

# 혈중 지질 농도와 관련한 양적 형질 유전자의 연관 불균형 분석

연세대학교 의과대학 의학통계학교실,<sup>1</sup> 동덕여자대학교 정보학부,<sup>2</sup>  
연세대학교 심혈관계질환 유전체 연구센터,<sup>3</sup> 질병관리본부 생명과학부 유전질환과<sup>4</sup>

송기준<sup>1</sup> · 임길섭<sup>1</sup> · 조진남<sup>2</sup> · 장양수<sup>3</sup> · 박현영<sup>4</sup>

## Linkage Disequilibrium Analysis of Quantitative Trait Locus Associated with Lipid Profiles

Kijun Song, PhD<sup>1</sup>, Kil Seob Lim, PhD<sup>1</sup>, Jin Nam Cho, PhD<sup>2</sup>,  
Yang Soo Jang, MD, PhD<sup>3</sup> and Hyeon Yeong Park, MD, PhD<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Biostatistics, Yonsei University College of Medicine, Seoul,

<sup>2</sup>Dongduk Women's University College of Computer and Information Science, Seoul,

<sup>3</sup>Cardiovascular Genome Center, Yonsei University, Seoul, <sup>4</sup>Division of Genetic Disease, Department of Biomedical Science, Korea Center for Disease Control and Prevention, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background and Objectives :** The common methods of genetic association analysis are sensitive to population stratification, which may easily lead to a spurious association result. We used a regression approach based for linkage disequilibrium to perform a high resolution genetic association analysis. **Subjects and Methods :** We applied a regression approach that can increase the resolution of quantitative traits that are related with cardiovascular diseases. The population data was composed of 543 males and 876 females without cardiovascular diseases, and it was obtained from a cardiovascular genome center. We used information about linkage disequilibrium between the marker and trait locus, and we added the covariates to model their effects. **Results :** We found that this regression approach has the merit of analyzing genetic association based on linkage disequilibrium. In the analysis of the male group, the total cholesterol was significantly in linkage disequilibrium with CETP3 ( $p=0.002$ ), and triglyceride was significantly in linkage disequilibrium with ACE8 ( $p=0.037$ ), APOA1-1 ( $p=0.031$ ), APOA5-1 ( $p=0.001$ ), APOA5-2 ( $p=0.001$ ) and LIPC4 ( $p=0.022$ ). HDL-cholesterol was significantly in linkage disequilibrium with ACE7 ( $p=0.002$ ), ACE8 ( $p=0.008$ ), ACE10 ( $p=0.003$ ), APOA5-2 ( $p=0.022$ ), and MTP1 ( $p=0.001$ ). In the female group, total cholesterol was significantly associated with APOA5-1 ( $p=0.020$ ), APOA5-2 ( $p=0.001$ ), and LIPC1 ( $p=0.016$ ), and triglyceride was significantly associated with APOA5-1 ( $p=0.009$ ), APOA5-2 ( $p=0.001$ ), and CETP5 ( $p=0.049$ ). LDL-cholesterol was significantly associated with APOA5-2 ( $p=0.004$ ), and HDL-cholesterol was significantly associated with LIPC1 ( $p=0.004$ ). **Conclusion :** We used a regression-based method to perform high resolution linkage disequilibrium analysis of a quantitative trait locus that's associated with lipid profiles. This method of using a single marker, as applied in this paper, was well suited for analysis of genetic association. Because of the simplicity, the method can also be easily performed by routine statistical analysis software. (Korean Circulation J 2006;36:688-694)

**KEY WORDS :** Quantitative trait locus ; Association ; Linkage disequilibrium ; Lipids.

### 서 론

질병과 관련된 양적 형질(quantitative trait)의 유전적 관

련성(association)을 분석하기 위한 통계학적 방법들은 인구 집단을 통해 특정한 표식유전자(marker)에서의 유전형(genotype)과 양적 형질간의 관련성을 검정함으로써 그 결과를 전

논문접수일 : 2006년 7월 18일

수정논문접수일 : 2006년 9월 11일

심사완료일 : 2006년 9월 21일

교신저자 : 송기준, 120-752 서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 의학통계학교실

전화 : (02) 2228-2497 · 전송 : (02) 364-8037 · E-mail : biostat@yumc.yonsei.ac.kr

체 인구집단에 관한 추론의 도구로 삼고자하는 것이다. 즉, 개별적인 연구대상들의 유전형과 양적 형질을 조사한 후, 특정한 유전자의 사전적 정보를 이용하여 유전자의 효과에 따라 형질을 비교하는 직접적인 검정을 수행하는 것이다.<sup>1-4)</sup> 이러한 경우 기본적인 분석방법으로 분산분석(ANOVA; Analysis of Variance)의 개념을 적용할 수 있는데, 즉 각각의 유전형에 따라 구분된 집단들의 양적 형질의 평균을 비교하여 통계학적으로 유의한 차이가 날 경우 유전자와 형질간에 관련성이 존재한다고 결론을 내리는 것이다. 그러나, 유전자의 기능적 변형이 직접적으로 관찰되지 않는 대부분의 경우-유전자가 양적 형질과 직접적으로 관련되어 있다는 사실이 밝혀지지 않은 경우-에는 위의 방법을 적용시키기가 수월하지 않다. 또한, 이러한 접근방법에서는 유전자와 형질간의 관련성이 연구대상 집단의 층화(stratification)나 혼합(admixture)에 의해 의사적(spurious)으로 나타날 수 있다는 단점을 내포하고 있다.<sup>5-9)</sup>

본 연구에서는 연관 불균형(linkage disequilibrium)의 개념에 기초하여 위의 방법에서 드러나는 한계를 효율적으로 극복하기 위한 방법을 심혈관계질환과 관련된 혈중 지질 농도에 적용하고자 한다. 가령 동일 염색체(chromosome) 상에 존재하는 두 개의 유전자 A, B에서 각 유전자의 특정한 대립유전자(allele)들을 각각 A, a와 B, b라고 하고 그것들의 상대빈도(relative frequency)를 각각  $P(a)=p$ ,  $P(b)=q$ 라고 했을 때, 두 개의 대립유전자가 독립적(independent)으로 유전된다면 결합빈도(joint frequency),  $P(a, b)$ 는 각각의 빈도의 곱  $P(a)P(b)=pq$ 와 같아지게 된다. 그러나 독립적이지 않으면 그 빈도는 차이가 발생하게 되는데 이러한 상태를 연관 불균형이라고 한다.<sup>10,11)</sup> 또한 두 빈도의 차이,  $P(a, b)-P(a)P(b)=D$ 를 연관 불균형 계수(coefficient)라고 하며 이는 불균형의 정도, 즉 관련성 정도를 측정하는 척도로 사용된다.<sup>12)</sup> 이러한 연관 불균형에 기초한 관련성 분석은 연구대상 선정의 편의(bias)에서 발생하는 우연적인 관련성 결과를 제어할 수 있으며, 특히 염색체상에서 유전자와 형질간의 고해상도(high resolution)의 관련성을 파악할 수 있다는 장점을 가지고 있다.<sup>13-15)</sup>

본 연구에서는 유전적 연관 불균형에 기초하여 관련성을 효율적으로 검정하기 위한 방법을 심혈관계질환 관련 양적 형질 유전자에 적용하고자 한다. 본 연구에서 적용한 방법은 두 개의 대립 유전자를 기본으로 단일(single) 표식유전자를 활용하며 환경적(environmental) 영향 등을 동시에 고려할 수 있는 회귀모형(regression model)에 기초한 방법이다.

## 대상 및 방법

본 연구는 연세대학교 심혈관계질환 유전체 연구센터에서 조사한 자료 중에서, 표식유전자의 정보를 모두 알고 있는 1,419명의 심혈관계질환이 없는 집단을 대상으로 하였는데,

이들은 당뇨, 고혈압, 뇌혈관질환, 말초혈관질환 등이 없으며 이러한 질환들에 대한 가족력이 없고 아울러 지질 강하제나 호르몬 제제 등을 복용하지 않는 건강한 정상 성인들이었다. 실제 분석은 성별에 따라 남자 543명, 여자 876명을 각각 나누어서 분석하였다.

본 연구에 적용된 분석 방법은 회귀모형에 기초한 방법으로서 다음과 같은 몇 가지의 기본적인 가정을 전제로 한다. 먼저 양적 형질에 관여하는 유전자를  $Q$ 라고 표시하고 이는 두 개의 대립유전자,  $Q_1$ ,  $Q_2$ 로 구성되며 각각의 상대빈도를  $q_1$ ,  $q_2$ 라고 가정하기로 한다. 또한, 정보를 알고 있는 단일 표식 유전자를  $M$ 이라고 하고 그것의 대립유전자  $M_1$ ,  $M_2$ 에서 각각의 상대빈도는  $m_1$ ,  $m_2$ 라고 표시한다. 이 때  $Q$ 와  $M$ 은 하디-와인버그 균형(Hardy-Weinberg Equilibrium; HWE) 상태를 만족한다고 가정하고 아울러 양적 형질,  $y$ 는 정규분포(normal distribution)를 따르는 경우라고 설정한다. 위의 가정하에서 다음과 같은 모형 (1)을 설정하는데,

$$y = \mu + \beta \chi + \alpha A + \delta D + \varepsilon \quad (1)$$

로 나타내어진다. 여기에서  $\mu$ 는 연구집단의 전체 평균,  $\chi$ 는 개인별 특성 변수를 나타내고  $\beta$ 는  $\chi$ 에 대한 회귀계수(regression coefficient)이며  $\varepsilon$ 은 모형의 오차항(error term)을 나타낸다.  $A$ 와  $D$ 는  $\varepsilon$ 와는 독립이면서 아래와 같이 설정된 임의의 가변수(dummy variable)들이고,  $\alpha$ 와  $\delta$ 는 각각 그에 해당하는 회귀계수 들로서,

$$A = \begin{cases} 2m_2 & \text{유전형이 } M_1 M_1 \text{인 경우} \\ m_2 - m_1 & \text{유전형이 } M_1 M_2 \text{인 경우} \\ -2m_1 & \text{유전형이 } M_2 M_2 \text{인 경우} \end{cases}$$

$$D = \begin{cases} -m_2^2 & \text{유전형이 } M_1 M_1 \text{인 경우} \\ m_2 m_1 & \text{유전형이 } M_1 M_2 \text{인 경우} \\ -m_1^2 & \text{유전형이 } M_2 M_2 \text{인 경우} \end{cases}$$

와 같이 정의된다. 식 (1)에서  $\varepsilon$ 들은 평균이 0이고 분산이  $\sigma_\varepsilon^2$ 인 정규분포를 따른다고 하고 서로들 간에는 독립이라고 가정한다. 모형 (1)에서 논의의 편의를 위해 개인의 특성 변수  $\chi$ 를 제외한 경우, 회귀계수  $\alpha$ 와  $\delta$ 의 추정치(estimate),  $\hat{\alpha}$ 와  $\hat{\delta}$ 은 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\begin{cases} \hat{\alpha} = \frac{D}{m_2 m_1} \alpha \\ \hat{\delta} = \frac{D^2}{m_2^2 m_1^2} d \end{cases}$$

위의 추정치에서  $D$ 는 양적 형질 유전자  $Q$ 와 표식유전자  $M$  사이의 연관 불균형 계수,  $P(M_1, Q_1) - m_1 \cdot q_1$ 을 나타내고,  $\alpha$ 와  $d$ 는 0이 아닌 상수를 나타낸다. 따라서  $\alpha=0$  혹은  $\delta=0$ 이라는 가설을 검정하는 것은 곧, 위의 식에서  $D=0$ 을 검정하는 것이 되므로 연관 불균형에 근거한 유전적 관련성을 검정하는 것과 동일한 개념이 된다.

본 연구에서 분석의 대상이 되는 양적 형질은 심혈관계질환들과 관계가 있다고 알려진 혈액 내의 지질 성분들로서 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 등의 수치를 사용하였다. 표식유전자는 ACE7(Angiotensin Converting Enzyme G14480C), ACE8(Angiotensin Converting Enzyme A14519G), ACE10(Angiotensin Converting Enzyme A22982G), APOA1-1(Apolipoprotein A1 XMNI), APOA5-1(Apolipoprotein A5 1259T/C), APOA5-2(Apolipoprotein A5 T-1131C), CETP3(Cholesteryl ester transfer protein TA-Q1B), CETP5(Cholesteryl ester transfer protein I405V), LIPC1(Hepatic lipase C-514T), LIPC4(Hepatic lipase V95M), MTP1(Microsomal triglyceride transfer protein G-493T)의 11개를 각각 이용했는데, 이들에 관한 유전형 분석을 위해 DNA는 DNA isolation kit(Gentra Genomic DNA purification kit, MN, USA)를 이용하여 5 mL 혈액 내의 백혈구 세포로부터 추출하였다. 다형성 분석은 SNP stream 25K system(Orchid Biosciences, Princeton, NJ)을 이용하여 SNP-IT(SNP-Identification Technology) assay 방법으로 단일 염기확장 반응을 수행하였고, primer와 각각의 PCR 생성물을 재생시킨 후 biotin 또는 fluorescein isothiocyanate (FITC)으로 표지된 각각의 dideoxynucleotide와 반응시켜 단일 염기를 확장하였다. 반응이 끝난 후 결과분석은 ELISA 판독기를 이용하여 분석하였으며 최종 유전자형은 QC Review™ program을 이용하여 확인하였다. 본 연구에서는 연관 불균

형에 대한 유의성을 분석할 경우, 위에서 가정한 양적 형질 유전자와 각각의 표식유전자들간의 개별적인 관련성을 검정하였는데, 이 때 연령, 체질량지수, 흡연력, 음주력, 운동 여부 등을 고려하였고, 실제 자료를 분석하기 위해 SAS ver. 9.1(SAS Institute, Cary, NC)을 이용하였으며 이 때 p값이 0.05미만인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 평가하였다.

## 결 과

연구 대상들의 평균 연령은 남자에서  $45.92 \pm 10.13$ 세, 여자의 경우  $45.65 \pm 9.92$ 세였으며, 체질량지수는 남자의 경우  $23.15 \pm 1.73$ , 여자는  $21.36 \pm 1.1$ 의 분포를 보여주고 있었다(Table 1). 분석에 이용된 각 혈중 지질농도에서 전체 자료의 경우, 총 콜레스테롤은  $206.46 \pm 38.71$ , 중성지방은  $137.49 \pm 102.02$ , LDL-콜레스테롤은  $129.72 \pm 33.86$ , HDL-콜레스테롤은  $49.62 \pm 11.97$ 의 분포를 보여주고 있었다. 또한 이들 혈중 지질농도들은 남, 여 각 집단에서 정규분포를 따르고 있었다(Table 2). 11개의 표식유전자에서 각각의 대립유전자들에 대한 빈도 추정치는 다음과 같은데, 이 표식유전자들은 HWE상태를 만족하고 있었다(Table 3).

남자에서 연관 불균형에 기초한 관련성 분석 결과, 총 콜레스테롤의 경우 CETP3에서 연관 불균형 상태가 유의하게 존재했고( $\alpha$ :  $p=0.002$ ), 중성지방에서는 ACE8( $\delta$ :  $p=0.037$ ), APOA1-1( $\alpha$ :  $p=0.031$ ), APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ,  $\delta$ :  $p=0.012$ ), LIPC4( $\alpha$ :  $p=0.022$ )들에서 유의한 연관 불균형의 관련성을 확인할 수 있었다. LDL-콜레스테롤에서 통계학적으로 유의한 연관 불균형 상태를 보여주는 표식유전자는 없었으며, HDL-콜레스테롤의 경우에는 ACE7( $\alpha$ :  $p=0.002$ ), ACE8( $\alpha$ :  $p=0.008$ ), ACE10( $\alpha$ :  $p=0.003$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.022$ ), MTP1( $\delta$ :  $p=0.001$ )에서 유의한 관련성이 나타났다(Table 4). 여자에서는 총 콜레스테롤의 경우 APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.020$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), LIPC1( $\alpha$ :  $p=0.016$ ,  $\delta$ :  $p=0.005$ )들에서 유의하게 연관 불균형 상태가 나타났고 중성지방에서는 APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.009$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), CETP5( $\alpha$ :  $p=0.049$ )들에서 유의한 연관 불균형의 존재를 확인할 수 있었다. LDL-콜레스테롤에서 유의한 연관 불균형 상태를 보여주는 표식유전자는 APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.004$ )였으며, HDL-콜레스테롤의 경우에는 LIPC1( $\alpha$ :  $p=0.004$ ,  $\delta$ :  $p=0.011$ )에서 유의한 연관 불균형이 존재했다(Table 5).

**Table 1.** Distribution of characteristics in subjects

	Male (n=543)	Female (n=876)	Total (n=1,419)
Age	$45.92 \pm 10.13$	$45.65 \pm 9.92$	$45.77 \pm 10.05$
BMI	$23.15 \pm 1.73$	$21.36 \pm 1.1$	$22.61 \pm 1.90$
Current smoker	233 (42.9)	56 (6.4)	289 (20.4)
Current drinker	423 (77.9)	344 (39.3)	767 (54.1)
Exercise	236 (43.5)	254 (29.0)	490 (34.5)

Values are Mean  $\pm$  SD and frequencies (percent). LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, BMI: body mass index

**Table 2.** Distribution of quantitative traits

Trait	Male (n=543)	Normality*	Female (n=876)	Normality*
Total cholesterol	$204.88 \pm 38.25$	0.571	$207.44 \pm 38.98$	0.653
Triglyceride	$159.06 \pm 116.97$	0.338	$124.21 \pm 89.13$	0.413
LDL-C	$128.27 \pm 33.88$	0.711	$130.64 \pm 33.84$	0.691
HDL-C	$46.32 \pm 11.01$	0.624	$51.75 \pm 12.08$	0.584

Values are mean  $\pm$  SD. \*: p using Shapiro-Wilks test for normality. LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol

**Table 3.** Frequency estimates of marker alleles

Marker	Allele	Estimate	HWE (p)
ACE7	C	0.595	0.406
	G	0.405	
ACE8	A	0.602	0.213
	G	0.574	
ACE10	A	0.574	0.720
	G	0.426	
APOA1-1	A	0.244	0.304
	G	0.756	
APOA5-1	C	0.246	0.790
	T	0.754	
APOA5-2	A	0.686	0.527
	G	0.314	
CETP3	A	0.384	0.171
	G	0.616	
CETP5	A	0.541	0.742
	G	0.459	
LIPC1	C	0.577	0.326
	T	0.423	
LIPC4	A	0.302	0.385
	G	0.698	
MTP1	G	0.874	0.190
	T	0.126	

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium, ACE: angiotensin converting enzyme, 7: G14480C, 8: A14519G, 10: A22982G, APOA1-1: apolipoprotein A1 XMNI, APOA5-1: apolipoprotein A5 1259T/C, APOA5-2: apolipoprotein A5 1259T/C, CETP: cholesteryl ester transfer protein, 3: TAQ1B, 5: 1405V, LIPC: hepatic lipase, 1: C-514T, 4: V95M, MTP1: microsomal triglyceride transfer protein G-493T

## 고 찰

현재, 단일 염기 다형성(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)과 같은 고밀도의 유전 지도(genetic map)에 대한 접근이 가능함으로 인하여, 고해상도의 관련성을 분석하는 것은 복잡한 질병과의 유전적 관련성을 연구하는데 있어서 중요한 위치를 점하고 있다.<sup>16)17)</sup> 가계자료(pedigree data)에 대한 연관 분석(linkage analysis)을 통하여 유전적 관련성을 분석하는 것에 대한 장점들은 많은 선행연구를 통하여 이루어졌으나, 연관 불균형의 개념을 이용하여 고해상도의 관련성을 분석하는 방법들은 현재까지 충분하게 제시되어 있지 않은 것이 사실이다.<sup>18)19)</sup> 본 연구에서는 회귀모형에 기초하여 연관 불균형에 근거한 고해상도의 관련성을 검정하기 위한 방법을 심혈관계질환과 관련된 혈중 지질 농도들을 분석하는데 적용하였다. 그 결과 남자에서, ACE7, ACE8, 및 ACE10은 HDL-콜레스테롤과 유의한 관련성이 존재하고 있었고 그 수치를 높이는 데 기여하는 것으로 나타났다. APOA1-1은 중성지방 수치를 높이는 것과 관련이 있는 것으로 분석되었으며, APOA5-1은 그 반대의 양상을 띄고 있음을 알 수 있었다. 아울러 APOA5-2의 경우는 중성지방 수치가 낮은 것과 관련이 있

었으나 HDL-콜레스테롤과는 오히려 수치를 높이는 관계가 존재함을 알 수 있었다. CETP3은 총 콜레스테롤 수치를 낮게 하는 것과 관계가 있었고, LIPC4는 중성지방 수치를 높이는 것과, 그리고 MTP1은 HDL-콜레스테롤 수치를 낮추는 관계가 존재함을 확인할 수 있었다. 여자의 경우에는 APOA5-1과 APOA5-2는 남자의 경우와 비슷한 양상을 보여주고 있었으며 CETP5에서는 중성지방 수치를 높이는 것과 관련이 있음을 보여주었고, LIPC1의 경우는 총 콜레스테롤 수치와 HDL-콜레스테롤 수치를 모두 높이는데 기여한다는 것을 보여 주었다.

본 연구에서 분석에 이용한 각 다형성들은 각종 심혈관계질환 즉, 본태성 고혈압, 관상동맥질환, 허혈성 심질환, 심근 경색 등의 발생과 관련 있다고 국내 외의 연구들을 통해 보고되고 있고 집중적으로 연구되고 있는 것들로서 그 임상적 중요성을 지니고 있는 것들이었다.<sup>20-30)</sup> ACE(Angiotensin converting enzyme)의 경우, 김 등<sup>20)</sup>에 의하면 남자의 경우에서 총 콜레스테롤 수치와의 관련성이 존재하는 것으로 보고되었고 이 등<sup>21)</sup>의 연구에서는 총콜레스테롤 수치와의 관련성이 존재하는 것으로 보고되었으며, 박 등<sup>22)</sup>의 연구에서도 허혈성 심질환 등과의 관련성이 보고되었다. Brousseau 등<sup>23)</sup>은 CETP3 (Cholesteryl ester transfer protein TAQ1B)과 HDL 콜레스테롤과의 관련성이 존재함을 보고하였다. 또한 Moon 등<sup>24)</sup>은 건강한 성인 남성에서 APOA1-1(Apolipoprotein A1 XMNI)이 중성지방과 관련이 있음을 보고하였다. APOA5(apolipoprotein A5)의 경우, Hsu 등<sup>25)</sup>은 관상동맥질환의 발생과 관련 있는 인자로 보고하였으며 Tang 등<sup>26)</sup>은 중성지방 수치를 높이는데 기여한다고 보고하였다. Daneshpour 등<sup>27)</sup>은 LIPC (Hepatic lipase C-514T)와 HDL 콜레스테롤과의 관련성을 보고하였으며 Cenarro 등<sup>28)</sup>은 고지혈증 및 지질강화제에 대한 반응과의 관계를 보고하였다. Lundahl 등<sup>29)</sup>은 MTP1(Microsomal triglyceride transfer protein 493T)이 LDL 콜레스테롤 수치를 낮추는데 기여한다고 보고한 바 있다.

본 연구에 적용된 분석 방법은 개인별 특성 변수들의 영향을 고려하여 유전적 관련성을 분석할 수 있고, SAS, SPSS 등의 상용되는 통계 분석 소프트웨어들을 이용하여 쉽게 적용할 수 있다는 장점이 있다. 일반 인구 집단에서 유전적 연관 불균형 상태는 형질 유전자와 표식유전자간의 물리적 거리가 매우 가깝지 않은 경우에 두 유전자간의 재조합(recombination)으로 인하여 몇 세대(generation)만 지나게 되면 급속하게 사라지게 된다.<sup>15)</sup> 따라서 연관 불균형을 이용한 유전적 관련성 분석은 고해상도의 관련성을 분석하기 위한 고밀도의 유전자 지도 자료에 적절하다. 본 연구에서는 두 개의 대립유전자로 구성된 단일 표식유전자를 이용하는 방법을 적용하였는데, 이를 기초로 하여 앞으로 몇 가지의 확장된 접근이 가능하다고 여겨진다. 연관 불균형을 이용한 관련성 분석이 고전적인 관련성 분석 방법에 비해 인구 집단의 층화 등에 의한 영향을 덜 받지만 연구 대상 선정의 편의에 의한 잠재적

**Table 4.** Significance of linkage disequilibrium in male

Marker	LD	Lipid profiles			
		Total cholesterol (p)*	Triglyceride (p)*	LDL-C (p)*	HDL-C (p)*
ACE7	$\alpha$	2.35 (0.298)	1.69 (0.521)	1.71 (0.444)	4.93 (0.002) <sup>†</sup>
	$\delta$	1.28 (0.551)	2.16 (0.120)	1.83 (0.399)	1.25 (0.781)
ACE8	$\alpha$	2.71 (0.285)	1.77 (0.611)	1.87 (0.314)	4.32 (0.008) <sup>†</sup>
	$\delta$	0.98 (0.477)	3.21 (0.037) <sup>†</sup>	1.75 (0.421)	1.08 (0.855)
ACE10	$\alpha$	1.05 (0.434)	1.08 (0.419)	1.73 (0.410)	5.02 (0.003) <sup>†</sup>
	$\delta$	0.12 (0.938)	2.12 (0.199)	2.03 (0.373)	1.55 (0.589)
APOA1-1	$\alpha$	1.26 (0.374)	3.08 (0.031) <sup>†</sup>	0.54 (0.954)	1.96 (0.171)
	$\delta$	0.95 (0.800)	0.98 (0.720)	0.41 (0.991)	1.74 (0.241)
APOA5-1	$\alpha$	-1.38 (0.754)	-5.75 (0.001) <sup>†</sup>	-1.85 (0.365)	1.87 (0.178)
	$\delta$	-2.12 (0.201)	-1.12 (0.657)	-1.02 (0.815)	1.25 (0.413)
APOA5-2	$\alpha$	-1.23 (0.779)	-6.03 (0.001) <sup>†</sup>	-1.72 (0.334)	2.98 (0.022) <sup>†</sup>
	$\delta$	-0.25 (0.999)	-3.28 (0.012) <sup>†</sup>	-1.26 (0.539)	1.02 (0.670)
CETP3	$\alpha$	-3.69 (0.002) <sup>†</sup>	-1.24 (0.246)	-1.93 (0.118)	1.94 (0.110)
	$\delta$	-1.02 (0.880)	-1.26 (0.265)	-1.74 (0.240)	1.18 (0.473)
LIPC4	$\alpha$	1.26 (0.164)	2.98 (0.022) <sup>†</sup>	0.97 (0.803)	1.73 (0.279)
	$\delta$	0.97 (0.648)	2.13 (0.083)	1.62 (0.289)	1.64 (0.350)
MTP1	$\alpha$	0.36 (0.842)	1.46 (0.204)	1.87 (0.179)	-1.56 (0.220)
	$\delta$	0.45 (0.932)	1.17 (0.871)	1.91 (0.101)	-5.63 (0.001) <sup>†</sup>

\*: all p are obtained after adjusted by age, BMI, smoking experience, drinking experience, exercise. BMI: body mass index, LD: linkage disequilibrium, ACE: angiotensin converting enzyme, 7: G14480C, 8: A14519G, 10: A22982G, APOA1-1: apolipoprotein A1 XMNI, APOA5-1: apolipoprotein A5 1259T/C, APOA5-2: apolipoprotein A5 T-1131C, CETP3: cholesteryl ester transfer protein TAQ1B, LIPC4: hepatic lipase V95M, MTP1: microsomal triglyceride transfer protein G-493T, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, †: p<0.05, ‡: p<0.01

**Table 5.** Significance of linkage disequilibrium in female

Marker	LD	Lipid profiles			
		Total cholesterol (p)*	Triglyceride (p)*	LDL-C (p)*	HDL-C (p)*
APOA5-1	$\alpha$	-2.47 (0.020) <sup>†</sup>	-3.47 (0.009) <sup>‡</sup>	-1.98 (0.157)	0.91 (0.740)
	$\delta$	-0.93 (0.709)	-1.24 (0.763)	-1.02 (0.855)	1.56 (0.294)
APOA5-2	$\alpha$	-5.31 (0.001) <sup>‡</sup>	-5.15 (0.001) <sup>‡</sup>	-4.39 (0.004) <sup>†</sup>	1.41 (0.376)
	$\delta$	-1.02 (0.880)	-2.03 (0.140)	-0.97 (0.888)	1.35 (0.520)
CETP5	$\alpha$	1.15 (0.819)	2.51 (0.049) <sup>†</sup>	0.67 (0.942)	1.18 (0.736)
	$\delta$	0.57 (0.971)	1.95 (0.103)	0.82 (0.821)	1.75 (0.284)
LIPC1	$\alpha$	2.95 (0.016) <sup>†</sup>	1.08 (0.805)	1.24 (0.484)	4.32 (0.004) <sup>†</sup>
	$\delta$	3.58 (0.005) <sup>‡</sup>	0.96 (0.873)	1.58 (0.225)	3.07 (0.011) <sup>†</sup>

\*: all p are obtained after adjusted by age, †: p<0.05, ‡: p<0.01. BMI, smoking experience, drinking experience, exercise. BMI: body mass index, LD: linkage disequilibrium, APOA5-1: apolipoprotein A5 1259T/C, APOA5-2: apolipoprotein A5 T-1131C, CETP5: cholesteryl ester transfer protein I405V, LIPC1: hepatic lipase C-514T

인 영향이 존재할 수 있다. 따라서 가계자료를 이용하여 연관 불균형의 개념을 적용시키는 것은 이러한 영향을 극복할 수 있는 효율적인 방법이 될 수 있다. 아울러, 인구 집단 자료와 가계자료를 동시에 이용하는 방법 또한 고려의 대상이 될 수 있다고 본다. 분석 방법 자체의 측면에서는 복수의 표식유전자(multiple marker)를 동시에 분석에 이용하는 방법의 개발이 필요하다고 생각된다. 이것은 보다 고밀도의 관련성 분석을 가능하게 할 것이라 판단된다. 물론 복수의 표식유전자를 이용하게 되면 검정통계량(test statistic)의 자유도(degree of freedom)와 연관 불균형 계수의 수가 상대적으로 증가하기 때문에 이용해야할 표식유전자들을 어떻게 선택해야하는지의 문제가 대두될 수 있다. 일반 인구 집단에 대

한 유전적 관련성 분석은 인구집단의 층화나 분할 등에 의해 심각한 영향을 받을 수 있다는 것은 기지의 사실이기 때문에 그러한 영향들을 통제할 수 있는 방법들에 대한 보다 심층적인 이해가 필요할 것이라고 생각된다.

## 요 약

### 배경 및 목적 :

양적 형질에 관한 유전적 관련성 분석은 특정한 표식유전자에서의 유전형과 양적 형질간의 관련성을 직접적으로 검정함으로써 그 결과를 전체 인구 집단에 관한 추론의 도구로 삼아왔다. 그런데, 이러한 분석 방법은 연구대상 선정의 편

의에 의해 우연적인 관련성이 나타날 수 있다는 한계를 지니고 있다. 본 연구에서는 직접적인 관련성 분석 방법의 한계를 효율적으로 극복할 수 있는 연관 불균형의 개념에 기초한 방법을 이용하여 심혈관계질환 관련 양적 형질 유전자의 관련성을 분석하였다.

#### 방 법 :

분석에 적합한 방법은 회귀모형에 기초하여 독립적인 개인들을 대상으로 두 개의 대립유전자로 구성된 표식유전자에서 유전적, 환경적 영향 등을 동시에 고려할 수 있는 분석 방법이다. 심혈관계질환 관련 양적 형질로 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 수치를 이용하였고 11개의 표식유전자를 이용하였다. 표식유전자의 정보를 모두 알고 있는 총 1,419명의 심혈관계질환이 없는 집단을 대상으로 남자 543명, 여자 876명을 각각 나누어서 분석하였는데, 이 때 연령, 체질량지수, 흡연력, 음주력, 운동 여부 등을 고려하였다.

#### 결 과 :

남자에서 총 콜레스테롤의 경우 CETP3( $\alpha$ :  $p=0.002$ )에서, 중성지방에서는 ACE8( $\delta$ :  $p=0.037$ ), APOA1-1( $\alpha$ :  $p=0.031$ ), APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ,  $\delta$ :  $p=0.012$ ), LIPC4( $\alpha$ :  $p=0.022$ )들에서 유의한 연관 불균형이 존재했고, HDL-콜레스테롤의 경우에는 ACE7( $\alpha$ :  $p=0.002$ ), ACE8( $\alpha$ :  $p=0.008$ ), ACE10( $\alpha$ :  $p=0.003$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.022$ ), MTP1( $\delta$ :  $p=0.001$ )에서 유의한 관련성이 나타났다. 여자에서는 총 콜레스테롤의 경우 APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.020$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), LIPC1( $\alpha$ :  $p=0.016$ ,  $\delta$ :  $p=0.005$ )들에서, 중성지방에서는 APOA5-1( $\alpha$ :  $p=0.009$ ), APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.001$ ), CETP5( $\alpha$ :  $p=0.049$ )들에서, LDL-콜레스테롤에서는 APOA5-2( $\alpha$ :  $p=0.004$ )에서, HDL-콜레스테롤의 경우에는 LIPC1( $\alpha$ :  $p=0.004$ ,  $\delta$ :  $p=0.011$ )에서 유의한 연관 불균형 상태가 존재했다.

#### 결 론 :

본 연구에서 적용된 방법은 일반 인구 집단에서 심혈관계질환과 관련된 양적 형질과의 유전적 관련성을 분석하는 데 고해상도의 분석을 수행할 수 있다는 장점을 가지고 있으며, 실제 분석 결과에서 유의한 관련성이 존재하는 유전자들은 기존의 선행 연구들에서의 결과와 유사한 양상을 나타내었다.

**중심 단어 :** 양적 형질 유전자 ; 관련성 ; 연관 불균형 ; 혈중지질농도.

이 논문은 2005년도 정부재원(교육인적자원부)으로 한국학술진흥재단의 신진교수연구지원 사업의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2005-003-C00039).

## REFERENCES

- 1) Elston RC, Stewart J. *A general model for the genetic analysis of pedigree data*. Hum Hered 1971;21:523-42.
- 2) Elston RC. *Linkage and association*. Genet Epidemiol 1998;15:

- 565-76.
- 3) Falconer DS, Mackay TF. *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Harlow: Longman House; 1996.
- 4) Lynch M, Walsh B. *Genetics and analysis of quantitative traits*. 1st ed. Sunderland: Sinauer Associates; 1998.
- 5) Fan R, Floros J, Xiong M. *Models and tests of linkage and association studies of QTL for multi-allele marker loci*. Hum Hered 2002;53:130-45.
- 6) Fan R, Jung J. *Association studies of QTL for multi-allele markers by mixed models*. Hum Hered 2002;54:132-50.
- 7) Lange K. *Mathematical and statistical methods for genetic analysis*. 2nd ed. New York: Springer; 2002.
- 8) Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. *Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)*. Am J Hum Genet 1993;52:506-16.
- 9) Xiong MM, Krushkal J, Boerwinkle E. *TDT statistics for mapping quantitative trait loci*. Ann Hum Genet 1998;62:431-52.
- 10) Allison DB. *Transmission disequilibrium tests for quantitative traits*. Am J Hum Genet 1997;60:676-90.
- 11) Rabinowitz D. *A transmission disequilibrium test for quantitative trait loci*. Hum Hered 1997;47:342-50.
- 12) Sun FZ, Flanders WD, Yang QH, Zhao HY. *Transmission/disequilibrium tests for quantitative traits*. Ann Hum Genet 2000;64:555-65.
- 13) Abecasis GR, Cardon LR, Cookson WO. *A general test of association for quantitative traits in nuclear families*. Am J Hum Genet 2000;66:279-92.
- 14) Page GP, Amos CI. *Comparison of linkage disequilibrium methods for localization of genes influencing quantitative trait in humans*. Am J Hum Genet 1999;64:1194-205.
- 15) Xiong M, Jin L. *Combined linkage and linkage disequilibrium mapping for genome screens*. Genet Epidemiol 2000;19:211-34.
- 16) Cardon LR, Bell JL. *Association study designs for complex diseases*. Nat Rev Genet 2001;2:91-9.
- 17) Risch N, Merikangas K. *The future of genetic studies of complex human diseases*. Science 1996;273:1516-7.
- 18) Amos CI, de Andrade M. *Genetic linkage methods for quantitative traits*. Stat Methods Med Res 2001;10:3-25.
- 19) Goldgar DE. *Multipoint analysis of human quantitative genetic variation*. Am J Hum Genet 1990;47:957-67.
- 20) Kim J, Shin DJ, Bae Y, et al. *Association between I/D, G14480C, A22982G polymorphisms of Angiotensin I-converting enzyme gene and essential hypertension in the Korean population*. Korean Circ J 2004;34:1137-47.
- 21) Lee MM, Kim HS, Song JM, et al. *Insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene in Korean patients with ischemic heart disease*. Korean Circ J 1996;26:5-13.
- 22) Park HY, Kwon HM, Kim HS, Song KS, Kim CH. *An I/D polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene in myocardial infarction*. Korean Circ J 1996;26:465-72.
- 23) Brousseau ME, Diffenderfer MR, Millar JS, et al. *Effects of cholesteryl ester transfer protein inhibition on high-density lipoprotein subspecies, apolipoprotein A-I metabolism, and fecal sterol excretion*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005;25:1057-64.
- 24) Moon JY, Cho EY, Kim WH, et al. *The impact of apolipoprotein A1 polymorphisms on the lipid profiles in middle aged healthy men and women*. Korean Circ J 2004;34:1158-66.
- 25) Hsu LA, Ko YL, Chang CJ, et al. *Genetic variations of apolipoprotein A5 gene is associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan*. Atherosclerosis 2006;185:143-9.
- 26) Tang Y, Sun P, Guo D, et al. *A genetic variant in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary artery disease and altered triglyceride levels in a Chinese popu-*

- lation. *Atherosclerosis* 2006;185:433-7.
- 27) Daneshpour MS, Hedayati M, Azizi F. *Hepatic lipase C-514T polymorphism and its association with high-density lipoprotein cholesterol level in Tehran. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006;13:101-3.
- 28) Cenarro A, Artieda M, Gonzalvo C, et al. *Genetic variation in the hepatic lipase gene is associated with combined hyperlipidemia, plasma lipid concentrations, and lipid-lowering drug response. Am Heart J* 2005;150:1154-62.
- 29) Lundahl B, Skoglund-Andersson C, Caslake M, et al. *Microsomal triglyceride transfer protein -493T variant reduces IDL plus LDL apoB production and the plasma concentration of large LDL particles. Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290:E739-45.