

제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자의 다형성과 경동맥 내중막두께

연세대학교 의과대학 내과학교실, 관동대학교 의과대학 내과학교실¹

강은석 · 박소영 · 김소현 · 이현주 · 허규연 · 한승진 · 박세은
김형진¹ · 안철우 · 차봉수 · 임승길 · 김경래 · 이현철

Adiponectin Gene Polymorphism and Carotid Artery Intima-Media thickness in Type 2 Diabetes

Eun Seok Kang, So Young Park, So Hun Kim, Hyun Joo Lee, Kyu Yeon Hur,
Seung Jin Han, Se Eun Park, Hyeong Jin Kim¹, Chul Woo Ahn, Bong Soo Cha,
Sung Kil Lim, Kyung Rae Kim, Hyun Chul Lee

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea
Department of Internal Medicine, Kwandong University College of Medicine, Gangneung, Korea¹

ABSTRACT

Background: The aim of this study was to examine the association between the common polymorphisms of the adiponectin gene (*ACDC*) and the intima-media thickness (IMT) of the common carotid arteries in type 2 diabetic patients.

Methods: The B mode ultrasound examination of carotid artery was performed on 133 type 2 diabetic patients. The carotid IMT was calculated using the Intimascope computer program. The SNP45 and SNP276 of the *ACDC* were examined.

Results: There was no significant difference in the carotid IMT among the SNP45 genotypes (0.66 ± 0.18 mm for TT, 0.71 ± 0.12 mm for TG and 0.64 ± 0.15 mm for GG, P=NS). Subjects carrying the SNP276 GG genotype had a markedly lower serum adiponectin concentration than those carrying the TT genotype (3.35 ± 2.00 µg/mL vs. 4.98 ± 2.24 µg/mL, P=0.029) The carotid IMT was significantly higher in patients with the SNP276 GG genotype than those with the TT genotype (0.70 ± 0.17 mm vs. 0.59 ± 0.13 mm, P=0.032). Patients with the +45GG/+276GG genotype combination showed

접수일자: 2004년 10월 11일

통과일자: 2004년 12월 21일

책임저자: 이현철, 연세대학교 의과대학 내과학교실

* 본 연구는 2004년도 보건 의료기술 연구개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임(03-PJ10-PG13-GD01-0002).

significantly higher mean carotid IMT than the other genotype combinations (0.78 ± 0.09 mm vs. 0.71 ± 0.15 mm, $P=0.013$)

Conclusions: These results suggest that the adiponectin gene, SNP276 is associated with the carotid IMT in type 2 diabetic patients. Further studies are will be needed to confirm these genotypephenotype associations (J Kor Soc Endocrinol 20:29~39, 2005).

Key Words: Adiponectin, ACDC, SNP, IMT (Intima-Media thickness), Type 2 diabetes

서 론

아디포넥틴은 지방세포에서 유리되는 adipocytokine 으로 여러 중요한 대사적 기능을 갖는다. 관동맥질환자와 제2형 당뇨병 환자에서는 아디포넥틴의 혈청 농도가 감소되어 있다[1~4]. 아디포넥틴은 endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 (E-selectin), intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1)과 같은 adhesion molecule의 발현을 억제한다[1]. 또한 아디포넥틴은 TNF- α 에 의해서 유도되는 nuclear factor-kB의 활성화를 억제하고 단핵구가 대동맥 내피세포에 adhesion하는 것을 억제하며[1,5], 세포 내로 oxidized LDL의 섭취를 감소시키고 세포 내에 cholesteryl ester가 축적되는 것을 억제한다[6]. 그래서, 아디포넥틴은 광범위한 항동맥경화 작용을 갖는다. 아디포넥틴 유전자는 제3번 염색체 q27부위에 위치하고 3개의 exon과 2개의 intron으로 구성되어 있다[7]. 아디포넥틴 유전자의 단일염기치환 +45 (T>G), +276 (G>T)가 낮은 혈청 아디포넥틴농도와 인슐린저항성, 제2형 당뇨병과 관계가 있음이 보고되었다[8,9].

고해상도 B-mode 초음파를 이용하여 측정된 경동맥 내중막두께는 병리학적 또한 임상적 동맥경화와 높은 상관관계를 보여 주었으며[10,11] 또한 심근경색과

뇌 허혈(중풍)의 발생 위험과도 상관관계가 있음이 보여졌다[12]. 총 경동맥의 내중막두께를 측정하는 것은 조기 동맥경화의 진행 정도를 모니터 하는 방법으로 알려져 있다. 그래서 제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자 다형성이 동맥경화와 관계가 있을 것이라는 가설을 세울 수 있다. 그러나, 현재까지 아디포넥틴 유전자가 경동맥의 내중막두께에 주는 영향에 대한 논문은 없었다. 이에 본 연구에서는 아디포넥틴 유전자의 다형성과 동맥경화의 지표로서의 경동맥 내중막두께와의 관계를 보고자 하였다[13].

대상 및 방법

1. 대상

2003년 6월부터 2004년 6월까지 연세대학교 의과대학교 신촌 세브란스병원, 영동 세브란스병원, 관동대학교 의과대학 명지병원 당뇨병센터에 내원한 제2형 당뇨병 환자 133명을 대상으로 하였다. 133명 중 70명은 남자였고 63명은 여자였다. 평균 나이는 56.3 ± 10.2 세 이었으며 (범위; 29~79세) 평균 당뇨병 이환 기간은 6.8 ± 5.5 년이었다. 흡연량 3갑년 미만, 허혈성 심장질환이 없고 고혈압이 없으며 가족성 이상지질혈증이 없고 다른 내분비적 질환이 없는 환자를 대상으로 하였다. 지질저하제를 복용하거나 고혈압제제, PPAR 효현제, 항염증제를 복용하는 환자는 제외하였다. 제1형 당뇨병 환자나 인슐린으로 치료중인 환자, 케톤산혈증의 과거력이 있는 환자, 만성 췌장염환자, 악성질환환자는 제외하였다. 당뇨병은 세계보건기구의 정의 [14]에 의하여 진단하였다. 본 연구는 연세대학교 의

과대학 윤리위원회의승인을 얻어 시행하였고 참여 환자들의 사전 동의를 구한 후 시행하였다.

2. 유전자형 분석

환자로부터 전혈 5 mL을 EDTA tube에 채취하여 QIAamp DNA blood mini kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. 건조시킨 genomic DNA를 autoclaved 된 증류수에 녹여 분광광도계로 측정된 후 -20℃에 보관하였다. SNP 45, 276의 증폭을 위한 프라이머 서열은 정방향시발체; 5-AGAAAGCAGCTCCTAGAAAGT-3, 역방향시발체; 5-GGCACCATCTACTCATCC-3였다. PCR 반응은 45 ng의 gDNA가 들어있는 증류수 1 µL, PCR premix (1 U Taq DNA polymerase, each dNTP 250 µM, Tris-HCl 10 mM, KCl 40 mM, MgCl₂ 1.5 mM) (BIONEER, Seoul, Korea), 정방향시발체 10 pmole, 역방향시발체 10 pmole, 증류수 15 µL로 총 volume이 20 µL가 되게 하여 반응을 진행하였다. PCR 조건은 반응혼합액을 94℃ 5분간 가열하여 template DNA를 단일체로 변성시키고 이후부터 변성을 94℃에서 30초, 결합을 57℃에서 30초, 연장을 72℃에서 30초 동안 시행하도록 한 주기를 설정하고 30주기 동안 DNA를 증폭한 후 마지막 연장은 72℃에서 7분간 유지하였다. QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA)을 이용해 PCR product를 정제하였다. 정제된 sample 1 µL를 0.9% 아가로스젤에 전기영동시켜서 band를 확인하였다. 그 후 정제된 PCR 산물을 ABI prism 3100 genetic analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS, Foster city, CA, USA)를 이용하여 direct sequencing을 실시하였다.

3. 대사지표 측정

모든 환자들은 채혈 전날 자정부터 금식한 후 최소 8시간 후에 채혈을 실시하였다. 혈액은 원심분리 후 -80℃에 보관하여 다음 실험을 진행하였다. 생화학검사로 내원 시 공복 및 식후 2시간 혈장 포도당농도는 glucose oxidase 방법 (747 automatic analyzer, HITACHI, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. HbA_{1c}는 high performance liquid chromatography방법 (Varient

II, GREENCROSS, Korea)을 이용하여 측정하였다. Lipid profiles중 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, 중성지방은 효소비색법을 이용한 자동분석기 (Au5200, OLYMPUS, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedewald공식에 의하여 계산하였다[15]. 공복 인슐린은 방사면역측정법 (IRMA kit, DAINABOT, Tokyo, Japan)을 이용하였고 아디포넥틴은 방사성동위원소분석법 (LINCO Research, St. Charles, MO, USA)으로 측정하였다. 인슐린저항성의 지표로는 HOMA-IR (Homeostasis model assessment index for insulin resistance)을 이용하여 공복 혈장 포도당 (mmol/L)×공복 혈장 인슐린 (U/mL)/22.5의 식으로 구하였다.

4. 경동맥 내중막두께 측정

경동맥 내중막두께의 측정은 고해상도 B-mode 초음파기기 (LOGIQ 9, GE medical system, Milwaukee, WI)의 10 MHz 선상 탐촉자 (axial resolution 0.2 mm)를 이용하여 Pignoli 등의 방법[17]으로 측정하였다. 좌측과 우측 경동맥의 종단면을 따라 총경동맥이 내경동맥과 외경동맥으로 분리되는 분지점의 근위부에 위치하는 총경동맥의 far wall에서 내중막두께가 최고인 지점을 정하여 이 지점에서 근위 10 mm, 원위 10 mm 위치 사이에 포함되는 99개 부위의 좌우 평균치를 내중막두께로 정의하였다. 얻어진 영상은 이미지 파일로 저장한 후 컴퓨터 프로그램 (IntimaScope, MEDIA CROSS Co., Ltd, Japan)을 이용하여 측정하였다. 좌우 양측에서 얻어진 6개 값의 평균치를 내중막두께로 정의 하였다[13,18]. 모든 내중막두께는 plaque이 없는 곳에서 시행하였다. 내중막두께는 intimal-luminal interface와 medial-adventitial interface사이의 거리로 정의 하였다. Plaque는 혈관내강을 intimal와 media를 더한 두께의 50% 이상이 되는 echogenic structure로 정의 하였다[19~21]. 본 측정의 Variation coefficient는 4.3~5.2%였다.

5. 통계분석

임상지표 및 검사결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 모든 통계분석은 SPSS for Windows 프로그램

(version 12.0; SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 시행하였다. 각 유전자형 군간의 연속변수의 차이는 t-test와 분산분석을 통해 분석하였고 다중분석교정은 Bonferroni 교정법을 사용하였다. 혈청 아디포넥틴 농도, HOMA, 경동맥 두께, 혈장 중성지방농도는 정규 분포에 따르지 않으므로 로그값으로 치환한 후 통계분석을 시행하였다. 경동맥 내중막두께와 다른 변수들과의 상관분석에는 Spearman 상관계수분석을 이용하였다. 부분 상관분석을 통해 나이와 체중을 보정하고 상관분석을 시행하였다. 경동맥 내중막두께에 영향을 주는 인자를 분석하기 위하여 다중 회귀분석을 시행하였다. 통계적 유의 수준은 P값을 0.05 미만으로 하였다.

결 과

대상환자들에게서 아디포넥틴 유전자의 allele분포와 유전자형 분포는 Table 1에 나타냈다. 양 locus의 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium에서 유의하게 벗어나지 않았다. 45번 위치의 wild type allele은 T였고 276번 부위의 wild type allele은 G였다.

1. SNP45

유전자형에 따른 나이, 당뇨병의 유병기간, 체중, 공복혈당, 당화혈색소, 혈청 아디포넥틴 농도, HOMA-IR치, 지질수치에는 유의한 차이는 없었다. 또한 유전자형 군간에 평균 경동맥 내중막두께에도 차이가 없었다

Table 1. The Allelic and Genotypic Distribution of SNP

		Number	%
Allele			
SNP45	T	184	69.17
	G	82	30.83
SNP276	G	186	69.92
	T	80	30.08
Genotype			
SNP45	TT	71	53.4
	TG	42	31.6
	GG	20	15.0
SNP276	GG	69	51.9
	GT	48	36.1
	TT	16	12.0

Table 2. Clinical and Biochemical Characteristics of the Subjects according to the Adiponectin Genotypes at Position 45

	SNP 45			P
	TT	TG	GG	
N (male/female)	71 (33/38)	42 (22/20)	20 (15/5)	
Age (year)	56.0±10.9	57.5±9.8	54.9±8.2	NS
Duration of diabetes (years)	6.2±6.1	7.6±5.1	6.8±4.7	NS
Body weight (kg)	68.9±9.7	7.07±10.4	72.8±9.8	NS
FPG (mmol/L)	9.89±2.55	9.06±2.19	9.75±2.79	NS
HbA1c (%)	8.74±1.31	8.54±1.52	8.27±1.16	NS
Adiponectin (µg/mL)	3.85±2.42	3.22±1.94	3.42±2.27	NS
HOMA-IR	341±1.99	3.24±2.54	3.08±1.83	NS
Total cholesterol (mmol/L)	4.91±0.85	5.15±0.79	5.36±1.55	NS
Triglyceride (mmol/L)	2.04±1.09	2.26±1.31	2.67±2.02	NS
HDL cholesterol (mmol/L)	1.23±0.29	1.25±0.29	1.12±0.29	NS
LDL cholesterol (mmol/L)	2.77±0.76	2.87±0.82	2.88±0.64	NS
Mean IMT (mm)	0.66±0.18	0.71±0.12	0.64±0.15	NS
Maximum IMT (mm)	0.78±0.17	0.82±0.12	0.76±0.16	NS

Data are mean±SD

Table 3. Clinical and Biochemical Characteristics of the Subjects according to the Adiponectin Genotypes at Position 276

	SNP 276			P
	GG	GT	TT	
N (male/female)	69 (37/32)	48 (25/23)	16 (8/8)	
Age (year)	56.4±9.9	55.3±10.8	59.1±9.4	NS
Duration of diabetes (years)	5.9±5.9	7.3±5.0	6.6±5.3	NS
Body weight (kg)	70.4±9.3	70.2±10.1	68.6±13.	NS
FPG (mmol/L)	9.16±2.43	10.01±2.41	10.35±2.78	NS
HbA _{1c} (%)	8.47±1.45	8.73±1.27	8.86±1.22	NS
Adiponectin (µg/mL)	3.35±2.00	3.46±2.49	4.98±2.24	0.029
HOMA-IR	4.05±1.99	3.58±2.24	2.69±1.95	0.044
Total cholesterol (mmol/L)	5.11±1.06	5.02±0.72	4.91±1.29	NS
Triglyceride (mmol/L)	2.28±1.53	2.16±0.99	2.05±1.50	NS
HDL cholesterol (mmol/L)	1.21±0.26	1.23±0.31	1.26±0.39	NS
LDL cholesterol (mmol/L)	2.80±0.69	2.79±0.74	2.96±1.08	NS
Mean IMT (mm)	0.70±0.17	0.65±0.14	0.59±0.13	0.032
Maximum IMT (mm)	0.82±0.17	0.77±0.12	0.73±0.16	0.042

Data are mean±SD

Table 4. Clinical Characteristics of the Subjects according to the Carrying Status of the Adiponectin 45/276 Genotype Combination

	Genotype combination		P
	TX/XX	GG/GG	
N (male/female)	117 (59/58)	16 (11/5)	0.133*
Age (year)	56.4±10.5	56.0±7.6	0.871
DM Duration (yrs)	6.8±5.7	6.3±3.8	0.689
Body weight (kg)	69.6±9.8	74.6±10.3	0.176
BMI (kg/m ²)	25.8±2.5	25.5±3.3	0.743
FPG (mmol/L)	9.57±2.44	9.85±2.88	0.722
HbA _{1c} (%)	8.67±1.37	8.18±1.23	0.155
Adiponectin (µg/mL)	3.68±2.29	2.90±2.00	0.166
HOMA-IR	3.29±2.19	3.39±1.90	0.850
Mean IMT (mm)	0.71±0.15	0.87±0.09	0.013
Maximum IMT (mm)	0.82±0.14	0.91±0.14	0.018

Data are means±SD. P-values by t-test. *P value by chi-square test.

X represents either T or G

(0.66±0.18 mm for TT, 0.71±0.12 mm for TG, 0.64±0.15 mm for GG, P=NS) (Table 2).

2. SNP276

276번 부위에 GG유전자형을 갖는 환자에서 TT 유

Table 5. Partial Correlation Coefficients Between the Log Mean IMT and the Variables (adjusted for age and body weight)

Variables	R	p
Fasting Plasma Glucose (years)	0.143	NS
HbA1c (%)	0.150	NS
Total cholesterol (mmol/L)	0.129	NS
HDL cholesterol (mmol/L)	-0.262	0.030
LDL cholesterol (mmol/L)	0.052	NS
Triglyceride (mmol/L)	0.023	NS
HOMA-IR	0.033	NS
Serum Adiponectin (µg/mL)	-0.227	0.019

Table 6. Association of Atherosclerotic Risk Factors with mean IMT of the Common Carotid Artery (multivariate linear regression analysis)

Variables	β	P
Age	0.251	0.030
Sex (0=male, 1=female)	-0.310	0.006
Diabetes duration	-0.155	0.193
BMI	-0.077	0.474
Fasting Plasma Glucose (mmol/L)	0.096	0.470
HbA1c (%)	-0.062	0.614
Total cholesterol (mmol/L)	0.096	0.924
Triglyceride (mmol/L)	0.065	0.600
Serum Adiponectin (µg/mL)	0.052	0.618
HOMA-IR	0.061	0.597
Genotype combination (0=other, 1=GG/GG)	0.226	0.043

전자형을 갖는 환자보다 혈청 아디포넥틴 농도가 유의하게 낮았다 ($3.35 \pm 2.00 \mu\text{g/mL}$ vs. $4.98 \pm 2.24 \mu\text{g/mL}$, $P=0.029$) (Table 3). HOMA-IR값은 GG유전자형을 갖는 환자에서 TT유전자형을 갖는 환자보다 유의하게 높았다 (4.05 ± 1.99 vs. 2.69 ± 1.95 , $P=0.044$). 경동맥 내중막두께는 GG 유전자형을 갖는 환자에서 TT유전자형을 갖는 환자보다 유의하게 컸다 ($0.70 \pm 0.17 \text{ mm}$ vs. $0.59 \pm 0.13 \text{ mm}$, $P=0.032$). 평균적으로 GG유전자형을 갖는 환자에서 TT유전자형을 갖는 환자보다 경동맥 내중막두께가 18.6% 정도 컸다. 환자들의 연령

및 몸무게를 보정하여도 이 차이는 유의하였다.

3. Genotype combination 45/276

+45GG와 +276GG 유전자형을 함께 갖는 환자들에게서 평균 경동맥 내중막 두께가 다른 유전자형 조합을 갖는 환자들보다 유의하게 두꺼웠다 ($0.78 \pm 0.09 \text{ mm}$ vs. $0.71 \pm 0.15 \text{ mm}$, $P=0.013$) (Table 4).

4. Correlation between the carotid IMT and variables

경동맥의 내중막두께는 HDL cholesterol ($r=-0.262$, $P=0.030$), 혈청 아디포넥틴 농도 ($r=-0.227$, $P=0.019$)와 유의한 상관관계를 나타내었다 (Table 5). 공복혈당, 당화혈색소, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, HOMA-IR 값은 경동맥 내중막두께와 유의한 상관관계가 없었다 (Table 5).

5. 경동맥 내중막두께에 영향을 주는 위험인자분석

경동맥의 내중막두께에 영향을 주는 위험인자를 분석하기 위해 다중 선형회귀분석을 시행하였다. 성별과 45/276 유전자형의 조합이 평균 경동맥두께와 독립적인 상관관계가 있는 인자로 나타났다 (Table 6).

고 찰

최근의 여러 연구들은 몇몇 유전자의 다형성이 경동맥 내중막두께와 연관이 있다고 보고하고 있다[22]. 본 연구에서는 제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자의 다형성과 경동맥 내중막두께와의 관계를 살펴 보고자 하였다. 아디포넥틴은 비교적 최근에 발견된 adipocytokines으로 여러 중요한 대사적 기능을 갖는다. 최근의 여러 연구에 의하면 아디포넥틴은 항염증 작용과 항동맥경화 작용이 있다. 특히 아디포넥틴의 c-terminal globular domain은 동맥경화에 대해서 보호작용을 하는 것으로 알려져 있다[23]. 여러 연구팀에 의해서 아디포넥틴의 단일염기다형성이 발견되었고 현재까지 약 16개가 발견되었다. 이 중 exon 2의 silent +45 (T>G)는 독일인에서 인슐린저항성과 관련이 있다고 보고되었고[24], 일본의 한 연구에서는 45번 부위와 제2형 당뇨병과 관련이 있다고 보고하였으나[9] 다른 일본의 연구에서는 관련이 없다고 보고하였다[25]. Intron에 위치한 +276(G>T) 염기치환은 일본인에서 인슐린저항성과 혈청 아디포넥틴 농도와 연관이 있다고 보고된바 있다[25]. 최근에는 exon 3 부위에서 4개의 missense mutation (R112C, I164T, R221S, and H241P)이 발견되었으며 I164T 돌연변이가 당뇨병과 혈청 아디포넥틴 농도와 관련이 있다고

보고되었다[26]. 프랑스인에서는 상기 부위보다는 5' sequences에 위치한 -11391 (A>G)과 -11377 (C>G)이 당뇨병과 연관이 있다고 보고되었다[27]. 본 연구에서는 가장 많이 연구되었던 +45(T>G)와 +276(G>T) 부위에 대해서 연구하였다. +276GG 유전자형을 갖는 환자에서 TT 유전자형을 갖는 환자에서보다 혈청 아디포넥틴농도가 더욱 감소되어 있었고 경동맥 내중막두께가 더욱 증가되어 있어서 GG 유전자형에서 아디포넥틴 농도가 더욱 감소되어서 동맥경화가 더 진행되었을 가능성을 제시하였다. 더욱이 경동맥 내중막두께와 혈청 아디포넥틴 농도와의 음의 상관관계를 보였다. 이러한 결과로 볼 때 아디포넥틴은 동맥경화의 진행에 역할을 함을 추론할 수 있겠다. 본 연구에서는 아디포넥틴 농도는 인슐린저항성을 나타내는 HOMAIR 수치와 음의 상관 관계를 보였다 (Data not shown). 본 연구 결과는 이탈리아에서 진행된 한 연구와 비슷한 결과를 보여주었다[28]. Bacci 등은 제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자의 TT 유전자형을 갖는 환자에서는 G allele을 갖는 환자보다 관상동맥질환에 걸릴 위험이 적고 G allele을 갖는 환자에서 동맥경화가 더 잘 진행함을 보여주었다. SNP276부위는 intron에 위치 하기 때문에 단백질을 만드는 유전자 정보는 포함하고 있지 않다. 즉, 직접적인 생물학적 기능은 없는 것으로 보이나 이 부위가 다른 기능이 있는 sequence와 linkage disequilibrium을 이루고 있을 가능성이 더 크다. 본 연구에서 45번 부위는 경동맥 내중막두께와 연관성이 없었고 아디포넥틴 농도와도 관련이 없었다. 최근의 연구에 의하면 혈청 아디포넥틴의 농도보다는 subendothelial space의 아디포넥틴 농도가 동맥경화 예방에 더욱 중요하다는 가설이 제시되었다 [29~31]. 앞으로 기능적인 연구와 subendothelial space의 아디포넥틴 농도와 아디포넥틴 유전자의 다형성과의 관계에 대한 연구가 필요할 것이다. 경동맥 내중막두께와 혈청 아디포넥틴 농도의 관계에 대한 연구는 많지 않다. Matsuda 등은[32] 경동맥 내중막두께와 혈청 아디포넥틴 농도와의 상관 관계가 없고 대신 TNF- α level과 관계가 있다고 보고하였으나 Jansson 등은 경동맥 내중막두께와 혈청 아디포넥틴 농도가 유의한 상관관계가 ($r=-0.37$, $P<0.05$) 있음을 보고하였다[33].

비록 아디포넥틴 유전자가 동맥경화의 병인을 전부 설명할 수 없어도 동맥경화 발생과 진행에 어느 정도의 역할을 하리라 사료된다. 결론적으로 본 연구에서는 아디포넥틴 유전자의 276번 부위의 유전자 다형성이 증가된 경동맥 내중막두께와 연관이 있음을 보였다. 276번 부위의 GG 유전자형을 갖는 환자에서 TT 유전자형을 갖는 환자에서보다 경동맥 내중막두께가 더 컸는데 이것은 TT 유전자형에서 보다 감소된 혈청 아디포넥틴 농도와 관련이 있을 것으로 사료된다. 현재까지 아디포넥틴 유전자와 경동맥 내중막두께와의 관련성에 대한 연구는 없다. 본 연구는 이들의 상관관계에 대한 선도적인 연구인 점이 의미가 있겠다. 향후 기능적인 연구와 많은 환자에서의 연구 또 다른 인종에서의 연구 등이 이 유전형과 표현형과의 관계를 명확히 하는데 필요할 것이다.

요 약

연구배경: 제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자의 다형성과 경동맥내중막 두께와의 관계를 보고자 하였다.

대상 및 방법: 133명의 제2형 당뇨병 환자를 대상으로 고해상도 B mode 경동맥 초음파 검사를 통하여 경동맥을 촬영한 후 Intimascope 컴퓨터 프로그램을 이용하여 경동맥내중막두께를 측정하였고 환자들의 말초혈액에서 genomic DNA를 얻어서 45번 부위와 276부위의 염기서열을 분석하였다.

결과: 45번 부위의 염기서열에 따른 경동맥내중막 두께에는 각 군간에 유의한 차이는 보이지 않았다 (0.66 ± 0.18 mm for TT, 0.71 ± 0.12 mm for TG, 0.64 ± 0.15 mm for GG, $P=NS$). 276번 부위에 GG 유전자형을 갖는 환자들에게서는 TT 유전자형을 갖는 환자들에 비해서 혈청 아디포넥틴 농도가 유의하게 낮았으며 (3.35 ± 2.00 $\mu\text{g/mL}$ vs. 4.98 ± 2.24 $\mu\text{g/mL}$, $P=0.029$), 경동맥 내중막두께도 유의하게 더 컸다 (0.70 ± 0.17 mm vs. 0.59 ± 0.13 mm, $P=0.032$). 아디포넥틴 유전자의 +45GG/+276GG 유전자형 조합을 갖는 환자들에게서 다른 유전자형조합을 갖는 환자들에게서 보다 유의하게 경동맥내중막두께가 컸다 (0.78 ± 0.09

mm vs. 0.71 ± 0.15 mm, $P=0.013$).

결론: 이 결과는 제2형 당뇨병 환자에서 아디포넥틴 유전자의 다형성이 경동맥 내중막두께에 어느 정도 영향을 줄 수 있음을 시사하나 이러한 유전형과 표현형의 관계를 보다 명확하게 하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것이다.

참 고 문 헌

1. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Novel modulator for endothelial adhesion molecules; adipocyte-derived plasma protein adiponectin. Circulation 100:2473-2476, 1999*
2. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA: *Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. J Clin Endocrinol Metab 86:1930-1935, 2001*
3. Pellme F, Smith U, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brekke H, Wiklund O, Taskinen MR, Jansson PA: *Circulating adiponectin levels are reduced in nonobese but insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. Diabetes 52: 1182-1186, 2003*
4. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y: *Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20:1595-1599, 2000*
5. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi

- M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. Circulation 102:1296-1301, 2000*
6. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. Circulation 103:1057-1063, 2001*
 7. Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumiya J, Yoda M, Nakano Y, Shimizu N, Tomita M: *Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). Gene 229:67-73, 1999*
 8. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A: *A Haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. Diabetes 51:2306-2312, 2002*
 9. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T: *Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. Diabetes 51:536-540, 2002*
 10. Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG: *Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall: verification of intima-media thickness. Arterioscler Thromb 13:482-486, 1993*
 11. Burke GL, Evans GW, Riley WA, Sharret AR, Howard G, Barnes RW, Rosamond W, Crow RS, Rautaharju PM, Heiss G: *Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Stroke 26:386-391, 1995*
 12. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr, for the Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group: *Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. N Engl J Med 340:14-22, 1999*
 13. Yamasaki Y, Kawamori Y, Matsushima H, Nishizawa H, Kodama M, Kajimoto Y, Morishima T, Kamada T: *Atherosclerosis in carotid artery of young IDDM patients monitored by ultrasound high-resolution B-mode imaging. Diabetes 43:634-639, 1994*
 14. World Health Organization. Report of a WHO Consultation, Part 1: *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. WHO/NCD/NCS/99.2. Geneva: World Health Organization, 1999*
 15. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 18:499-502, 1972*
 16. Matthews DR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: *Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 28:412-419, 1985*
 17. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R: *Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. Circulation 74:1399-1406, 1986*
 18. Yamasaki Y, Kawamori R, Matsushima H, Nishizawa H, Kodama M, Kubota M, Kajimoto Y,

- Kamada T: *A symptomatic hyperglycemia is associated with increased intimal plus medial thickness of the carotid artery. Diabetologia* 38: 585-591, 1995
19. Giral P, Pithois-Merli I, Filitti V, Levenson J, Plainfosse MC, Mainardi C, Simon AC: *Risk factors and early extracoronary atherosclerosis plaques detected by three site ultrasound imaging in hypercholesterolemic men. Arch Intern Med* 151:950-956, 1991
20. Bruckert E, Giral P, Salloum J, Kahn JF, Dairou F, Truffert J, Reverdy V, Thomas D, Evans J, Grosogeat Y: *Carotid stenosis is a powerful predictor of a positive exercise electrocardiogram in a large hyperlipidemic population. Atherosclerosis* 92:105-114, 1992
21. Giral P, Bruckert E, Dairou F, Boubrit K, Drobinski G, Chapman J, Beuder I, Turpin G: *Usefulness in predicting coronary artery disease by ultrasonic evaluation of the carotid arteries in asymptomatic hypercholesterolemic patients with positive exercise stress tests. Am J Cardiol* 84:14-17, 1999
22. Humphries S, Morgan L: *Genetic risk factors for stroke and carotid atherosclerosis: insights into pathophysiology from candidate gene approaches. Lancet Neurol* 3:227-235, 2004
23. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi Y, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T: *Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. J Biol Chem* 278:2461-2468, 2003
24. Stumvoll M, Tschrutter O, Fritsche A, Strager H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Haring H: *Association of the TG polymorphism in adipone-*
- ctin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. Diabetes* 51:37-41, 2002
25. Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adipone-*
- ctin. Int J Obes Relat Metab Disord* 24:861-868, 2000
26. Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, Kumada M, Takahashi M, Matsuda M, Ouchi N, Kihara S, Kawamoto T, Sumitsuji S, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. Diabetes* 51:2325-2328, 2002
27. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Lepretre F, Dupont S, Hara K, Clement K, Bihain B, Kadowaki T, Froguel P: *Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. Hum Mol Genet* 11:2607-2614, 2002
28. Bacci S, Menzaghi C, Ercolino T, Ma X, Raueo A, Salvemini L, Vigna C, Fanelli R, Di Mario U, Doria A, Trischitta V: *The +276 G/T Single Nucleotide Polymorphism of the Adiponectin Gene Is Associated With Coronary Artery Disease in Type 2 Diabetic Patients. Diabetes Care* 27:2015-2020, 2004
29. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T: *Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neoin-*

- timal formation. J Biol Chem* 277:25863-25866, 2002
30. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, Kumada M, Okamoto Y, Nagaretani H, Nishizawa H, Kishida K, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Nagai R, Funahashi T, Matsuzawa Y: *Role of adiponectin in preventing vascular stenosis: the missing link of adipovascular axis. J Biol Chem* 277:37487-37491, 2002
31. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T, Matsuzawa Y: *An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. Horm Metab Res* 32:47-50, 2000
32. Matsuda M, Kawasaki F, Yamada K, Kanda Y, Saito M, Eto M, Matsuki M, Kaku K: *Impact of zawa Y, Wiklund O, Yang X, Taskinen MR, Smith U: A novel cellular marker of insulin resistance and early atherosclerosis in humans is related to impaired fat cell differentiation and low adiponectin. FASEB J* 17:1434-1440, 2003
33. Jansson PA, Pellmé F, Hammarstedt A, Sandqvist M, Brekke H, Caidahl K, Forsberg M, Volkman R, Carvalho E, Funahashi T, Matsu-