Original Articles Korean Circulation J 2001;31(10):973-981

한국 성인남성에서 혈관내피 NO 생산효소 Glu298Asp 유전자다형성과 급성 심근경색증의 연관성

가톨릭대학교 의과대학 가정의학교실,[1] 예방의학교실,[2] 내과학교실[3]
최창진[1] · 이강숙[2] · 백상홍[3] · 승기배[3] · 정욱성[3] · 채장성[3] · 맹광호[2] · 최규보[3]

Association of Endothelial NO Synthase Gene Glu298Asp Polymorphism with Acute Myocardial Infarction

Chang-Jin Choi, MD[1], Kang-Sook Lee, MD[2], Sang-Hong Baek, MD[3], Ki-Bae Seung, MD[3], Wook-Sung Chung, MD[3], Jang-Seong Chae, MD[3], Kwang-Ho Meng, MD[2] and Kyu-Bo Choi, MD[3]

[1]Department of Family Medicine, [2]Department of Preventive Medicine, [3]Department of Internal Medicine, College of Medicine, Catholic University, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives：Several studies have suggested that endothelial nitric oxide synthase (eNOS) Glu 298Asp polymorphism is associated with coronary heart disease. We evaluated the relationship between eNOS Glu298Asp polymorphism and the various risk factors for myocardial infarction. **Materials and Method**：The study comprised 102 acute myocardial infarction (AMI) male patients under 65 years of age, and 112 age matched healthy male controls. The eNOS genotypes were determined from blood lymphocyte DNA samples using the PCR-RFLP method. **Results**：There was no difference in the incidence rate of eNOS Glu298Asp polymorphism between the two groups, eNOS Glu298Asp polymorphism was not found to be an independent risk factor for AMI. However smoking, smoking frequency, hypertension, hypercholesterolemia, high fasting sugar and low HDL-cholesterol were all determined to be independent risk factors (phaving the eNOS GG genotype, smokers were at a 3 fold greater risk of AMI than nonsmokers ($p=0.0413$), and among those having the eNOS TT or GT genotypes, the risk was increased 15 fold ($p=0.0271$). Among the subjects having the eNOS GG genotype, the risk of AMI within the high risk group was 21.9 fold greater than that within the low risk group ($p=0.0001$), and as for the subjects having the eNOS TT or GT genotypes, the high risk group was at 31.9 fold greater risk of AMI than the low risk group ($p=0.0089$). **Conclusion**：The eNOS TT and GT genotypes demonstrated a synergistic effect with smoking and high risk group in terms of AMI risk. **(Korean Circulation J 2001;31(10):973-981)**

KEY WORDS：Myocardial infarction；Synthase, nitric-oxide；Polymorphism.

서 론

최근 endothelial nitric oxide synthase(eNOS) 유전자다형성(polymorphism)이 관상동맥질환의 발병과 관련된다고 보고되었다. eNOS는 혈관내벽의 일산화질소(nitric oxide, NO) 생산을 결정하는 주요 효소로, 인

논문접수일 : 2001년 7월 31일
심사완료일 : 2001년 9월 6일
교신저자 : 이강숙, 150 - 713 서울 영등포구 여의도동 62 가톨릭대학교 의과대학 예방의학교실
전화 : (02) 3779 - 1938 · 전송 : (02) 782 - 6017 · E - mail : leeks@cmc.cuk.ac.kr

간 eNOS 유전자는 7q 35 - 36 염색체에 위치하며 26개의 exon으로 구성되어 있으며,[1)2)] eNOS locus는 혈중 NO 농도를 조절하는데 관여한다고 보고되었다.[3)] NO는 혈관확장을 야기하고 혈관 평활근세포의 증식과 혈소판 및 단핵구세포가 혈관내벽에 흡착하는 것을 방해하며 활성화 산소를 제거하는 역활을 하므로,[4 - 7)] eNOS에 이상이 생길 경우 동맥경화가 촉진되고 혈전의 위험이 증가하여 급성심근경색을 일으킬 가능성이 있음을 시사한다.[8)] 또한 고콜레스테롤혈증,[9)] 고혈압,[10)] 당뇨병,[11)] 흡연[12)] 등 관상동맥의 위험인자를 가진 경우에, NO에 의해 야기되는 혈관내벽의 기능이상이 죽종(atheroma)을 형성하는 기전으로 제시되었다.

eNOS Glu298Asp 유전자다형성은 일차성 고혈압,[13)] 관상동맥경련,[14)] 관상동맥의 동맥경화와 심근경색증[15)]과 관련이 있다는 보고가 있으나, 인종적인 차이가 있음이 알려져 있다. 즉, 일본인과 영국인에서 심근경색증과 관련이 있다고 보고하였고,[15 - 17)] 호주인에서는 관련성이 없다고 보고하였다.[18)] 그러나 한국인을 대상으로 eNOS Glu298Asp 유전자다형성과 심근경색증과의 관련성에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다.

우리나라는 허혈성심질환으로 인한 사망률이 인구 10만 명당 1989년 9.0명에서 1998년 16.3명으로 증가추세에 있으며, 여성의 허혈성심질환 사망률은 1990년대 이후 별 변동이 없는데 반해, 남성의 사망률은 특히 30대 후반에서 50대까지 활동이 왕성한 장년층에서 증가추세에 있다.[19)]

이에 저자는 순환기질환의 유전적 위험인자로 최근 대두되고 있는 eNOS Glu298Asp 유전자다형성과 기존의 관상동맥 위험인자와의 관련성 연구를 통해 한국인 성인남성의 관상동맥질환의 위험 요인을 파악하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

대 상

환자군은 1999년 7월부터 2001년 2월까지 서울 및 의정부에 위치한 3개의 가톨릭대학교 의과대학 부속 병원에서 심전도 소견과 임상증상 및 심근효소들의 결과로 급성심근경색으로 진단된 남자중 65세 이하로 하였고, 대조군은 같은 기간동안 정기검진을 받으러 온 남자중 관상동맥질환의 과거력과 관상동맥질환의 증상이 없고 심전도 소견이 정상인 남자중 환자군과 연령 짝짓기를 하여 선정하였다. 위의 조건에 부합하더라도 간, 신장, 갑상선질환이 있는 경우는 제외하여 환자군이 102명이었고 대조군이 112명이었다.

연구방법

설문조사

식이 및 생활양식, 가족력, 과거력과 관계되는 위험인자를 파악하기 위해 설문지를 이용하였으며, 훈련받은 조사자가 면담을 통해 조사하였다. 설문의 내용은 인구사회학적 변수(결혼상태, 교육정도, 직업, 소득), 흡연, 가족력(1세대 가족중 남자 55세 이전, 여자 65세 이전에 관상동맥질환의 가족력), 과거력(고혈압, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증) 등이 포함되었다. 환자군의 경우 흡연력은 심근경색을 진단받기 이전의 상태를 조사하였다.

신체 계측

신장, 체중을 측정하여 체질량지수를 산출하였고, 지방의 분포를 알아보기 위해 복부 둘레와 둔부 둘레를 측정하여 복부 - 둔부 둘레비를 산출하였다. 비만의 정의는 체질량지수 25 kg/m^2 이상으로 하였고, 복부비만의 정의는 복부 - 둔부 둘레비가 1.0 이상인 경우로 하였다.

혈압 측정 및 생화학적 검사

혈압은 10분 이상 안정 상태를 유지시킨 후 측정하였고, 고혈압은 고혈압의 과거력이 있거나 항 고혈압제를 복용하는 경우와, 내원시 2회 이상 측정한 평균값이 수축기 혈압 140 mmHg 이상이거나 이완기 혈압이 90 mmHg 이상인 경우로 하였다.[20)]

채혈은 12시간 이상 공복 상태에서 시행하였으며, 혈당은 자동화학분석기를 이용하여 측정하였고, 총콜레스테롤과 중성지방은 효소법을 이용하여, HDL - 콜레스테롤은 dextran sulfate $MgCl_2$로 처리한 후 효소법으로 측정하였다. LDL - 콜레스테롤은 중성지방이 500 mg/dL 미만인 경우에 Friedewald 공식을 사용하여 산출하였다.[21)] 당뇨병은 당뇨병의 과거력이 있거나 혈당강하를 위한 약물치료를 하는 경우와 내원시 측정한 공복시 혈당이 2회 이상 126 mg/dL 이상인 경우로 정의하였다.[22)] 고콜레스테롤혈증은 콜레스테롤이 높다는 과거력이 있거나 콜레스테롤 저하제를 복용하고 있는 경우와 입원

48시간 이내에 시행된 검사상, 혈중 콜레스테롤 농도가 240 mg/dL 이상인 경우로 정의하였다.[23)]

고위험군과 저위험군의 정의

대상자를 연령 45세 이상, 흡연, 조기 관상동맥질환의 가족력, 당뇨병, 고혈압, 고콜레스테롤혈증, HDL 40 mg/dL 미만, 복부비만 등의 위험인자중에서 2개 이상 가진 경우를 고위험군으로, 1개 이하 가진 경우를 저위험군으로 정의하였다.

eNOS Glu298Asp 유전자다형성 분석

DNA 추출

연구대상자의 말초 정맥혈액을 채취하여 48시간 이내에 림파구로부터 DNA를 추출하였다. 말초 정맥혈 500 μL와 TE buffer(1M tris-HCL 5 mL, 0.5 M EDTA 1 mL, ddH 20 494 mL) 1 mL를 원심분리하여 3회 세척한 후, 상층액을 버리고, 남아있는 pellet에 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) K buffer(10X PCR buffer 1 mL, NP40 45 μL, Tween-20 45 μL, proteinase K(20 ng/mL) 30 μL, D.W 8.8 mL) 200 μL를 첨가하여 58℃에서 45분간 처리하여 pellet이 완전히 녹으면, 95℃에서 10분 동안 가열한 후, 이를 PCR의 주형으로 사용하였다.

Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism(PCR-RFLP)을 이용한 eNOS Glu298Asp 유전자다형성 검사

eNOS Glu298Asp 유전자 다형성 검사는 *Ban* II 제한효소부위가 포함되도록 두가지 primer, 즉 5'-TGA GGG TCA CAC AGG TTC CT-3'와 5'-TCC CTG AGG AGG GCA TGA GGC T-3'을 사용하였다(Bioneer Corporation, Chungbuk, Korea). PCR은 denaturation 94℃ 40초, annealing 61℃ 40초, extension 72℃ 40초를 30회 반복하여 증폭시켰다. 증폭된 457bp 산물에 *Ban* II(New England Biolabs Inc.) 8 U을 섞어 37℃에서 20시간 이상 반응시켰다. PCR-RFLP의 반응산물을 1.5% agarose gel 전기영동을 시행하여 ethidium bromide 용액으로 염색하여 유전자형을 확인하였다.

통계분석

실험결과와 설문지에 의하여 얻어진 자료는 Microsoft Excel 2000을 이용하여 전산 입력한 후 SAS(version 6.12)를 이용하여 분석하였다.

심근경색증환자와 대조군의 일반적인 특성, 관상동맥질환의 위험인자 빈도 차이, eNOS Glu298Asp 유전자 다형성 빈도의 Hardy-Weinberg 평형검증과, eNOS Glu298Asp 유전자다형성의 분포의 차이는 χ^2분석을 하였다.

심근경색증 발생의 독립적인 위험인자를 구하고 유전형과 위험인자간의 상호작용을 찾기 위해 다단계(stepwise) 로지스틱 회귀분석을 하였다.

결 과

연구대상자의 일반적 특성 비교

연구 대상자는 환자군이 102명 대조군이 112명으로, 평균연령은 환자군이 53±9세, 대조군이 53±8세이고 연령분포도 두 군간에 유의한 차이가 없었다. 결혼상태는 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았고 학력은 대조군에서 13년 이상 교육받은 대졸이상의 고학력자가 많았으며(p=0.001), 수입은 대조군에서 월 300만원 이상의 고소득자가 많았다(p=0.001)(Table 1).

환자군과 대조군의 관상동맥 위험인자 비교

현재 흡연자는 환자군이 70명(68.6%)으로 대조군의 41명(36.9%)보다 많았다(p=0.001). 체질량지수는 두 군간에 유의한 차이가 없었으나 복부형 비만은 환자군에서 유의하게 많았다(p=0.001). 환자군은 대조군에 비해 심근경색증의 가족력이 많았고(p=0.05) 고혈압, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증의 과거력이 많았다(p=0.001). 공복 혈당 126 mg/dL 이상은 환자군이 많았다(p=0.001). LDL-콜레스테롤이 160 mg/dL 이상인 경우는 두 군간에 차이가 없었으나, 환자군에서 HDL-콜레스테롤이 40 mg/dL 미만인 경우가 많은 반면(p=0.0001), HDL-콜레스테롤이 60 mg/dL 이상인 경우는 적었다(p=0.001)(Table 2).

환자군과 대조군의 eNOS Glu298Asp 유전자다형성 분포 비교

PCR-RFLP 반응산물의 eNOS Glu298Asp 유전자

다형성 판정은 agarose gel 전기영동을 시행하여 457bp만 보이는 것을 TT 유전자형, 320bp만 보이는 것을 GG 유전자형, 457bp와 320b가 보이는 것을 GT 유전자형으로 하였다(Fig. 1).

Table 1. Comparison of general characteristics of acute myocardial infarction patients with controls

	AMI (n=102)	Control (n=112)
Age (years)		
<39	6 (5.9%)	6 (5.4%)
40 - 49	22 (21.6%)	32 (28.5%)
50 - 59	50 (49.0%)	45 (40.2%)
60 - 65	24 (23.5%)	29 (25.9%)
Marriage		
Single	2 (2.0%)	3 (2.7%)
Married	95 (93.1%)	109 (97.3%)
Devorce, Widower	5 (4.9%)	0 (0.0%)
Education* (years)		
<6	9 (8.8%)	8 (7.1%)
6 - 9	10 (9.8%)	7 (6.3%)
9 - 12	37 (36.3%)	21 (18.8%)
13 - 16	41 (40.2%)	54 (48.2%)
> 17	5 (4.9%)	22 (19.6%)
Gross Income*		
(million won/month)		
< 200	40 (39.2%)	8 (7.1%)
200 - 300	25 (24.5%)	18 (16.1%)
>300	37 (36.3%)	86 (76.8%)

AMI : acute myocardial infarction, * : p<0.001

환자군에서 eNOS TT, GT, GG 유전자형의 분포는 각각 1명(1.0%), 19명(18.6%), 82명(80.4%)이고, 대조군에서 TT 유전자형은 없었고, GT 유전자형은 16명(14.3%), GG 유전자형은 96명(85.7%)이었으며, Hardy - Weinberg 평형과 유의한 편차가 없었다(χ^2=1.51, p=0.471). 환자군과 대조군의 eNOS Glu298 Asp 유전자형 분포를 비교한 결과 유의한 차이가 없었고, TT와 GT 유전자형 대 GG 유전자형의 분포도 환자군과 대조군에서 유의한 차이가 없었다. T와 G 대립유전자(allele)의 비율은 각각 환자군이 0.103, 0.897이고 대조군은 0.071, 0.929로 두 군간에 유의한 차이가 없었다(Table 3).

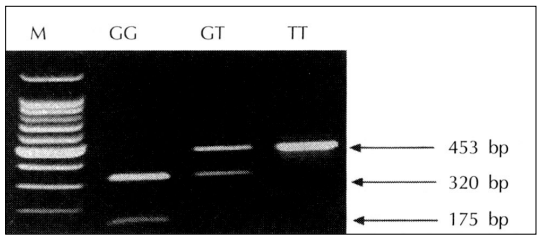

Fig. 1. Polymorphism of missense eNOS Glu298Asp mutation. Agarose gel electrophoresis demonstrated three PCR-RFLP products of Glu298Asp homozygote(TT), Glu298Asp heterozygote(GT) and Glu298Asp wild type(GG) after digestion with *Ban* II, respectively. M : molecular size marker, bp : base pair.

Table 2. Comparison of prevalence of cardiovascular risk factors between acute myocardial infarction patients and controls

	AMI (n=102)	Control (n=112)	p
Smoking	70 (68.6%)	41 (36.9%)	0.001
BMI≥25 kg/m^2	50 (49.0%)	52 (46.4%)	0.705
WHR≥1.0	16 (15.7%)	3 (2.7%)	0.001
Hypertension	41 (40.2%)	9 (8.0%)	0.001
Diabetes Mellitus	30 (29.4%)	11 (9.8%)	0.001
Hypercholesterolemia	46 (45.1%)	19 (17.0%)	0.001
Family history of MI	11 (10.8%)	3 (2.7%)	0.05
Biochemistry			
FBS≥126 mg/dL	39 (38.2%)	9 (8.0%)	0.001
LDL-C≥160 mg/dL	13 (12.8%)	8 (7.1%)	0.169
TG≥200 mg/dL	31 (30.4%)	22 (19.6%)	0.068
HDL-C<40 mg/dL	50 (49.0%)	13 (11.6%)	0.0001
HDL-C≥60 mg/dL	3 (2.9%)	30 (26.8%)	0.001

AMI : acute myocardial infarction, BMI : body mass index, WHR : waist/hip ratio, MI : myocardial infarction, CVA : cerebrovascular accident, FBS : fasting blood sugar, LDL-C : low density lipoprotein-cholesterol, TG : triglyceride, HDL-C : high density lipoprotein-cholesterol

Table 3. Comparison of Glu298Asp genotypes and frequency of alleles between acute myocardial infarction patients and controls

Genotypes and alleles	AMI (n=102)	Control (n=112)	χ^2	p
Genotype				
TT	1 (1.0%)	0 (0.0%)	1.90	0.388
GT	19 (18.6%)	16 (14.3%)		
GG	82 (80.4%)	96 (85.7%)		
Dominant model				
TT+GT	20 (19.6%)	16 (14.3%)	1.08	0.299
GG	82 (80.4%)	96 (85.7%)		
Alleles				
T (Asp)	0.103	0.071	1.34	0.247
G (Glu)	0.897	0.929		

AMI : acute myocardial infarction, TT : eNOS Glu298Asp homozygote variant, GT : eNOS Glu298Asp heterozygote variant, GG : eNOS Glu298Asp wild type, Asp : aspartate, Glu : glutamate

Table 4. Stepwise logistic analysis for cardiovascular risk factors of acute myocardial infarction

	Odds ratio* (95% CI)	p
eNOS (TT+GT)	1.27 (0.38 - 4.22)	0.6930
Smoking	4.12 (1.50 - 11.27)	0.0059
Smoking amount (per 10 pack-year)	1.34 (1.07 - 1.66)	0.0091
Hypertension	7.07 (2.38 - 21.02)	0.0004
Hypercholesterolemia	3.97 (1.44 - 10.94)	0.0076
FBS (per 10 mg/dL)	1.34 (1.10 - 1.64)	0.0038
HDL-C<40 mg/dL	6.62 (2.43 - 17.99)	0.0002

* : adjusted for education and gross income, TT : eNOS Glu298Asp homozygote variant, GT : eNOS Glu298Asp heterozygote variant, FBS : fasting blood sugar, HDL-C : High density lipoprotein-cholesterol

Table 5. Odds ratios of acute myocardial infarction according to eNOS Glu298Asp genotypes in smoker

	Odds ratio* (95% CI)	p
eNOS GG		
Smoker vs Nonsmoker	3.0 (1.04 - 8.53)	0.0413
eNOS TT+GT		
Smoker vs Nonsmoker	15.0 (1.25 - 179.5)	0.0271

* : adjusted for education, income, smoking amount, hypertension, FBS, HDL-C and hypercholesterolemia, The odds ratio of AMI in smoker was significantly higher in eNOS TT or GT genoytpe than eNOS GG genotype (p=0.0073), GG : eNOS Glu298Asp wild type, TT : eNOS Glu298Asp homozygote variant, GT : eNOS Glu298Asp heterozygote variant

심근경색증의 독립적인 위험인자 규명

일반적 특성중 환자군과 대조군에서 유의한 차이가 있는 교육과 수입의 영향을 보정한 뒤, 심근경색증에 영향을 미치는 인자를 다단계 회귀분석으로 찾은 결과, 흡연, 총흡연량, 고혈압, 고콜레스테롤혈증, 높은 공복혈당 및 낮은 HDL - 콜레스테롤이 독립적인 위험인자로 나타났으며, 이중 총 흡연량은 10갑년 마다 심근경색 발병의 위험이 1.34배(95% CI 1.07~1.66) 증가하였고 공복혈당이 10 mg/dL 올라갈 때마다 심근경색 발병의 위험이 1.34배(95% CI 1.10~1.64) 증가하였다(Table 4).

eNOS Glu298Asp 유전자다형성과 관상동맥 위험인자의 관계

흡연이 심근경색증 발병의 위험증가에 미치는 영향은 유전적 민감성에 따라 다르게 나타났다. eNOS GG 유전자형인 흡연자는 같은 유전자형의 비흡연자에 비해 심근경색증의 위험이 3배(95% CI 1.04~8.53) 높았으나, eNOS TT나 GT 유전자형의 흡연자는 같은 유전자형의 비흡연자에 비해 심근경색증의 위험이 15배(95% CI 1.25~179.5) 상승하였으며, 두군간에 흡연으로 인한 심근경색증의 위험증가는 유의한 차이를 보였다(p=0.0073)(Table 5). 흡연이외의 관상동맥 위험인자와 eNOS Glu298Asp 유전자다형성과는 관련성이 없었다.

대상자를 위험인자 중에서 2개 이상 가진 고위험군과 1개 이하 가진 저위험군으로 분류할 때, eNOS GG 유전자형의 고위험군은 같은 유전자형의 저위험군에 비해 심근경색증의 위험이 21.9배(95% CI 6.75~71.19) 높았으나, eNOS TT나 GT 유전자형의 고위험군은 같은 유전자형의 저위험군에 비해 심근경색증의 위험이 31.9배(95% CI 2.38~428.16) 높았으며, 두군간에 고위험

Table 6. Odds ratios of acute myocardial infarction according to eNOS Glu298Asp genotypes in high risk group

	Odds ratio* (95% CI)	p
eNOS GG		
High risk group vs Low risk group	21.9 (6.75 - 71.19)	0.0001
eNOS TT+GT		
High risk group vs Low risk group	31.9 (2.38 - 428.16)	0.0089

*: adjusted for education and gross income, The odds ratio of AMI in high risk group was significantly higher in eNOS TT or GT genoytpe than eNOS GG genotype (p=0.0008), GG: eNOS Glu298Asp wild type, TT: eNOS Glu298Asp homozygote variant, GT: eNOS Glu298Asp heterozygote variant, Low risk group: coronary risk factor≤1, High risk group: coronary risk factor≥2

군으로 인한 심근경색증의 위험증가는 유의한 차이를 보였다(p=0.0008)(Table 6).

고 찰

심혈관계에서 중요한 NO의 생리적 기능은 혈관이완작용과 혈소판에 의한 혈전증의 억제작용이다. 동맥경화가 있는 혈관은 물론 관상동맥의 위험인자만 있는 경우에도 NO에 의해 중재되는 혈관확장반응의 결함이 발견되므로써, NO에 의해 중재되는 혈관내벽의 기능이상이 위험인자들을 연결하는 기전으로 제시되었다.

심근경색증에 대한 eNOS Glu298Asp 유전자다형성의 연구는 인종에 따라 다른 결과가 보고되고 있다. 영국인의 경우 TT 유전자형이 관상동맥질환의 위험을 4배 이상 올리며, 심근경색의 위험을 2.5배 올린다고 보고되었다.[15] 반면 호주인을 대상으로 한 연구에서는 Glu298Asp 변이는 심근경색증의 위험과 무관하다고 보고되었고,[18)24)] 프랑스인과 북아일랜드인을 대상으로 eNOS 유전자내의 모든 다형성과 심근경색증의 관련성을 조사한 결과, 프랑스인에서 Glu298Asp 변이만이 심근경색증의 위험성을 1.5배 높이는 것으로 나타났다.[25] 그리고 일본인의 경우, Shimasaki 등[17]은 T 대립유전자를 가진 경우에 심근경색증의 위험이 증가한다고 보고하였고, Hibi 등[16]은 심근경색증의 위험이 TT 유전자형에 국한되어 증가한다고 보고하였다.

본 연구는 한국인을 대상으로 eNOS Glu298Asp 유전자다형성과 심근경색증의 관련성에 대한 첫 번째 보고로서, eNOS TT나 GT 유전자형 단독으로는 심근경색증의 위험이 증가되지 않으나, 흡연자와 고위험군에서는 eNOS TT나 GT 유전자형일 경우 GG 유전자형에 비해 심근경색증의 위험이 상승되었다. 즉, eNOS TT나 GT 유전자형인 경우, 흡연으로 인한 심근경색증의 위험에 상승효과가 나타나, eNOS GG 유전자형의 흡연자는 같은 유전자형의 비흡연자에 비해 심근경색증의 위험이 3배 증가하였으나, TT나 GT 유전자형의 흡연자는 같은 유전자형의 비흡연자에 비해 심근경색증의 위험이 15배 증가하였다. Wang 등[26]은 eNOS intron 4의 유전자 다형성인 eNOS 4a/a homozygote 유전형을 가진 경우, 비흡연자는 관상동맥의 동맥경화증의 중등도와 관련이 없으나, 흡연자의 경우는 관상동맥의 동맥경화증이 악화됨을 보고하므로써, eNOS 유전자와 흡연과의 상호관련성을 처음 보고하였고 이는 본 논문의 결과를 뒷받침한다. 흡연은 혈관내벽의 NO 분비감소로 인한 혈관 확장반응 방해, 니코틴에 의한 혈역학적 스트레스, 지질의 산화 촉진, 응집력 상승, 부정맥 유발, 일산화탄소로 인한 심근의 저산소증 등의 다양한 기전을 통해 동맥경화와 혈전 형성을 촉진한다. eNOS TT나 GT 유전자형과 흡연의 상승작용이 나타나는 기전은 밝혀져 있지 않으나, 흡연으로 인해 혈관내벽의 NO 분비가 감소되고, NO에 의해 중재되는 혈관내벽의 기능에 장애가 유발된 상태에서, eNOS TT나 GT 유전자형에 의한 eNOS의 기능이상이 가중되어 심근경색증의 위험이 증가한 것으로 가정할 수 있다.

또한 관상동맥 위험인자를 2개 이상 가진 고위험군에서 eNOS TT나 GT 유전자형은 GG 유전자형에 비해 관상동맥 위험을 더욱 높였는데, 이는 eNOS TT나 GT 유전자형 단독으로는 위험인자가 되지 못하지만 기존의 위험인자가 많을 경우에는 상승작용이 나타나는 것으로 가정할 수 있다.

eNOS Glu298Asp 유전자 변이가 어떠한 경로로 NO의 대사에 영향을 미치는지는 여러 가설이 제시되고 있다. Philip 등[27]은 Glu298Asp 유전자 변이가 NO 생성을 감소시키는 원인이라는 가설을 제시하였고, Tesauro 등[28]은 시험관내 연구에서 Glu298Asp 유전자 변

이가 세포내에서 분해되기 쉬운 eNOS 단백질을 생성한다고 보고하였으며, Wang 등[29]은 낮은 eNOS 효소활성과 관련된다고 보고하였다. 그러나 Schneider 등[30]은 eNOS Glu298Asp 유전자다형성에 따른 혈관내피의존성 혈관확장반응의 차이를 발견하지 못하였다고 보고하였다.

eNOS Glu298Asp 유전자다형성은 인종에 따라 현저한 분포의 차이를 보인다. 본 연구에서는 TT, GT, GG 유전자형이 심근경색증환자에서는 각각 1.0%, 18.6%, 80.4%이고 대조군에서 각각 0%, 14.3%, 85.7%로 나타나, 일본인 심근경색증환자에서 TT, GT, GG 유전자형의 빈도가 각각 0.4%, 20.7%, 78.9%이고 대조군에서 각각 0.2%, 13.2%, 86.7%인 보고와 유사한 분포를 보였다.[17] 반면 영국인 심근경색증환자에서는 TT, GT, GG 유전자형의 빈도가 각각 18.1%, 43.0%, 38.9%이고 대조군에서 각각 8.7%, 44.3%, 47.0%로 보고하였고,[15] 호주인의 경우도 유사한 분포를 보고하였다.[18] T 대립유전자는 관상동맥 위험인자와의 상호작용을 통해 심근경색증의 위험을 증가시키는 것으로 생각되나, 본 연구에서는 TT 유전자형은 환자군에서만 1명 나타났고 대조군에서는 검출되지 않았으므로, eNOS Glu298Asp 변이와 심근경색증의 관계는 추후 연구 대상자 수를 늘려 평가해야 될 것으로 생각된다.

본 연구는 허혈성심질환의 유병율이 증가 추세에 있는 중장년층 남성에 국한시켜 심근경색증의 위험요인을 조사하였으며, 유전적 소인이 있는 경우는 젊은 연령에서 관상동맥질환이 발병할 것으로 가정하여 대상자의 연령을 65세 이하로 제한함으로써 유전적 위험인자가 검출된 가능성을 높였다.

본 연구의 제한점은 연구의 대상자가 생존한 급성 심근경색증환자로 제한되므로 전체 심근경색증환자에 적용하는데는 한계점이 있으며, 대조군내에 무증상의 허혈성 심장질환자가 있는지 완전히 배제하지 못하였다. 앞으로 eNOS Glu298Asp 유전자변이의 기능에 대한 연구와 유전자변이와 흡연과의 상호작용 기전에 대한 추가 연구가 더 필요할 것으로 생각된다. 또한 동맥경화의 오랜 경과의 특성상 단면연구를 시행하여 위험요소를 평가하기는 어려우므로 앞으로 대규모의 전향적 코호트연구가 진행되어야 할 것이다.

한국인 남성의 경우, eNOS TT와 GT 유전자형은 심근경색증의 독립적인 위험인자는 아니나 흡연자와 고위험군에서는 심근경색증의 위험에 상승작용을 일으키므로, eNOS TT와 GT 유전자형인 사람은 금연과 치료가능한 기존의 위험인자의 조절을 더욱 강조할 필요가 있을 것으로 생각된다.

요 약

배경 및 목적 :

혈관내벽 NO 생산효소(endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 유전자다형성(genetic polymorphism)이 관상동맥질환의 발병과 관련된다고 최근 보고되었다. 본 연구는 심근경색증의 위험인자에 대한 연구로서 eNOS Glu298Asp 유전자다형성이 급성 심근경색증의 유전적 지표가 될 수 있는지를 조사하였다.

방 법 :

환자군은 급성 심근경색으로 진단된 65세 이하의 남자환자 102명으로 하였고, 대조군은 관상동맥질환의 과거력과 관상동맥질환의 증상이 없고 심전도 소견이 정상인 남자중에서 환자군과 연령 짝짓기를 하여 112명을 선정하였다. eNOS Glu298Asp 유전자다형성은 혈액 림파구의 DNA를 추출하여 중합효소 연쇄반응 제한효소 절단 길이 다양성법(PCR-RFLP)으로 검사하였고 혈당, 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 등의 생화학적 검사를 시행하였다. 신장, 체중, 복부-둔부 둘레비와 혈압을 측정하였고, 과거력, 가족력, 음주, 흡연 및 운동 등을 설문조사 하여 다음의 결과를 얻었다.

결 과 :

eNOS Glu298Asp 유전자다형성의 분포는, 환자군에서 TT, GT, GG 유전자형이 102명 중 각각 1명(1.0%), 19명(18.6%), 82명(80.4%)이고 대조군 112명중에 TT 유전자형은 없었고, GT 16명(14.3%), GG 96명(85.7%)으로 두 군간에 차이가 없었다. 다단계 회귀분석을 시행한 결과, eNOS Glu298Asp 유전자변이는 심근경색증의 독립적인 위험인자가 되지 못하였다. 그러나 흡연, 총흡연량, 고혈압, 고콜레스테롤혈증, 높은 공복혈당, 낮은 HDL-콜레스테롤은 심근경색증의 독립적인 위험인자로 나타났다($p<0.01$). eNOS GG 유전자형인 흡연자는 동일 유전자형의 비흡연자에 비해 심근경색증의 위험이 3배(95% CI 1.04~8.53) 상승되었고, eNOS TT나 GT 유전자형인 흡연자는 동일 유전자형의 비흡연자에 비해 위험이 15배(95% CI 1.25~179.5) 상승되었

다. eNOS GG 유전자형인 고위험군은 동일 유전자형의 저위험군에 비해 심근경색증의 위험이 21.9배(95% CI 6. 75~71.19) 상승되었고, eNOS TT나 GT 유전자형인 고위험군은 동일 유전자형의 저위험군에 비해 위험이 31. 9배(95% CI 2.38~428.16) 상승되었다.

결 론 :

eNOS TT나 GT 유전자형은 흡연자와 고위험군에서 심근경색증의 발병위험에 상승작용을 일으키는 것으로 나타났다. 앞으로 eNOS Glu298Asp 유전자변이의 기능에 대한 추가 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

중심 단어 : 심근경색증 ; 유전자다형성 ; 흡연.

■ 감사문

연구 작업을 도와주신 정주혜 선생님, 안효석 선생님 등 가정의학교실 내 여러 선생님들과 이영하씨, 통계학교실 박용규 교수님께 감사드립니다.

REFERENCES

1) Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, Tsui LC, Schappert KT. *Genome, Nucleotide, OMIM, Protein Structure and chromosomal location of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. J Biol Chem 1993;268:17478-88.*
2) Janssens SP, Shimouchi A, Quertermous T, Bloch DB, Bloch KD. *Cloning and expression of a cDNA encoding human endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase. J Biol Chem 1992;267:14519-22.*
3) Wang XL, Mahaney MC, Sim AS, Wang J, Wang J, Blangero J, Almasy L, Badenhop RB, Wilcken DE. *Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. Arteroscler Thromb Vasc Biol 1997;17:3147-53.*
4) Radomski MW, Palmer RM, Monocada S. *Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. Lancet 1987;2:1057-8.*
5) Garg UC, Hassid A. *Nitric oxide-generating vasodilatiors and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest 1989;83:1774-7.*
6) Kubes P, Suzuki M, Granger DN. *Nitric oxide: an endogenous molecular of leukocyte adhesion. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:4651-5.*
7) Yao SK, Ober JC, Krishnaswami A, Ferguson JJ, Anderson HV, Golino P, Buja LM, Willerson JT. *Endogenous nitric oxide protects against platelet aggregation and cyclic flow variations in stenosed and endothelium-injured arteries. Circulation 1992;86:1302-9.*
8) De Meyer GR, Herman AG. *Vascular endothelial dysfunction. Prog Cardiovasc Dis 1997;39:325-42.*
9) Chowienczyk PJ, Watts GF, Cockcroft JR, Brett SE, Ritter JM. *Sex differences in endothelial function in normal and hypercholesterolaemia subjects. Lancet 1994;344: 305-6.*
10) Calver A, Collier J, Moncada S, Vallance P. *Effect of local intra-arterial NG-monomethyl-L arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. J Hypertens 1992;10:1025-31.*
11) Calver A, Collier J. Vallance P. *Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. J Clin Invest 1992;90:2548-54.*
12) Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. *Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adult. Circulation 1993;88:2149-55.*
13) Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, Kamitani S, Harada M, Ishikawa M, Kuwahara K, Ogawa E, Hamanaka I, Takahashi N, Kaneshige T, Teraoka H, Akamizu T, Azuma N, Yoshimasa Y, Yoshimasa T, Itoh H, Masuda I, Yasue H, Nakao K. *Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. Hypertension 1998;32:3-8.*
14) Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, Kugiyama K, Ogawa H, Ogawa Y, Saito Y, Miyamoto Y, Nakao K. *A missense Glu 298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in Japanese. Hum Genet 1998;103:65-9.*
15) Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, Haydock S, Hopper RV, Stephens NG, O'Shaughnessy KM, Brown MJ. *A common variant of the nitric oxide synthase (Glu298- >Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. Circulation 1999;100:1515-20.*
16) Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Nyui N, Fujita T, Ochiai H, Kosuge M, Watanabe Y, Yoshii Y, Kihara M, Kimura K, Ishii M, Umemura S. *Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. Hypertension 1998;32:521-6.*
17) Shimasaki Y, Ysue H, Yoshimura M, Nakayama M, Kugiyama K, Ogawa H, Harada E, Masuda T, Koyama W, Saito Y, Miyamoto Y, Ogawa Y, Nakao K. Nakao K. *Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1998;31:1506-10.*
18) Cai H, Wicken DE, Wang XL. *The Glu-298- >Asp (894 G- >T) mutation at exon 7 of the endothelial nitric oxide synthase gene and coronary artery disease. J Mol Med 1999;77:511-4.*
19) National Statistical Office. *'98 Annual report on the cause of death statistics in Korea;1999.*
20) Sheps SG. *Overview of JMC VI: new directions in the management of hypertension and cardrovascular vizk. Am J Hypertens 1999;12:65S-72S*
21) Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18:499-502.*
22) American Diabetes Association. *Clinical practice recommendation. Diabetes Care 1999;22:S1-S114.*
23) Executive summary of the Third *Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on*

Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.

24) Liyou N, Simins L, Friedlander Y, Simons J, McCallum J, O'Shaughnessy K, Davis D, Johnson A. *Coronary artery disease is not associated with the E298- >D variant of constitutive, endothelial nitric oxide synthase gene. Clin Genet 1998;54:528-9.*

25) Poirier O, Mao C, Mallet C, Nicaud V, Herrmann S, Evans A, Ruidavets JB, Arveiler D, Luc G, Tiret L, Soubrier F, Cambien F. *Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene-no consistent association with myocardial infarction in ECTIM study. Eur J Clin Invest 1999;29:284-90.*

26) Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DE. *A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. Nat Med 1996;2:41-5.*

27) Philip I, Plantefeve G, Vuillaumier-Barrot S, Vicaut E, LeMarie C, Henrion D, Poirier O, Levy BI, Desmonts JM, Durand G, Benessiano J. *G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. Circulation 1999;99:3096-8.*

28) Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. *Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary disease: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. Proc Nat Acad Sci USA 2000;97:2832-5.*

29) Wang XL, Sim AS, Wang MX, Murrell GA, Trudinger B, Wang J. *Genotype dependent and cigarette specific effects on endothelial nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. FEBS Lett 2000;471:45-50.*

30) Schneider MP, Erdmann J, Delles C, Fleck E, Regitz-Zagrosek V, Schmieder RE. *Functional gene testing of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial NO synthase. J Hypertens 2000;18:1767-73.*