

Prothrombin T165M과 Factor V R485K 유전자다형성과 관상동맥질환과의 관련성

연세대학교 의과대학 심혈관연구소, 심혈관계질환 유전체연구센터,¹ 질병관리본부 국립보건연구원 유전체연구부,²
연세대학교 생활환경대학 식품영양학과,³ DNA링크,⁴ 연세대학교 의과대학 심장내과학교실⁵

조은영¹ · 유하정² · 배수진^{1,3} · 김 숙^{1,4} · 이종은^{1,4}
고영국^{1,5} · 박현영^{1,5} · 이종호^{1,3} · 장양수^{1,5}

Prothrombin T165M and the Factor V R485K Polymorphism are Associated with an
Increase Risk of Coronary Artery Disease in Koreans

Eun Young Cho, Ph.D.¹, Ha Jung Ryu, Ph.D.², Soo Jin Bae, M.S.^{1,3},
Sook Kim, M.S.^{1,4}, Jong Eun Lee, Ph.D.^{1,4}, Young-Guk Ko, M.D.,^{1,5},
Hyun-Young Park, M.D.^{1,5}, Jong Ho Lee, Ph.D.^{1,3} and Yangsoo Jang, M.D.^{1,5}

¹Cardiovascular Research Institute, Cardiovascular Genome Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

²National Genome Research Institute, National Institute of Health, Seoul, ³Department of Food and Nutrition,
College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul, ⁴DNA link, Inc, Seoul, ⁵Division of Cardiology,
Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : An increased coagulation activity and an impaired antithrombotic function are associated with coronary artery disease (CAD). The purpose of this study was to evaluate whether the genetic variations in the prothrombin and factor V genes are associated with CAD. **Subjects and Methods :** One hundred twenty eight patients having CAD and 168 healthy controls participated in this study. 98 of the CAD patients, who were not taking anticoagulant drugs, and 132 controls were analyzed for their prothrombin (PT) and factor V (FV) coagulant activity. The genotype was determined by the SNP-IT method. **Results :** The genetic variation for the PT G2210A and FV R506Q (Leiden) was not detected in our standard samples. The genotype frequency of the T165M polymorphism in the PT gene of the CAD were not different from those of the control group. However, logistic regression analysis showed that 165MM genotype of the PT 165M polymorphism is associated with CAD independently (Odds ratio 1.82, 95% confidence interval; 1.04-3.16). Subjects with 165MM homozygote had higher PT activity than those with the 165T carrier in the both groups ($p<0.05$). The prevalence of the RR+RK genotype in the factor V R485K polymorphism was significantly higher in CAD group than in the control group (92% in CAD vs. 82% in control, $p=0.012$). From the multivariate analysis, the odds ratio of the 485K carrier was 2.48 for CAD (95% confidence interval: 1.87-5.66), in relation to the control subjects. No significant influence was seen of the factor V R485K polymorphism on corresponding mean factor V activity in control group. **Conclusion :** The PT 165MM genotype was linked with elevated levels of PT activity. The PT T165M and FV R485K polymorphisms were associated with CAD in Koreans. (Korean Circulation J 2005;35:429-435)

KEY WORDS : Prothrombin ; Factor V ; Blood coagulation ; Polymorphism ; Coronary disease.

논문접수일 : 2005년 3월 22일

심사완료일 : 2005년 4월 22일

교신저자 : 장양수, 120-749 서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 심혈관연구소, 심혈관계질환 유전체연구센터

전화 : (02) 2228-8460 · 전송 : (02) 393-2041 · E-mail : jangys1212@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

증가된 혈액응집과 손상된 항혈전형성 기능은 급성 심근경색 및 관상동맥질환의 발생과 밀접한 연관성을 나타낸다.¹⁾ 높은 prothrombin과 factor V 활성은 그 자체로, 또는 혈청 콜레스테롤 농도, 호모시스테인 농도 및 섬유소원 농도 증가와 유의한 관련성을 통해 관상동맥질환의 발생위험을 증가시키는 것으로 알려져 있다.²⁾ 또한 thrombin은 혈관내피세포의 증식과 fibroblast의 mitogenesis에도 관여하여 동맥경화반형성에 기여할 것으로 제시되고 있다.³⁾ 최근 Redondo 등⁴⁾은 Prothrombin활성의 증가 뿐 아니라 FV 응고인자의 활성증가 역시 심근경색증 발생의 주요한 위험인자로 보고하였다.

Prothrombin은 serine protease thrombin의 전구체로 혈소판의 활성을 통한 혈액응고 촉진인자(procoagulant)로 기능하고 fibrin, factor Va, VIIIa, XIIIa의 형성에 관여하는 주요한 혈액 단백질이다. 11번 염색체(11p11-q12)의 prothrombin유전자에 의해 간에서 합성되며 prothrombin유전자다형성은 prothrombin활성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 현재까지 3' untranslated region의 G20210A와 아미노산 변화가 유도되는 T165M(rs5896)다형성이 대표적으로 알려져 있으며 그외 다수의 아미노산 변화가 없는 비기능성 유전자다형성이 public data base에 등록되어 있다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>).^{5,6)}

Factor V(FV)는 factor Xa, α -thrombin에 의해 prothrombin이 thrombin으로 전환할 때 주요한 조효소로 작용하며 활성화된 Factor V(Va)는 activated protein C(APC)에 의해 FV로 전환, 불활성화 되어 혈액응고-항혈전형성의 항상성 유지에 기여한다.⁷⁾ Factor V 단백질은 3개의 A-domain과 두 개의 C domain를 연결하는 B 부분으로 구성되어 A1-A2-B-A3-C1-C2의 순서로 구성되며 FVa가 FV로 전환시 A2 부분에 분해가 일어난다.^{8,9)} FV 유전자는 1번 염색체(1q21-25)에 위치하며 지금까지 20개의 아미노산 변화(missense)가 유도되는 유전자다형성이 알려져 있다.⁸⁾ 이중 R506Q, R485K유전자다형성은 A2 domain에 위치하며 단일염기 G가 A로 치환되어 각각 506번째, 485번째 아미노산인 arginine이 glutamine과 lysine으로 변환되어 FV로의 전환효율에 영향을 주어 APC저항성과의 관련성이 제시되었다.^{8,9)}

최근 국내에서도 혈액응고기전과 관련한 혈장 섬유소원 및 프라즈미노겐 활성인자 억제제-1등의 유전자다형성 및 관상동맥질환과의 관련성에 대한 연구가 보고되고 있으며, 특히 이들 유전자다형성의 대립인자의 발현빈도가 서구인과 차이점이 보고되었다.^{10,11)} Prothrombin G20210A와 Factor V R506Q유전자다형성과 정맥혈전증과의 관련성에 대한 많은 연구 보고가 있었으나 한국인에서의 이들 유전자다형성의 발현빈도는 극히 낮은 것으로 보고되고 있고 정맥혈전증의 유

병율도 서구에 비해서 낮은 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구는 혈액응고인자 활성과의 관련성이 제시되는 prothrombin 및 factor V 유전자의 최근 알려진 잠재적 기능성 유전자다형성의 발현빈도를 살펴보고 혈액응고인자활성에 미치는 영향 및 관상동맥질환 발생과의 관련성에 대해 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

대 상

본 연구는 2001년 2월부터 2003년 10월 사이에 세브란스 병원 심혈관계질환 유전체연구에 참여한 32~78세의 정상 대조군 168명(남 : 여=120 : 48)과 관상동맥질환군 128명(남 : 여=97 : 31)을 대상으로 하였다. 이 중 정상 대조군(평균 연령 56.4 \pm 7.2세)은 관상동맥 질환의 증상 또는 위험인자가 없고 고혈압, 당뇨병, 뇌혈관질환, 말초혈관질환을 진단 받지 않은 남성으로 흉부 X-선상 심장비대 소견이 없고 심전도상 정상소견을 보이는 사람 중 체질량지수(body mass index: BMI)가 30 kg/m², 중성지방이 400 mg/dL이하인 경우를 대상으로 하였다.

관상동맥질환군(이하 CAD군, 평균 연령 56.4 \pm 9.0세)은 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 관동맥조영술상 적어도 한 혈관 이상에서 내경의 50% 이상 협착이 확인된 남성 환자로, 급성 관동맥 증후군의 발생 후 6개월이상 경과한 환자를 대상으로 하였다. 관상동맥질환 환자는 주요 혈관에서 50% 이상의 협착이 하나인 단일혈관질환군과 2개 이상의 다혈관질환군으로 분류하였다. 혈청지질강하제나 호르몬제를 복용하는 경우는 대상에서 제외하였다.

본 연구에 참여한 모든 대상자들로부터 서면동의를 받은 후 시행되었다.

인체계측 및 설문조사

인체계측으로 신장과 체중을 측정하고 비만지표로 BMI를 계산하였다. 대상자를 평평한 바닥에 세운 채 tape로 허리둘레를 측정하여 복부비만의 지표로 사용하였다. 일대일 면담을 통하여 흡연, 음주습관에 대한 설문조사를 실시하였다.

혈중 지질농도 측정

검사 당일 아침 채혈 전 10시간 이상의 공복 후 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방은 자동 분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL

중에서 콜레스테롤을 효소법으로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedewald 공식(총콜레스테롤-HDL 콜레스테롤-중성지방/5)에 의해 계산하였다.

혈당 및 인슐린 측정

혈당은 포도당 산화효소법으로 인슐린농도는 INC(Immuno Nucleo Cooperation, Stillwater, USA)에서 제조한 kit를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 공복 혈당과 인슐린 농도를 이용하여 HOMA(Homeostasis model assessment)법으로 인슐린 저항성을 계산하였다.¹²⁾

혈액응고인자 활성

정상대조군 132명(남 : 여=86 : 46)과 외과린등의 항혈액응고제를 복용하지 않는 CAD군 98명(남 : 여=69 : 29)에서 Prothrombin, factor V의 활성을 분석하였다. Sodium citrate를 항응고제로 사용한 tube에 채혈한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장을 이용해 ACL200(Automate Coagulation Laboratory, Milan, Italy)기기를 사용하여 분석하였다. Human deficient plasma(Instrument Laboratory, MA, USA)를 이용한 modified prothrombin time 분석을 실시하여 deficient plasma의 응고시간을 보정한 calibration curve를 이용하여 각 시료의 응고인자의 활성을 구하였다.

유전형 분석

DNA는 전혈 5 mL에서 DNA isolation kit(Gentra Genomic DNA purification kit, Minneapolis, U.S.A.)를 이용하여 추출하였고, prothrombin유전자의 T165M과 factor V R485K유전형분석을 위해 5'CCG ACC TAC AGG AGA ATT T-3' and 5'TTA CCA CAG ACA GGG ATG CT-3'와 5'-AAA CCT ATA CTT ATA AGT GGA ACA TCT TAG A-3' and 5'-ATC TGC TCT TAC AGA TTG AAG TAG TCC-3' 염기서열의 시발체를 이용하여 각 유전자의 115 base pair (bp)와 142 bp의 염기쌍을 중합효소 연쇄반응 기계(PCT-100^{PM}, MJ Reserach INC, Waltham, MA, USA.)을 이용하여 증폭시켰다. 증폭후 결합되지 않은 시발체(unbound primer) 및 뉴클레오티드를 제거하였다. 단일염기다형성 분석은 SNP stream 25K system(Orchid Biosciences, Princeton, NJ, USA)를 이용한 SNP IT(SNP-Identification Technology, Orkid Biosciences, Princeton, NJ, USA) assay 방법을 이용하였으며 prothrombin T165M과 factor V R485K의 유전형분석을 위한 시발체의 염기서열은 각각 5'-TGC CGC AAC CCC GAC AGC AGC ACC A-3'과 5'-TAC TAC AGT GAC GTG GAC ATC ATG A-3'이다. PCR 산물을 plate에 부착시킨 genotype primer에 anneal시킨 후 다시 biotin 또는 fluorescein isothiocyanate(FITC)로 표지된 각각의 dideoxynucleotide와 반응시켜 단일염기 확장 후 반응이 종료되도록 한 후 표지자 분석을 통하여 각각의

유전형을 결정하였다. 무작위로 선정된 시료에서 직접염기서열 분석을 통해 유전형 결과를 확인하였다.

자료의 통계처리

모든 자료는 Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Science, SPSS Ins., Chicago, IL, USA) 12.0을 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치들은 평균±표준편차로 표시하였다.

대조군과 관상동맥질환군의 기본적인 임상특성은 Student t-test와 χ^2 -test를 이용하여 분석하였고, 두 군에서 각각의 유전형에 따른 혈청 지질수치 및 혈액응고인자 활성의 차이는 주요 대립인자(allele)의 유무에 따라 두 군으로 나누어 Student t-test로 분석하였다.

Prothrombin 및 factor V유전자다형성과 관상동맥질환발생과의 관련성을 알아보기 위해 성별, 허리둘레, 고혈압유무, 중성지방, 총 콜레스테롤 농도, 인슐린저항성, 음주, 흡연습관 등을 covariate로 multiple logistic regression분석을 실시하였고, OR는 95% CI로 표시하였다. 통계적 유의수준은 $p<0.05$ 로 하였다.

결 과

환자의 일반적 특성

대상자의 일반적 특성은 Table 1과 같다. 두 군간 평균 연령 및 비만도의 유의한 차이는 없었으나 혈중 중성지방 농도와 공복혈당 및 인슐린저항성 지표가 CAD군에서 대조군에 비해 유의적으로 높았고 HDL 콜레스테롤 농도는 CAD군에서 유의적으로 낮았다($p<0.05$). CAD군에서 대조군에 비해 고혈압 및 당뇨병의 유병율이 유의적으로 높았다($p<0.05$).

Table 1. Age and biochemical variables in study subjects

	Control (n=168)	CAD (n=128)
Age (yrs)	56.4±7.19	56.4±9.01
BMI (kg/m ²)	24.5±2.17	24.8±2.28
Waist circumference (cm)	87.7±6.04	90.0±7.15
Triglyceride (mg/dL)	133±62.3	157±83.9*
Total cholesterol (mg/dL)	209±36.2	194±32.9 [†]
LDL cholesterol (mg/dL)	134±34.7	124±30.9*
HDL cholesterol (mg/dL)	47.4±10.9	38.1±8.9 [†]
Glucose (mg/dL)	86.8±14.4	92.2±18.2 [†]
Insulin (μ U/mL)	7.99±6.16	9.23±6.57
HOMA IR	1.75±1.61	2.16±1.81*
Hypertension (%)	17	41 [‡]
Diabetes (%)	2	7*
Current drinker (%)	68	61
Ex+current smoker (%)	55	63

CAD: coronary artery disease, BMI: body mass index, LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein, HOMA IR: homeostasis model assessment insulin resistance index. Mean±SD *: $p<0.05$, [†]: $p<0.01$, [‡]: $p<0.001$ significantly different from control group by student's t-test

유전자다형성의 빈도분석

Prothrombin과 factor V의 유전자다형성 분석 결과는 Table 2에 나타냈고, 각각의 분석결과는 Hardy-Weinberg equilibrium을 따르는 것으로 나타났다(df=1, $p>0.05$).

Prothrombin T165M의 TT : TM : MM 빈도는 CAD군에서 17% : 46% : 37%로 T : M 대립인자의 빈도가 0.39 : 0.61로 대조군의 15% : 57% : 28%, 0.44 : 0.56에 비해 165M 대립인자의 빈도가 다소 높았으나 두 군간 통계적 유의성은 없었다.

Factor V R485K의 RR : RK : KK 빈도는 대조군 18% : 44% : 38%에 비해 CAD군에서 8% : 54% : 38%로 유의적인

Table 2. Genotype and allele frequencies in the two groups

Gene	SNP	Control n=168 (%)	CAD n=128 (%)	p
Prothrombin T465M	TT	26 (16)	21 (17)	$p=0.138$
	TM	95 (56)	59 (46)	
	MM	47 (28)	48 (37)	
Factor V R485K	RR	30 (18)	10 (8)	$p=0.029$
	RK	73 (44)	69 (54)	
	KK	63 (38)	48 (38)	
165TT+TM/485RR		25 (15)	7 (6)	$p=0.025$
165TT+TM/485RK+KK		96 (58)	72 (57)	
165MM/485RR		5 (3)	3 (2)	
165MM/485RK+KK		40 (24)	45 (35)	

CAD: coronary artery disease, SNP: single nucleotide polymorphism, T: threonine, M: methionine, R: arginine, K: cystine

Table 3. Odds ratio for the effect of Factor II T165M gene polymorphism on CAD by logistic regression analysis

	OR (95% CI)	P	Adjusted OR (95% CI)	P
165MM vs 165TT+TM	1.55 (0.95-2.53)	0.083	1.82 (1.04-3.16)	0.035
485RK+KK vs 485RR	2.58 (1.2-5.50)	0.014	2.48 (1.87-5.66)	0.031

Adjusted by gender. Hypertension, triglyceride, total cholesterol, insulin resistance status, drinking status. CAD: coronary artery disease, OR: odds ratio, CI: confidence interval

차이를 보였으며(df=2, $p=0.029$), 485K 대립인자의 빈도는 CAD군에서 0.65로 대조군 0.60보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다.

CAD군에서 단일혈관질환군은 45명(35%)였고, 다혈관질환군이 83명(65%)였으며 두 유전자의 협착 정도에 따른 유전형 분포의 차이는 없었다(결과는 표로 제시하지 않았음).

두 유전자의 상호연관성 분석결과 prothrombin T 대립인자와 factor V 485RR 유전형을 가지는 경우는 대조군 15%로 CAD군 6%에 비해 높은 반면 prothrombin 165MM 유전형과 Factor V 485K 대립인자를 가지는 빈도는 CAD군에서 35%로 대조군 24%에 비해 높아 두 군간 유의적 차이를 나타냈다(df=3 $p=0.025$).

유전자다형성과 혈액응고인자활성과의 관련성

전체 대조군과 CAD군의 평균 prothrombin과 factor V 활성은 110 ± 18.5 vs $109 \pm 17.3\%$ 와 131 ± 33.2 vs $126 \pm 30.0\%$ 로 두 군간 유의적인 차이는 없었다.

유전자다형성에 따른 혈액응고인자 활성은 Fig. 1, 2와 같다.

대조군과 CAD군에서 prothrombin 165MM군의 prothrombin 활성은 각각 $117 \pm 20.0\%$, $115 \pm 21.5\%$ 로 165T 대립인자군의 $107 \pm 17.0\%$, $105 \pm 13.1\%$ 에 비해 유의적으로 높았다($p<0.01$). CAD군에서 prothrombin 165MM군의 factor V 활성은 136 ± 32.2 로 165T 대립인자군의 $120 \pm 27.1\%$ 보다 유의적으로 높았다($p<0.05$).

대조군에서 Factor V R485K 유전자다형성에 따른 혈액응고인자 활성의 유의적인 차이는 없었으나 CAD군에서는 485K 대립인자군에서 factor V 활성이 $129 \pm 28.1\%$ 로 485RR군의 $101 \pm 17.3\%$ 비해 유의적으로 높았다($p<0.01$).

유전자다형성이 관상동맥질환 발생에 미치는 영향

각각의 유전자다형성이 관상동맥질환 발생에 미치는 영향을 알아보기 위해 주요 대립인자 유무로 두 군으로 나누어

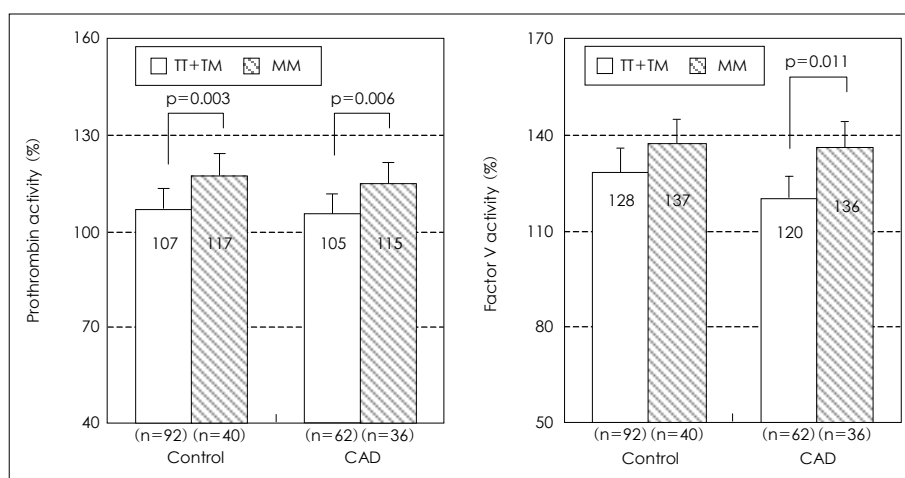


Fig. 1. Plasma coagulation activity according to prothrombin T165M polymorphism. T: threonine, M: methionine, CAD: coronary artery disease.

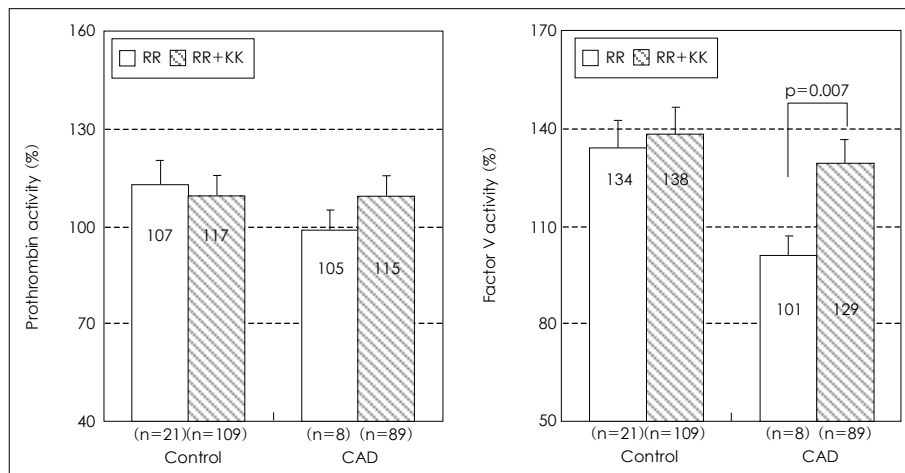


Fig. 2. Plasma coagulation activity according to factor V R485K polymorphism. R: arginine, K: cystine, CAD: coronary artery disease.

분석을 실시하였다. 다른 관상동맥질환의 위험인자를 보정한 후 prothrombin 165MM 유전자다형성 165T대립인자군(TT+TM)에 비해 CAD 발생위험을 1.82배($p<0.05$) 증가시키는 것으로 분석되었다(Table 3). 또한 Factor V 485RR군에 비해 485K대립인자군(RK+KK)은 CAD발생위험을 2.48배 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다($p<0.05$).

고 찰

본 연구는 한국인에서 혈액응고인자 관련 유전자다형성의 발현빈도 및 관상동맥질환발생과의 관련성을 살펴보고자 하였다.

혈중 혈액응고인자의 활성은 성별, 비만도, 혈중 지질농도, 흡연등과 유의적인 상관성을 나타낸다.²⁾ 본 연구에서도 prothrombin활성은 비만도 및 중성지방, 총 콜레스테롤 농도, LDL 콜레스테롤농도와 유의한 양의 상관성을 나타내었다(결과는 표로 제시하지 않음). 그러나 지질강화제를 복용하지 않은 CAD군을 대상으로 한 본 연구에서는 대조군과 CAD군의 평균 prothrombin과 factor V 활성은 두 군간 유의적인 차이는 없었다.

Prothrombin G20210A유전자다형성과 factor V R506Q (Leiden)다형성은 높은 prothrombin 활성과 APC 저항성과 관련하여 정맥혈전의 위험을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 prothrombin G20210A, Factor V R506Q유전자다형성과 심근경색증 및 관상동맥질환과의 관련성은 발생연령, 성별에 따라 다르게 보고되고 있어 환경인자와의 관련성 및 다른 유전자다형성과의 연관성이 제시되었다.⁴⁾⁸⁾¹³⁾ 본 연구에서 52명의 표준시료를 이용한 분석에서 이 두 유전자다형성은 검출되지 않아 송 등¹⁴⁾이 보고한 factor V의 R306Q 유전자다형성과 함께 한국인에서 prothrombin G20210A, factor V R506Q의 유전자다형성을 이용한 임상적 진단가치는 낮은 것으로 여겨진다.

Prothrombin T165M 유전자 다형성은 exon 3에 위치하며 단일염기 C가 T로 전환되어 threonine이 methionine으로 변화되는 기능성 유전자다형성으로 서구인에서의 발현 빈도는 1~43%로 다양하게 보고되고 있다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>). 본 연구에서 165M 대립인자의 발현 빈도는 60%였으며 많은 인원을 대상으로 한 처음 분석결과로 165MM유전자다형성은 다른 위험인자를 보정했을때 관상동맥질환의 발생위험을 1.82배(95% CI; 1.04~3.16) 증가시키는 것으로 분석되었다. 이는 Prothrombin 165MM유전자다형성은 아미노산 변화를 통해 직접적으로 유전자발현이나 기능에 영향을 주어 대조군과 CAD군에서 보여진 대로 prothrombin활성의 증가를 초래하여 관상동맥질환의 발생위험을 증가시키는 것으로 생각된다. 또한 Doggen 등¹⁵⁾의 Prothrombin G20210A와 factor V R506Q 유전자다형성과의 상호작용(Synergic effect)시 관상동맥질환의 위험을 보다 증가시킨다고 보고하였으며 본 연구에서도 CAD 군에서 prothrombin 165MM 유전형과 factor V 485K 대립인자를 함께 가지는 경우가 대조군에 비해 높은 비율로 나타나 두 유전자다형성의 상호작용의 가능성을 제시하고 있다. 실질적으로 혈액응고인자의 활성 역시 CAD군에서 prothrombin 165T 대립인자와 factor V 485RR유전형을 가지는 경우에 비해 prothrombin 165MM유전형과 factor V 485K 대립인자를 가질 경우 prothrombin과 Factor V 활성의 유의적인 증가가 관찰되었다(97 ± 14.8 , 95.2 ± 12.3 vs 116 ± 22.3 , 138 ± 32.3 , $p<0.05$).

1628번째의 G 염기가 A로 전환되어 485번째 아미노산인 arginine이 lysine으로 전환되는 R485K유전자다형성은 A domain의 exon10번에 위치하며 R506Q 유전자다형성과 인접한 부위에 위치하고 있고 소, 돼지등의 종과 상관없이 보고되고 있다.⁸⁾ 485K대립인자의 발현빈도는 중국인에서 20~39%로 보고되었으나 인종에 따라 다양한 차이를 나타내어 유럽인의 7%에 비해 아프리카에서는 32.4%로 높은 비율로 나

타나고 있다.⁹⁾¹⁶⁾ 본 연구의 factor V 485K 대립인자의 발현 빈도는 61~63%로 중국인의 발현빈도에 비해 높았으나 Watanabe 등⁸⁾이 보고한 일본 여성에서의 발현빈도 67~76%와 유사하였다.

Factor V R485K 유전자다형성은 APC 저항성과 관련하여 Hiyoshi 등¹⁷⁾이 Thai인에서 혈전형성의 위험요인임을 제시하였고 Le 등¹⁸⁾은 중국인에서 관상동맥질환의 발생위험을 증가시키는 것으로 보고하였다. 그러나 R485K 유전자다형성과 APC 저항성 및 관상동맥질환과의 관련성에 대해서는 아직 논란이 되고 있다. Le 등¹⁸⁾은 CAD군에서 485RR유전형에 비해 RK, KK유전형에서 APC의 반응성이 유의적으로 낮음을 보고하였으나 Helley 등⁹⁾은 건강한 대조군에서는 R485K 유전자다형성과 APC저항성과 관련이 없음을 보고하여 병태생리적 조건에 따라 R485K 다형성의 기능이 달라질 것으로 제시되고 있다.

Factor V R485K유전자 다형성은 thrombin에 의한 factor V의 Va로의 활성화증가 또는 factor Va의 증가된 활성이 thrombin 형성 증가를 통해 심혈관질환의 위험을 증가시키는 것으로 제시되었다.⁹⁾ 본 연구에서도 factor V 485K대립인자를 갖는 경우 CAD군에서 유의적인 factor V 활성증가와 prothrombin 활성증가의 경향이 관찰되었다.

최근 factor V가 prothrombin를 활성화시키고 APC에 의해 불활성화되는 반응과 관련한 혈액응고촉진 기능외에도 APC가 factor VIII을 불활성화시키는 반응에서 proteins S와 함께 조효소로 작용하는 항혈액응고기능에 관심이 증가되고 있다.¹⁹⁾ 즉 factor V의 유전자다형의 기능과 관련하여 factor V 인자가 결핍된 혈장을 이용해 평가하는 APC반응성과의 관련성에 대한 일관되지 못한 보고는 factor V의 농도에 따라 혈액응고촉진, 항혈액응고의 두 가지 기능이 결정되며 높은 factor V농도시에는 항혈액응고기능이 우세하나 유전자다형성시에는 항혈액응고기능이 감소되고 factor VIII의 불활성화 반응 지연으로 APC 저항성이 초래되기 때문으로 제시되고 있다.¹⁹⁾ 그러나 factor V R485K 다형성의 보다 구체적인 기능구명을 위해서는 factor Va의 동력학 연구(Kinetic study)와 prothrombinase 복합체에서의 factor V의 활성측정등의 연구가 진행되어야 할 것이다. 또한 본 연구에서 factor V 485K대립인자는 관상동맥질환의 위험을 유의적으로 증가시키는 것으로 분석되었으나 485RR유전형의 대상자수가 적어 보다 많은 대상에서의 연구가 필요하다 여겨진다.

요 약

배경 및 목적 :

본 연구는 한국인에서 혈액응고기전과 관련한 prothrombin 및 Factor V 유전자다형성의 발현빈도 및 관상동맥질환 발생과의 관련성에 대해 살펴보고자 하였다.

방 법 :

168명의 정상 대조군과 128명의 관상동맥질환군을 대상으로 혈청지질농도와 혈액응고인자활성을 측정하고 prothrombin T165M, factor V R485K유전자 다형성을 SNP-IT방법으로 분석하였다.

결 과 :

정상 대조군에서 prothrombin T165M의 T : M 빈도는 0.44 : 0.56으로 CAD군의 0.39 : 0.61과 유의적인 차이는 없었다. 대조군의 factor V 485RR : RK : KK빈도는 18% : 44% : 38%로 CAD군의 8% : 54 : 38%와 유의적인 차이를 보였다. 대조군과 CAD군에서 prothrombin 165MM유전형군의 prothrombin 활성은 165TT+TM유전형군에 비해 유의적으로 높았으며 factor V 485K대립인자군의 factor V활성은 485RR군에 비해 CAD군에서만 유의적으로 높았다. 성별, 혈청지질농도 및 인슐린저항성, 음주, 흡연등의 다른 위험요인을 통제했을 때 prothrombin 165MM유전형과 factor V 485K대립인자는 관상동맥질환의 발생위험을 각각 1.82, 2.4배 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다.

결 론 :

Prothrombin T165M유전자다형성은 prothrombin 활성증가와 유의한 관련이 있으며 한국인에서 관상동맥질환의 발생 위험을 유의적으로 증가시키고 factor V R485K 유전자다형성 역시 관상동맥질환의 발생과 유의한 관련성을 나타냈다.

중심 단어 : Prothrombin ; Factor V ; 혈액응고인자활성 ; 유전자다형성 ; 관상동맥질환.

본 연구는 한국과학재단 2002 목적기초연구(R03-2002-000-00021)와 2000보건의료기술 연구개발사업의 연구비(00-PJ3-PG6-GN01-0001)의 지원으로 이루어졌음.

REFERENCES

- 1) Nachman RL, Silverstein R. Hypercoagulable states. *Ann Intern Med* 1993;119:819-27.
- 2) Russo C, Girelli D, Olivieri O, et al. G20210A prothrombin gene polymorphism and prothrombin activity in subjects with or without angiographically documented coronary artery disease. *Circulation* 2001;103:2436-40.
- 3) Russo R. Pathogenesis of atherosclerosis. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, editors. Hemostasis and Thrombosis: basic principles and clinical practice. Pa: JB Lippincott Co; 1994. p.861-9.
- 4) Redondo M, Watzke HH, Stucki B, et al. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210G→A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease: high factor V clotting activity is an independent risk factor for myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1020-5.
- 5) Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-703.
- 6) Ceelle H, Bertina RM, van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR, Vos HL. Polymorphisms in the prothrombin gene and their association with plasma prothrombin levels. *Thromb Haemost* 2001;

- 85:1066-70.
- 7) Jackson CM. *Physiology and biochemistry of prothrombin*. In Bloom A, Rofbes CD, Thomas DP, editors. *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburgh UK: Churchill Livingstone; 1994. p.397-438.
- 8) Watanabe H, Hamada H, Yamada N, et al. *Association analysis of nine missense polymorphisms in the coagulation factor V gene with severe preeclampsia in pregnant Japanese women*. *J Hum Genet* 2002;47:131-5.
- 9) Helley D, Besmond C, Ducrocq R, et al. *Polymorphism in exon 10 of the human coagulation factor V gene in a population at risk for sickle cell disease*. *Hum Genet* 1997;100:245-8.
- 10) Kang H, Han K, Choe S, et al. *4G/5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 gene and its effects on coronary artery disease*. *Korean Circ J* 1998;28:1105-11.
- 11) Park H, Oh S, Kwon HM, et al. *The effects of plasam fibrinogen and beta fibrinogen gene polymorphisms on the development of coronary artery disease*. *Korean Circ J* 2000;30:947-57.
- 12) Haffner SM, Kennedv E, Gonsalez C, Stern MP, Miettinen H. *A prospective analysis of the HOMA model*. *Diabetes Care* 1996;19:1138-41.
- 13) Mansourati J, da Costa A, Munier S, et al. *Prevalence of factor V Leiden in patients with myocardial infarction and normal coronary angiography*. *Thromb Haemost* 2000;83:822-5.
- 14) Song KS, Park YS, Kim HK, Choi JR, Park Q. *Prevalence of Arg306 mutation of the factor V gene in Korean patients with thrombosis*. *Haemostasis* 1998;28:276.
- 15) Doggen CJ, Cats VM, Bertina RM, Rosendaal FR. *Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factors: increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A*. *Circulation* 1998;97:1037-41.
- 16) Faisel F, Romppanen EL, Hiltunen M, et al. *Susceptibility to pre-eclampsia in Finnish women is associated with R485K polymorphism in the factor V gene, not with Leiden mutation*. *Eur J Hum Genet* 2004;12:187-91.
- 17) Hiyoshi M, Arnutti P, Prayoonwiwat W, et al. *A polymorphism nt 1628G→A (R485K) in exon 10 of the coagulation factor V gene may be a risk factor for thrombosis in the indigenous Thai population*. *Thromb Haemost* 1998;80:705-6.
- 18) Le W, Yu JD, Lu L, et al. *Association of the R485K polymorphism of the factor V gene with poor response to activated protein C and increased risk of coronary artery disease in the Chinese population*. *Clin Genet* 2000;57:296-303.
- 19) Castoldi E, Brugge JM, Nicolaes GA, Girelli D, Tans G, Rosing J. *Impaired APC cofactor activity of factor V plays a major role in the APC resistance associated with the factor V Leiden (R506Q) and R2 (H1299R) mutations*. *Blood* 2004;103:4173-9.