엽산 농도와 혈중 호모시스테인 농도는 음의 상관관계를 보였다($p<0.05$). 환자군에서 0.25 mg의 엽산을 복용하게 한 후 측정한 혈중 엽산 농도는 유의하게 증가하였으나(38%, $p<0.05$), 혈중 호모시스테인 농도는 유의한 변화가 없었다. 혈중 호모시스테인 농도가 감소하였던 환자군(감소군)과 증가하였던 환자군(증가군)을 비교하였을 때, 감소군은 기저치 혈중 엽산 농도가 증가군에 비해 유의하게 낮았으며(7.0±2.6 vs. 9.1±2.7 nmol/L, $p<0.05$), 기저 혈중 호모시스테인 농도는 유의하게 높았다(12.6±4.4 vs. 8.6±2.4 μmol/L, $p<0.05$). 기저 혈중 호모시스테인 농도가 10 μmol/L 이상으로 높았거나 기저 혈중 엽산 농도가 7 nmol/L 이하로 낮았던 환자군에서 저용량 엽산 보충 후 혈중 호모시스테인 농도는 각각 11.2% 및 12.6% 감소하여 기저 호모시스테인 농도가 낮거나 엽산 농도가 높았던 환자군에서 호모시스테인 농도가 각각 7.3% 및 4.5% 증가한 것과 비교하여 유의한 차이를 나타내었다($p<0.05$, each). MTHFR C677T 돌연변이는 호모시스테인 농도 변화에 유의한 영향을 미치지는 않았다.

결 론 :
저용량의 엽산 보충 요법을 통하여 낮은 혈중 엽산 농도와 높은 혈중 호모시스테인 농도를 가진 관동맥질환 환자에서 혈중 호모시스테인 농도를 감소시킬 수 있었다. 향후 이러한 치료가 관동맥질환의 2차 예방에 미치는 효과에 대한 장기적인 추적 관찰이 필요할 것으로 생각된다.

중심 단어 : 관동맥질환 · 호모시스테인 · 엽산 · MTHFR.

본 연구는 2000년도 충북대학교병원 임상공동연구비의 일부 지원으로 이루어졌음.

*Park YS and Cho MJ contributed equally to this work.

REFERENCES

1) Malinow MR, Sexton G, Averbuch M, Grossman M, Wilson D, Upson B. *Homocysteinemia in daily practice: levels in coronary artery disease. Circulation 1990;1:215-20.*
2) Clarke R, Daly L, Robinson K, Nauhgten E, Cahalane S, Fowler B, *et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. N Engl J Med 1991;324: 1149-55.*
3) Ubbink JB, Vermaak WJ, Bennett JM, Becker PJ, van Staden DA, Bissbort S. *The prevalence of homocysteinemia and hypercholesterolemia in angiographically defined coronary heart disease. Klin Wochenschr 1991;69:527-34.*
4) Han SW, Ryu KH, Kwon YB, Park WJ, Jang MG, Hong KS, *et al. Serum Total Homocysteine as a Risk Factor for Patients with Coronary Artery Disease. Korean Circ J 1998; 28:1953-63.*
5) Assanelli D. *Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factor and C-reactive protein in patients with angiographycally defined coronary artery disease. Ital Heart J 2001;2 (1 Suppl):81-2.*
6) Morita H, Kurihara H, Kuwaki T, Hamada C, Kitaoka M, Suzuki S, *et al. Homocystine as a risk factor for restenosis after coronary angioplasty. Thromb Haemost 2000;84: 27-31.*
7) Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J Jr. *Plasma total homocysteine in healthy subjects; sex-specific relation with biological traits. Am J Clin Nutr 1996;64:587-93.*
8) Riddell LJ, Chisholm A, Williams S, Mann JI. *Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. Am J Clin Nutr 2000;71:1448-54.*
9) Biasioli S, Schiavon R. *Homocystine as a cardiovascular risk factor. Blood Purif 2000;18:177-82.*
10) McKinley MC. *Nutritional aspects and possible pathological mechanisms of hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. Proc Nutr Soc 2000; 59:221-37.*
11) Selhub J, Miller JW. *The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. Am J Clin Nutr 1992;55:131-8.*
12) Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PW, Sora H. *Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. Circulation 1993;88:1463-9.*
13) Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A, *et al. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. Circulation 1995;92:2825-30.*
14) Moon KW, Chung WS, Youn HJ, Back SH, Yoo KD, Oh YS, *et al. The frequency distribution of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) polymorphism and association between the genotypes and yotal homocysteine level in patients with coronary artery disease. Korean Circ J 1999;29:781-7.*
15) Bunout D, Garrido A, Suazo M, Kauffman R, Venegas P, de la Maza P, *et al. Effects of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. Nutrition 2000;16: 107-10.*
16) Ubbink JB. *The role of vitamins in the pathogenesis and treatment of hyperhomocysteinemia. J Inherit Metab Dis 1997;20:316-25.*
17) Kelly P, McPartlin J, Goggins M, Weir DG, Scott JM. *Unmetabolized folic acid in serum: acute studies in subjects consuming fortified food and supplements. Am J Clin Nutr 1997;65:1790-5.*
18) Savage DG, Lindenbaum J. *Folate-cobalamin interactions. In: Bailey LB, ed. Folate in health and disease. New York: Marcel Dekker;1995. p.237-85.*
19) Campbell NR. *How safe are folic acid supplements? Arch Intern Med 1996;156:1638-44.*
20) Tamura T. *Nutrient interaction of folate and zinc. In: Bailey LB, ed. Folate in health and disease. New York: Marcel Dekker;1995. p.287-312.*
21) Brouwer IA, van Dusseldorp M, Thomas CM, Duran M, Hautvast JG, Eskes TK, *et al. Low-dose folic acid supplementation decrease plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. Am J Clin Nutr 1999;69:99-104.*
22) Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. *Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. Thromb Res 1980;18:113-21.*
23) Sydow K, Boger RH. *Homocysteine, endothelial dysfunction and cardiovascular risk: pathomechanisms and therapeutic options. Z Kardiol 2001;90:1-11.*
24) Carmody BJ, Arora S, Avena R, Cosby K, Sidawy AN. *Folic acid inhibits homocysteine-induced proliferation of human arterial smooth muscle cells. J Vasc Surg 1999;30: 1121-8.*
25) McCully KS. *Homocysteine and vascular disease. Nat Med 1996;2:386-9.*
26) Stubbs PJ, Al-Obaidi MK, Conroy RM, MusB, Collinson PO, MRCPath, *et al. Effect of plasma homocysteine concentration on early and late events in patients with acute coronary syndromes. Circulation 2000;102:605-10.*
27) Bunout D, Garrido A, Suazo M, Kauffman R, Venegas P, de la Maza P, *et al. Effect of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. Nutrion 2000;16: 107-10.*
28) Cordoba-Porras A, Sanchez-Quesada JL, Gonzalez-Sastre F, Ordonez-Llanos J, Blanco-Vaca F. *Susceptibility of plasma low-and high-density lipoproteins to oxidation in patients with severe hyperhomocysteinemia. J Mol Med 1996;74:771-6.*
29) Jones BG, Rose FA, Tudball N. *Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity. Atherosclerosis 1994;105: 165-70.*
30) Loscalzo J. *The oxidant stress of hyperhomocysteinemia. J Clin Invest 1996;98:5-7.*
31) Parodi PW. *The French paradox unmasked: the role of folate. Med Hypotheses 1997;49:313-8.*
32) Duell PB, Malinow MR. *Homocysteine: An important risk*

factor for atherosclerotic vascular disease. Curr Opin Lipidol 1997;8:28-34.

33) Blacher J, Montalescot G, Ankri A, Chadefaux-Vekemans B, Benzidia R, Grosgogeat Y, *et al. Hyperhomocysteinemia in coronary artery disease. Apropos of a study on 102 patients. Arch Mal Coeur Vaiss 1996;89:1241-6.*
34) Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RC, Alvarez JO, *et al. Plasma homocysteine, folate, and vitamine B12 concentrations and risk for early onset coronary artery disease. Am J Clin Nutr 1994;59:940-8.*
35) Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, Patkaniemi J, Karvonen M, Tuomilehto J, *et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. Atherosclerotisis 1994;106:9-19.*
36) Kim CH, Choi TM, Chang SG, Hong SY. *Plasma homocysteine, folate and vitamine B concentrations in coronary Aatery disease. Korean Circulation J 1998;28:516-22.*
37) Lee EM, Oh DJ, Rhee HJ, Kim EJ, Kim SM, Hwang GS, *et al. Plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in young age: relation with vitamine B6, B12, and folate. Korean Circulation J 1998;28:1307-13.*
38) Brattstrom L, Zhang Y, Hurtig M, Refsum H, Ostensson S, Frasson L, *et al. A common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and longevity. Atherosclerosis 1998;141:315-9.*
39) Brattstrom L, Brudin L, Wilcken DE, Ohrvik J. *MTHFR gene and coronary artery disease. Circulation 2000;101: 172.*
40) Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frost P, Selhub J, Horsford J, *et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. Circulation 1996;94: 2410-6.*
41) Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, *et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. Circulation 1996;93:7-9.*
42) Ward M, McNulty H, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. *Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. QJM 1997;90:519-24.*