

아디포넥틴 ELISA 검사 성능 평가와 한국인의 혈청 아디포넥틴 참고구간 설정

Evaluation of the Performance of an Adiponectin ELISA-based Test and Establishing Serum Adiponectin Reference Intervals for Korean Population

박용정 · 김영란 · 김현숙

Yongjung Park, M.D., Young Ran Kim, M.T., Hyon-Suk Kim, M.D.

연세대학교 의과대학 세브란스병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Severance Hospital, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Adiponectin is a plasma protein secreted by adipose tissues and low serum adiponectin concentration has been reported to be associated with insulin resistance and metabolic syndrome (MS). We evaluated the performance of an ELISA-based assay for measuring serum adiponectin levels and established reference intervals of adiponectin for Korean population.

Methods: Laboratory performance, including precision and linearity, of the AdipoMark Human Adiponectin ELISA kit (Mesdia Co., Korea) was assessed. Reference intervals of adiponectin concentration were determined after evaluation of 1200 subjects with no history of MS. Adiponectin was also measured in 100 patients with MS.

Results: The mean concentrations of serum samples tested for precision evaluation were 6.66, 12.61, and 23.42 $\mu\text{g/mL}$: the ELISA showed total imprecision of 13.6%, 9.3%, and 10.5% CV for the respective concentrations. The assay demonstrated linear responses in the range of 1.8-29.9 $\mu\text{g/mL}$ serum adiponectin levels. The 95% reference intervals for Korean population were 3.6-19.2 $\mu\text{g/mL}$ for men and 4.5-34.2 $\mu\text{g/mL}$ for women. ROC-area under the curve values of adiponectin for the diagnosis of MS were 0.85 for men and 0.83 for women. Low adiponectin level was independently associated with MS in the multivariate analysis.

Conclusions: The adiponectin quantitation assay evaluated in this study showed acceptable laboratory and clinical performances in an ELISA platform. To meet the ever-increasing demand for a reliable assay for measuring adiponectin levels in the study of various metabolic diseases, this assay could be further improved by the automation of the platform.

Key Words: Adiponectin, Laboratory performance, Precision, Reference interval

서 론

Adiponectin은 지방세포에 특이적으로 분포하는 mRNA인 *apM1*의 translation에 의해 합성되는 단백질로[1], 정상적으로 인간

Corresponding author: Hyon-Suk Kim

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine,

50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-2443; Fax: +82-2-364-1583

E-mail: kimhs54@yuhs.ac

Received: September 11, 2012

Revision received: December 14, 2012

Accepted: December 20, 2012

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2013, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

의 혈장에 분포하는 용해성 기질 단백질이다[2]. 1990년대말에 사람의 혈장에서 adiponectin이 발견된 후, 한 연구진은 사람 adiponectin에 대한 단클론 및 다클론 항체를 제조하여 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 개발하였고, 혈장 adiponectin 농도를 측정할 결과 adiponectin 농도가 체질량지수(body mass index)와 음의 상관관계를 보임을 보고하였다[2]. 이후 여러 연구들에서 adiponectin이 당뇨병이나 심혈관질환 등 대사질환의 발생에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다.

한 연구에서는 adiponectin이 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)에 의한 혈관내피세포와 단핵구의 결합을 막고 혈관내피세포의 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 (E-selectin) 및 intracellular adhesion molecule (ICAM-1)의 발현을 억제하며, 관상동맥질환 환자에서 혈장 adiponectin 농도가 정상인에 비하여 유의하게 낮다고 보고하였고[3], 혈장 adiponectin 농도 측정이 심혈관질환의 위험도

평가에 도움이 될 것이라고 하였다[3]. 다른 연구에서는 내피세포의 경계가 손상되는 경우 정상적으로 혈장에 존재하는 adiponectin이 혈관벽에 축적된다고 보고하여[4], adiponectin의 농도 감소가 심혈관질환의 발생과 관련되어 있음이 알려졌다.

Adiponectin은 대식세포가 포말세포(foam cell)로 변형되는 것을 막아 체내에 지방이 축적되는 것을 억제하는 것으로 알려져 있다[5]. 여러 연구들에서 체질량지수, 혈청 중성지방 농도, 당뇨병이나 심혈관질환의 유무가 혈장 adiponectin과 유의한 상관관계가 있고, 당뇨병환자 및 정상인에서 체중을 감량하는 경우 혈장 adiponectin 농도가 유의하게 증가함을 보고하였다[6, 7]. 또한, 인종에 관계없이 2형 당뇨병 및 비만이 혈장 adiponectin 농도 감소와 관련되어 있음이 알려졌다[8]. rhesus 원숭이를 이용한 동물실험에서도 인슐린저항성이 증가할수록 혈장 adiponectin 농도가 감소하였다[9]. 근래의 한 연구에서 adiponectin 농도와 체질량지수의 연관성 정도가 백인, 흑인, 동양인 등 인종에 따라 차이가 있으나, 인슐린 저항성의 지표 중 하나인 homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)과 adiponectin 농도 사이의 상관관계는 인종에 따른 차이가 없어, adiponectin과 같은 adipokine의 정상적인 인종간 차이가 인종에 따른 평균적인 인슐린 저항성 차이를 설명할 수 있을 것으로 보고하였다[10]. 따라서 인종에 관계없이 대사증후군을 평가하기 위한 지표로서 adiponectin의 유용성이 보고된 바 있다.

앞서 언급한 연구들에서 adiponectin이 비만, 인슐린저항성, 당뇨병, 심혈관질환 등의 발생과 연관되어 있음이 보고되면서, 이들 질환을 포괄하는 대사증후군의 발생에 있어 adiponectin의 중요한 역할이 알려지고, 관련 연구들도 활발하게 이루어졌다. 나이가 adiponectin이 악성종양, 자가면역질환, 간에서의 탄수화물과 지질 대사, 염증과 패혈증 등 여러 가지 질병의 발생과 관련되어 있다고 보고되어 왔다[11-13]. 하지만, 현재까지 상용화된 검사시약이 많이 보급되지 않아 임상검사실에서 정규검사로 adiponectin 정량측정을 많이 시행하지 않고 있는 실정이다. 본 연구에서는 국내에서 개발된 adiponectin 측정용 ELISA의 기본적인 검사성능을 평가하고 대사증후군이 없는 한국인의 혈청 adiponectin 농도를 측정하여 한국인의 adiponectin 농도 참고구간을 제시하고자 하였다. 또한, 대사증후군에 이환된 대상자에서 혈청 adiponectin을 측정하여 대사증후군 진단을 위한 adiponectin의 임상적 유용성을 평가하였다.

대상 및 방법

1. Adiponectin 측정

혈청 adiponectin 농도 측정을 위하여 AdipoMark Human Adi-

ponectin ELISA kit (Mesdia Co., Seoul, Korea)를 사용하였다. 이 시약은 샌드위치형 효소면역측정법 원리를 활용하여 혈청 또는 혈장 adiponectin 농도를 측정한다. Adiponectin 특이 마우스 단클론 항체가 부착된 96-well microplate에 5가지 농도의 표준물질, blank, 양성 및 음성 대조물질과 함께 100배로 희석한 혈청 검체를 첨가하여 2시간 동안 반응시키고 세척 후, biotin이 부착된 2차 항체를 첨가 후 다시 2시간 배양하였다. 세척 후, streptavidin과 함께 horse-radish peroxidase가 부착된 conjugate 용액을 첨가하여 30분간 반응시키고 세척한 후, 발색시약을 첨가하고 20분 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다섯 가지 농도의 표준물질 및 blank 물질에서 측정된 흡광도를 이용하여 표준곡선을 도출한 뒤 각 검체에서 측정된 흡광도를 adiponectin 농도($\mu\text{g/mL}$)로 환산하였다.

2. 정밀도 평가

CLSI document EP4-A2 guideline을 참고하여 정밀도를 평가하였다. 3가지 adiponectin 농도의 혈청 검체를 각각 1일 1회 검사 당 8번 반복하여 10일간 측정하고, 각 농도당 80회 측정 후 총 비정밀도(total imprecision), 검사 내 비정밀도(intra-assay imprecision, repeatability) 및 검사 간 비정밀도(inter-assay imprecision)를 계산하였다.

3. 직선성 평가

CLSI document EP6-A에 따라 직선성을 평가하였다. Adiponectin 고농도 및 저농도 혈청 검체를 1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1의 비율로 각각 혼합하여 5가지 농도의 혈청을 제조한 후, 각 검체를 4회 반복 측정하고 예상 농도와 측정된 농도를 선형회귀 분석을 통해 비교하여 직선성이 유지되는 구간을 평가하였다. 직선성의 정도는 회귀식의 결정계수(R^2)로 제시하였다.

4. 참고구간 설정

혈청 adiponectin의 참고구간 설정 및 건강한 정상인과 대사증후군 환자와의 비교를 위하여 세브란스병원 연구심의위원회(Institutional Review Board)의 승인을 받은 후, 건강한 한국인과 대사증후군에 이환된 한국인을 대상으로 하였다.

2006년 9월부터 2011년 12월까지 세브란스 건강검진센터에 내원하여 건강검진을 받은 건강한 한국인으로부터 건강검진 완료 후 잔여 혈청 검체를 수집하였다. 수집된 검체는 개인신상정보를 폐기하고 바코드로 검체의 식별정보를 부여한 후 -70°C 이하로 냉동 보관하였으며, 이 중 대사증후군이 없는 대상자로부터 수집한 혈청을 20, 30, 40, 50, 60대 남, 여 각각 120개씩 총 1,200개를 선정하여 adiponectin 농도를 측정하였다. 검사 시약의 생산 lot 번호에 따른 검사결과의 차이를 방지하기 위하여 전체 측정 과정 동안 동

일 lot 번호의 시약만을 사용하였으며, ELISA 진행 과정 중 검사 batch에 따른 차이를 최소화하기 위하여 각 batch마다 성별 및 연령대 별 대상 검체를 무작위로 배정하여 각 연령대 및 성별에 따른 대상군 검체가 하나의 검사 batch에 편중되지 않도록 하였다.

개정된 National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP-III)의 기준을 다음과 같이 한국인에 맞게 변형 후 적용하여 대사증후군이 있는 대상자는 배제하였다. 복부비만: 남 ≥ 90 cm, 여 ≥ 85 cm; 중성지방 ≥ 150 mg/dL; 고밀도 콜레스테롤 남자 < 40 mg/dL, 여자 < 50 mg/dL; 혈압 $\geq 130/85$ mmHg 또는 항고혈압약물 복용; 공복혈당 ≥ 100 mg/dL 또는 당뇨병 약물 복용의 5가지 항목 중 3가지 이상에 해당하는 경우 대사증후군으로 진단하고 참고구간 설정을 위한 검체에서 제외하였다. 검체를 대상자의 연령구간 및 성별에 따라 나누어 각 대상군의 adiponectin 농도 분포를 Kolmogorov Smirnov 시험을 이용하여 분석한 후, adiponectin 농도가 정규분포에 따르지 않음을 확인하고, 2.5 및 97.5 백분위수를 산출하여 95% 참고구간을 설정하였다. 건강검진 수검 시 측정된 혈압, 허리둘레, 체질량지수, 공복혈당, 중성지방 및 고밀도콜레스테롤 농도를 함께 분석하였다.

5. 대사증후군에서의 adiponectin 농도

참고구간 설정을 위한 검체 수집과 동일하게 같은 기간 동안 세브란스 건강검진센터에 내원하여 건강검진을 받은 대상자 중 상기 진단기준에 따라 대사증후군으로 진단된 남녀 각각 50명으로부터 혈청을 수집하여 동일한 방법으로 adiponectin 농도를 측정하였다. 건강검진 결과 중 혈압, 허리둘레, 체질량지수, 공복혈당, 중성지방 및 고밀도콜레스테롤 농도를 함께 수집하였다.

6. 통계분석

통계분석에는 Analyse-it Method Evaluation Edition version 2.27 software (Analyse-it Software Ltd., City West Business Park, Leeds, UK)와 PASW statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 대상군 간 연속변수의 차이를 비교하기 위하여 두 군 간의 비교에는 Mann Whitney U 시험을, 세 군 이상 간의 비교에는 Kruskal Wallis 시험을 사용하였다. Kruskal Wallis 시험에는 다중 비교 시 발생하는 제1종 통계오류를 보정하기 위하여 Bonferroni

교정법을 적용하였다. 참고구간 설정을 위한 대상군의 adiponectin 농도 분포는 Kolmogorov Smirnov 시험을 이용하여 분석하였다. 변수들 간의 상관성을 분석하기 위하여 Spearman's rank 시험을 이용하여 상관계수(r)를 계산하였다. 대사증후군 감별을 위한 혈청 adiponectin의 진단성능을 평가하기 위하여 상대수행능곡선(receiver operating characteristics curve, ROC) 분석으로 곡선하 면적(area under the curve, AUC)을 구하였다. 다변량 분석을 위하여 대사증후군의 유무를 종속변수로, 혈압, 허리둘레, 체질량지수, 공복혈당, 중성지방, 고밀도 콜레스테롤 및 adiponectin 농도를 독립변수로 하여 이분형 로지스틱 회귀분석을 시행하였으며, 유의한 독립변수의 선별을 위하여 각 변수의 likelihood ratio 순서에 따른 전방 단계별 분석을 적용하였다. 모든 통계 분석 결과는 P -value 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. AdipoMark ELISA 검사의 정밀도

3종류 검체(저농도, 중간농도, 고농도)의 평균 adiponectin 농도는 각각 6.66, 12.61 및 23.42 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 검사 내 비정밀도는 변이계수(coefficient of variation, CV)가 각각 9.6%, 5.5% 및 6.8%이었다(Table 1). 해당 농도에 대한 AdipoMark ELISA 검사의 검사 간 비정밀도는 각각 변이계수 9.5%, 7.5% 및 8.1%였으며, 총 비정밀도는 각각 변이계수 13.6%, 9.3%, 10.5%이었다(Table 1).

2. AdipoMark ELISA 검사의 직선성

5가지 adiponectin 농도의 혈청을 4회 반복 측정된 결과를 예상 농도와 비교하여 선형회귀 분석을 하였다. Adiponectin 농도가 1.8-29.9 $\mu\text{g/mL}$ 인 구간에서 직선성이 유지되었으며, y 를 측정된 농도로, x 를 예상 농도로 하여 분석한 선형회귀식은 $y = 0.972x - 0.283$ 였고 이때 결정계수 R^2 은 0.9940이었다(Fig. 1).

3. 혈청 adiponectin 참고구간

참고구간 설정을 위한 대상군의 특성을 Table 2에 요약하였다. 체질량지수, 허리둘레, 혈압, 공복혈당, 중성지방 및 고밀도 콜레스테롤 농도, adiponectin 농도 등 모든 항목이 남녀 간에 차이가 있

Table 1. Precision performance of the AdipoMark ELISA for measuring serum adiponectin levels during a 10-day evaluation period

| Level | N | Mean ($\mu\text{g/mL}$) | Intra-assay imprecision | | Inter-assay imprecision | | Total imprecision | |
|--------|----|---------------------------|-------------------------|--------|-------------------------|--------|-------------------------|--------|
| | | | SD ($\mu\text{g/mL}$) | CV (%) | SD ($\mu\text{g/mL}$) | CV (%) | SD ($\mu\text{g/mL}$) | CV (%) |
| Low | 80 | 6.66 | 0.64 | 9.60 | 0.64 | 9.54 | 0.90 | 13.60 |
| Middle | 80 | 12.61 | 0.69 | 5.50 | 0.95 | 7.53 | 1.18 | 9.30 |
| High | 80 | 23.42 | 1.59 | 6.80 | 1.89 | 8.05 | 2.47 | 10.50 |

Abbreviations: ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; SD, standard deviation; CV, coefficient of variation.

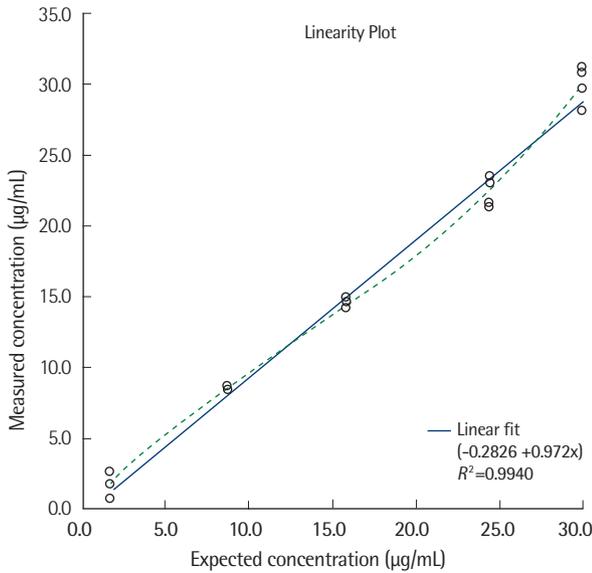


Fig. 1. Determination of the linear relationship between the serum adiponectin levels by using AdipoMark Human Adiponectin ELISA kit. Dashed line indicates polynomial fit.

있으며, 남자에서는 허리둘레 및 공복혈당, 여자에서는 모든 항목이 연령대별 대상군에 따라 차이가 있었다.

연령 및 성별에 따른 adiponectin 농도의 분포 및 차이는 Fig. 2에 나타내었다. 혈청 adiponectin 농도는 여자에서 더 높았으며, 남자의 경우 연령에 따라 유의한 차이가 없었으나, 여자에서는 다른 연령에 비하여 40대에서 adiponectin 농도가 낮았다.

연령 및 성별에 따른 adiponectin의 참고구간은 Table 3에 정리하였다. 정규분포와의 차이를 의미하는 Kolmogorov Smirnov D 값이 20대 여성을 제외한 모든 연령대 및 성별 별 대상군에서 통계적으로 유의하여 정상인의 혈청 adiponectin 농도 분포가 정규분포에 따르지 않음을 확인하였고, 왜도(skewness) 및 첨도(kurtosis)가 양의 값으로 정상인의 adiponectin 농도는 정규분포에 비하여 낮은 농도에 편중되어 분포하였으므로, 이에 따라 95% 참고구간을 2.5-97.5 백분위수로 계산하였다. 남자는 전체 연령대 대상군에서 95% 참고구간이 3.6-19.2 µg/mL였으며, 여자의 경우 전체 연령대에서 4.5-34.2 µg/mL로 남자에 비하여 높았다. 한편, 참고구간 설정을 위한 14회의 ELISA 검사 간 비정밀도는 평균 adiponectin 농도 1.94 µg/mL인 음성대조 물질에 대하여 변이계수 12.4%, 표준편차 0.24 µg/mL였고, 평균 농도 15.28 µg/mL인 양성대조 물질에 대하여 변이계수 4.0%, 표준편차 6.16 µg/mL이었다.

4. Adiponectin 농도와 다른 변수들 간의 상관성

전체 1,200명의 건강한 한국인에서 혈청 adiponectin 농도는 체질량지수($r = -0.3940$) 및 허리둘레($r = -0.4595$)와 중등도의 음의 상관관계를 나타내었다(Table 4). 또한, 혈압, 공복혈당 및 중성지방

농도와도 약한 음의 상관관계를 보였다. 반면, adiponectin 농도와 고밀도 콜레스테롤 수치 사이에는 중등도의 양의 상관관계가 관찰되었다($r = 0.4132$). 성별 및 연령 별로 adiponectin 농도와 다른 지표 간의 상관성을 분석한 경우에도, 대부분의 대상군에서 adiponectin 농도가 체질량지수 및 허리둘레와 유의한 음의 상관관계를 보였으나, 수축기 및 이완기 혈압과 공복혈당은 adiponectin 농도와 유의한 상관관계가 없었다. 또한, 중성지방과 고밀도콜레스테롤 수치는 남자의 경우 20-40대 대상군에서 adiponectin 농도와 유의한 상관관계를 보인 반면, 여자에서는 40대 이상에서 상관관계를 보였다.

5. 대사증후군 진단을 위한 adiponectin의 임상적 유용성

남녀 각각 50명의 대사증후군 환자군의 나이는 남자군 중위수 43.5세(1-3사분위수 35.0-50.1세) 및 여자군 중위수 54.5세(1-3사분위수 46.9-61.0세)로 남자 환자군의 경우 정상인 남자군의 나이 ($N = 600$, 중위수 43.5세, 1-3사분위수 32.0-57.0세)와 차이가 없었으나($P = 0.9916$), 여자 환자군은 정상인 여자군($N = 600$, 중위수 45.0세, 1-3사분위수 32.0-57.0세)에 비하여 고령이었다($P < 0.0001$). 혈청 adiponectin은 남녀 모두 대사증후군 환자군(남, $N = 50$, 중위수 4.56 µg/mL, 1-3사분위수 3.51-6.09 µg/mL; 여, $N = 50$, 중위수 6.29 µg/mL, 1-3사분위수 4.15-9.25 µg/mL; 전체, $N = 100$, 중위수 5.31 µg/mL, 1-3사분위수 3.72-7.41 µg/mL)에서 정상인(남, $N = 600$, 중위수 8.21 µg/mL, 1-3사분위수 6.18-10.97 µg/mL; 여, $N = 600$, 중위수 13.38 µg/mL, 1-3사분위수 9.26-18.86 µg/mL; 전체, $N = 1200$, 중위수 10.20 µg/mL, 1-3사분위수 7.31-15.03 µg/mL)에 비하여 유의하게 낮았다($P < 0.0001$).

남녀 각각 50명의 대사증후군 환자와 남녀 각각 600명의 정상인을 비교 분석한 결과, 대사증후군 진단을 위한 adiponectin의 ROC-AUC는 남자의 경우 0.85 (95% 신뢰구간 0.79-0.90, $P < 0.0001$), 여자의 경우 0.83 (95% 신뢰구간 0.77-0.89, $P < 0.0001$)이었으며, 두 AUC 값 간에는 유의한 차이가 없었다($P = 0.7805$). 남녀 전체를 대상으로 분석하는 경우의 AUC는 0.82 (95% 신뢰구간 0.77-0.86, $P < 0.0001$)였다. Youden index에 따라 대사증후군 진단에 대한 민감도와 특이도의 합이 최대인 절단값 adiponectin 농도를 산출한 결과, 남자의 경우 최적의 절단값이 6.59 µg/mL, 여자는 9.27 µg/mL였으며, 이때의 민감도와 특이도는 각각 남자 86.0% (95% 신뢰구간 73.3%-94.2%) 및 70.5% (95% 신뢰구간 66.7%-74.1%), 여자 78.0% (95% 신뢰구간 64.0%-88.5%) 및 75.0% (95% 신뢰구간 71.3%-78.4%)였다. 추가로, 정상인 남자의 adiponectin 2.5백분위수 참고치인 3.6 µg/mL를 남자 대상군에 대한 절단값으로 적용하는 경우, 대사증후군 진단에 대한 민감도는 28.0% (95% 신뢰구간 16.2%-42.5%)로 낮았으며, 이때 특이도는 참고구간 산출에 사용한

Table 2. Characteristics of Korean subjects (N=1,200) for the establishment of reference intervals

| Characteristics | Age group (yr)* | Male (N=600) | Female (N=600) | P-value [†] | All (N=1,200) |
|--------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| BMI (kg/m ²) | 20 to 29 | 23.6 (21.3 to 25.7) | 20.0 (18.7 to 21.4) | <0.0001 | 21.3 (19.6 to 24.2) |
| | 30 to 39 | 23.7 (22.3 to 26.1) | 20.8 (19.3 to 22.2) | <0.0001 | 22.3 (20.4 to 24.5) |
| | 40 to 49 | 24.0 (22.2 to 25.2) | 21.8 (20.3 to 24.1) | <0.0001 | 22.9 (21.0 to 24.9) |
| | 50 to 59 | 24.2 (22.6 to 25.9) | 22.8 (20.4 to 24.3) | <0.0001 | 23.5 (21.6 to 25.5) |
| | 60 to 69 | 23.8 (22.5 to 25.3) | 23.2 (22.1 to 24.9) | 0.0991 | 23.7 (22.2 to 25.1) |
| | All | 23.9 (22.2 to 25.6) | 21.6 (19.9 to 23.9) | <0.0001 | 22.9 (20.8 to 24.9) |
| | P-value [‡] | 0.4663 | <0.0001 | | <0.0001 |
| WC (cm) | 20 to 29 | 83.0 (75.0 to 88.6) | 69.0 (66.0 to 74.0) | <0.0001 | 75.0 (69.0 to 83.6) |
| | 30 to 39 | 83.0 (78.0 to 87.6) | 70.0 (67.0 to 76.0) | <0.0001 | 78.0 (70.0 to 85.0) |
| | 40 to 49 | 84.0 (81.0 to 88.0) | 74.0 (70.0 to 78.0) | <0.0001 | 80.0 (73.0 to 85.0) |
| | 50 to 59 | 85.0 (82.0 to 90.0) | 77.0 (72.0 to 83.0) | <0.0001 | 82.0 (75.4 to 87.0) |
| | 60 to 69 | 86.0 (82.0 to 90.0) | 80.0 (75.0 to 84.0) | <0.0001 | 83.0 (78.0 to 88.0) |
| | All | 84.0 (80.0 to 89.0) | 74.0 (69.0 to 80.0) | <0.0001 | 80.0 (73.0 to 86.0) |
| | P-value [‡] | 0.0012 | <0.0001 | | <0.0001 |
| SBP (mmHg) | 20 to 29 | 120.0 (115.0 to 124.0) | 108.0 (102.4 to 112.0) | <0.0001 | 114.0 (106.4 to 120.0) |
| | 30 to 39 | 120.0 (113.0 to 126.0) | 106.5 (102.0 to 111.6) | <0.0001 | 112.0 (105.0 to 121.6) |
| | 40 to 49 | 118.0 (111.0 to 123.6) | 110.0 (103.0 to 117.6) | <0.0001 | 115.0 (106.0 to 121.6) |
| | 50 to 59 | 119.0 (112.0 to 124.6) | 115.0 (107.4 to 123.0) | 0.0109 | 117.0 (110.0 to 124.0) |
| | 60 to 69 | 121.0 (113.4 to 131.0) | 122.0 (113.0 to 130.0) | 0.9148 | 121.5 (113.0 to 130.6) |
| | All | 119.0 (113.0 to 126.0) | 111.0 (104.0 to 120.0) | <0.0001 | 116.0 (108.0 to 123.0) |
| | P-value [‡] | 0.1000 | <0.0001 | | <0.0001 |
| DBP (mmHg) | 20 to 29 | 78.5 (73.4 to 83.6) | 73.0 (67.0 to 77.6) | <0.0001 | 76.0 (70.0 to 80.0) |
| | 30 to 39 | 79.0 (73.4 to 85.0) | 69.0 (65.0 to 75.6) | <0.0001 | 74.0 (67.4 to 81.0) |
| | 40 to 49 | 79.0 (71.4 to 85.6) | 74.0 (68.0 to 80.0) | <0.0001 | 77.0 (70.0 to 82.0) |
| | 50 to 59 | 79.0 (74.4 to 85.6) | 76.0 (69.0 to 82.0) | 0.0014 | 78.0 (70.0 to 84.0) |
| | 60 to 69 | 81.0 (73.0 to 87.6) | 77.0 (72.0 to 84.0) | 0.0298 | 79.0 (72.4 to 85.0) |
| | All | 79.0 (73.0 to 85.0) | 74.0 (68.0 to 80.0) | <0.0001 | 77.0 (70.0 to 83.0) |
| | P-value [‡] | 0.6645 | <0.0001 | | <0.0001 |
| FBG (mg/dL) | 20 to 29 | 85.0 (80.4 to 88.0) | 82.0 (78.0 to 86.0) | 0.0009 | 83.0 (79.0 to 87.0) |
| | 30 to 39 | 86.0 (81.0 to 92.6) | 83.0 (78.0 to 90.0) | 0.0059 | 85.0 (80.0 to 91.0) |
| | 40 to 49 | 89.0 (83.4 to 97.0) | 85.0 (80.0 to 90.0) | <0.0001 | 87.0 (82.0 to 95.0) |
| | 50 to 59 | 91.0 (85.4 to 98.0) | 87.0 (82.0 to 92.6) | <0.0001 | 89.0 (83.0 to 95.0) |
| | 60 to 69 | 94.0 (86.4 to 100.6) | 90.0 (84.0 to 94.0) | 0.0019 | 91.0 (85.0 to 98.0) |
| | All | 88.5 (83.0 to 96.0) | 85.0 (80.0 to 91.0) | <0.0001 | 87.0 (82.0 to 94.0) |
| | P-value [‡] | <0.0001 | <0.0001 | | <0.0001 |
| TG (mg/dL) | 20 to 29 | 90.0 (74.0 to 128.6) | 72.0 (55.0 to 88.2) | <0.0001 | 80.0 (63.4 to 113.0) |
| | 30 to 39 | 112.0 (79.8 to 145.0) | 69.0 (58.0 to 92.6) | <0.0001 | 87.5 (63.0 to 124.0) |
| | 40 to 49 | 110.5 (81.4 to 144.6) | 79.0 (57.4 to 101.6) | <0.0001 | 89.0 (71.0 to 125.6) |
| | 50 to 59 | 107.5 (83.0 to 143.6) | 95.0 (68.0 to 128.0) | 0.0220 | 101.0 (74.0 to 136.0) |
| | 60 to 69 | 99.5 (73.0 to 138.8) | 101.0 (75.4 to 133.6) | 0.8075 | 100.0 (75.0 to 135.0) |
| | All | 103.0 (78.0 to 141.0) | 80.0 (60.4 to 109.6) | <0.0001 | 90.5 (68.0 to 127.0) |
| | P-value [‡] | 0.0618 | <0.0001 | | <0.0001 |
| HDL (mg/dL) | 20 to 29 | 50.5 (46.0 to 59.6) | 63.5 (57.0 to 75.6) | <0.0001 | 58.0 (49.0 to 66.0) |
| | 30 to 39 | 49.5 (44.0 to 55.0) | 61.0 (54.4 to 71.0) | <0.0001 | 55.0 (47.0 to 64.0) |
| | 40 to 49 | 51.5 (44.0 to 58.6) | 58.0 (49.4 to 68.0) | <0.0001 | 54.0 (46.0 to 64.0) |
| | 50 to 59 | 50.0 (43.0 to 57.6) | 58.0 (52.0 to 66.0) | <0.0001 | 54.0 (47.0 to 64.0) |
| | 60 to 69 | 49.0 (43.0 to 56.6) | 55.0 (49.0 to 63.6) | 0.0001 | 52.0 (46.0 to 59.0) |
| | All | 50.0 (44.0 to 57.6) | 59.0 (52.0 to 69.0) | <0.0001 | 55.0 (47.0 to 64.0) |
| | P-value [‡] | 0.2476 | <0.0001 | | <0.0001 |
| Adiponectin (μg/mL) | 20 to 29 | 8.2 (6.0 to 11.3) | 14.2 (9.1 to 18.4) | <0.0001 | 10.4 (7.4 to 14.8) |
| | 30 to 39 | 8.4 (6.5 to 11.1) | 16.7 (11.9 to 22.5) | <0.0001 | 11.3 (7.6 to 17.1) |
| | 40 to 49 | 8.9 (6.6 to 13.1) | 9.6 (7.4 to 14.8) | 0.0616 | 9.3 (6.9 to 13.9) |
| | 50 to 59 | 7.6 (5.9 to 9.7) | 13.7 (10.1 to 19.3) | <0.0001 | 9.9 (6.9 to 14.6) |
| | 60 to 69 | 8.1 (6.4 to 10.6) | 13.3 (10.0 to 18.1) | <0.0001 | 10.3 (7.5 to 15.3) |
| | All | 8.2 (6.2 to 11.0) | 13.4 (9.3 to 18.9) | <0.0001 | 10.2 (7.3 to 15.0) |
| | P-value [‡] | 0.0563 | <0.0001 | | 0.0113 |

*N = 120 for the respective age and sex groups; [†]Men vs. women (P-values were calculated by Mann Whitney U test); [‡]P-value for the difference among the age groups was calculated by Kruskal-Wallis test with Bonferroni correction to compensate alpha-statistical error from multiple comparisons.

Abbreviations: BMI, body mass index; WC, waist circumference; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; FBG, fasting blood glucose; TG, triglyceride; HDL, high-density lipoprotein cholesterol.

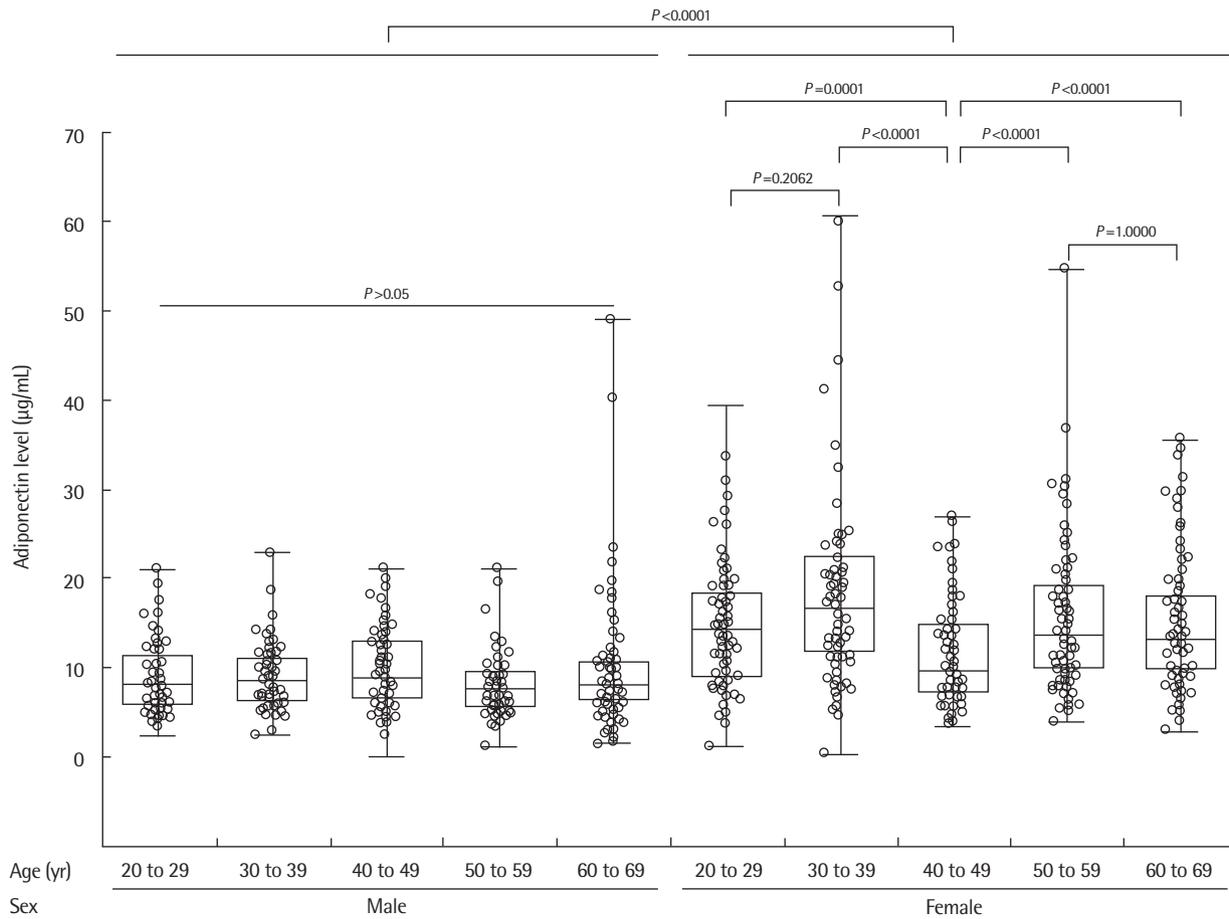


Fig. 2. Distribution of serum adiponectin levels according to the age and sex of the subjects without metabolic syndrome. Serum adiponectin levels were higher in women than in men. Age-related variation in adiponectin levels was only observed in female subjects. *P*-values were calculated by Mann Whitney U test or Kruskal-Wallis test. The upper and lower ends of the boxes and box inner lines correspond to the upper and lower quartiles and median values, respectively. Whiskers denote the minimum and maximum values, and the circles indicate individual values.

Table 3. Reference intervals of serum adiponectin levels in the groups classified according to age and sex

| Sex | Age (yr) | N | 95% reference interval (µg/mL) | | Distribution of adiponectin levels | | | |
|--------|----------|-------|--------------------------------|-----------------------|------------------------------------|----------|----------------------|-----------------|
| | | | 2.5 percentile (CI)* | 97.5 percentile (CI)* | Skewness | Kurtosis | Kolmogorov-Smirnov D | <i>P</i> -value |
| Male | 20 to 29 | 120 | 3.9 (2.5 to 4.4) | 17.9 (15.8 to 21.1) | 0.85 | 3.38 | 0.10 | 0.0086 |
| | 30 to 39 | 120 | 4.1 (2.5 to 4.5) | 15.8 (13.9 to 22.8) | 1.00 | 4.98 | 0.09 | 0.0258 |
| | 40 to 49 | 120 | 3.5 (0.0 to 4.3) | 20.3 (17.8 to 21.0) | 0.52 | 2.68 | 0.10 | 0.0041 |
| | 50 to 59 | 120 | 3.6 (1.2 to 4.2) | 19.5 (13.6 to 21.0) | 1.37 | 5.45 | 0.11 | 0.0007 |
| | 60 to 69 | 120 | 2.5 (1.4 to 3.7) | 23.4 (18.5 to 49.0) | 3.52 | 20.71 | 0.18 | <0.0001 |
| | All | 600 | 3.6 (2.5 to 4.0) | 19.2 (17.8 to 21.0) | 2.51 | 18.64 | 0.11 | <0.0001 |
| Female | 20 to 29 | 120 | 3.8 (1.3 to 6.2) | 30.9 (25.8 to 39.4) | 0.86 | 4.57 | 0.07 | >0.10 |
| | 30 to 39 | 120 | 4.9 (0.4 to 7.1) | 52.5 (35.4 to 60.6) | 1.87 | 8.05 | 0.12 | 0.0001 |
| | 40 to 49 | 120 | 4.0 (3.4 to 4.9) | 25.8 (23.4 to 26.8) | 0.91 | 3.04 | 0.14 | <0.0001 |
| | 50 to 59 | 120 | 5.0 (3.8 to 5.8) | 36.4 (30.2 to 54.5) | 1.61 | 7.53 | 0.11 | 0.0006 |
| | 60 to 69 | 120 | 4.1 (2.9 to 6.6) | 34.2 (29.5 to 35.5) | 1.01 | 3.69 | 0.13 | <0.0001 |
| | All | 600 | 4.5 (3.8 to 4.9) | 34.2 (30.2 to 39.4) | 1.70 | 8.60 | 0.08 | <0.0001 |
| All | | 1,200 | 3.8 (3.5 to 4.3) | 29.2 (26.3 to 32.3) | 2.04 | 10.56 | 0.11 | <0.0001 |

* 90% CI for each age group and 95% CI for the total age groups for men and women. Abbreviation: CI, confidence interval.

Table 4. Correlation between serum adiponectin levels ($\mu\text{g/mL}$) and other variables in normal Korean subjects ($N=1,200$) with no history of metabolic syndrome*

| Variable | Sex | Age | N | r | 95% CI | P-value |
|-------------------------|------------|----------|----------|----------------|----------------------|----------------------|
| BMI (kg/m^2) | Male | 20 to 29 | 120 | -0.3301 | (-0.4809 to -0.1603) | 0.0002 |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.2959 | (-0.4512 to -0.1232) | 0.0010 |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.3937 | (-0.5351 to -0.2307) | < 0.0001 |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.1088 | (-0.2826 to 0.0718) | 0.2368 |
| | | 60 to 69 | 120 | -0.2238 | (-0.3875 to -0.0464) | 0.0140 |
| | | All | 600 | -0.2846 | (-0.3565 to -0.2093) | < 0.0001 |
| | Female | 20 to 29 | 120 | -0.1335 | (-0.3054 to 0.0469) | 0.1460 |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.2074 | (-0.3728 to -0.0292) | 0.0231 |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.3608 | (-0.5072 to -0.1941) | < 0.0001 |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.3792 | (-0.5229 to -0.2145) | < 0.0001 |
| | | 60 to 69 | 120 | -0.1280 | (-0.3004 to 0.0524) | 0.1634 |
| | | All | 600 | -0.2687 | (-0.3414 to -0.1928) | < 0.0001 |
| | All | All | 1,200 | -0.3940 | (-0.4408 to -0.3451) | < 0.0001 |
| | WC (cm) | Male | 20 to 29 | 120 | -0.3820 | (-0.5253 to -0.2176) |
| 30 to 39 | | | 120 | -0.2873 | (-0.4437 to -0.1139) | 0.0015 |
| 40 to 49 | | | 120 | -0.4355 | (-0.5702 to -0.2780) | < 0.0001 |
| 50 to 59 | | | 120 | -0.0146 | (-0.1933 to 0.1651) | 0.8741 |
| 60 to 69 | | | 120 | -0.2319 | (-0.3948 to -0.0550) | 0.0108 |
| All | | | 600 | -0.2871 | (-0.3589 to -0.2120) | < 0.0001 |
| Female | | 20 to 29 | 120 | -0.1513 | (-0.3219 to 0.0287) | 0.0989 |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.2341 | (-0.3967 to -0.0572) | 0.0101 |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.3683 | (-0.5136 to -0.2024) | < 0.0001 |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.4329 | (-0.5680 to -0.2750) | < 0.0001 |
| | | 60 to 69 | 120 | -0.2904 | (-0.4464 to -0.1173) | 0.0013 |
| | | All | 600 | -0.2828 | (-0.3548 to -0.2075) | < 0.0001 |
| All | | All | 1,200 | -0.4595 | (-0.5030 to -0.4137) | < 0.0001 |
| SBP (mmHg) | | Male | 20 to 29 | 120 | 0.0172 | (-0.1626 to 0.1958) |
| | 30 to 39 | | 120 | -0.0856 | (-0.2608 to 0.0951) | 0.3526 |
| | 40 to 49 | | 120 | -0.0842 | (-0.2595 to 0.0965) | 0.3605 |
| | 50 to 59 | | 120 | 0.1624 | (-0.0174 to 0.3320) | 0.0764 |
| | 60 to 69 | | 120 | -0.0058 | (-0.1848 to 0.1737) | 0.9503 |
| | All | | 600 | -0.0107 | (-0.0907 to 0.0694) | 0.7928 |
| | Female | 20 to 29 | 120 | -0.0084 | (-0.1874 to 0.1711) | 0.9272 |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.2006 | (-0.3667 to -0.0221) | 0.0280 |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.0052 | (-0.1843 to 0.1742) | 0.9550 |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.0652 | (-0.2417 to 0.1153) | 0.4789 |
| | | 60 to 69 | 120 | 0.0653 | (-0.1153 to 0.2417) | 0.4787 |
| | | All | 600 | -0.0641 | (-0.1434 to 0.0160) | 0.1166 |
| | All | All | 1,200 | -0.1885 | (-0.2425 to -0.1333) | < 0.0001 |
| | DBP (mmHg) | Male | 20 to 29 | 120 | 0.0323 | (-0.1478 to 0.2103) |
| 30 to 39 | | | 120 | -0.0291 | (-0.2073 to 0.1509) | 0.7522 |
| 40 to 49 | | | 120 | -0.1511 | (-0.3216 to 0.0290) | 0.0996 |
| 50 to 59 | | | 120 | 0.1336 | (-0.0468 to 0.3055) | 0.1458 |
| 60 to 69 | | | 120 | -0.2060 | (-0.3715 to -0.0278) | 0.0240 |
| All | | | 600 | -0.0068 | (-0.1858 to 0.1726) | 0.9412 |
| Female | | 20 to 29 | 120 | -0.0068 | (-0.1858 to 0.1726) | 0.9412 |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.1383 | (-0.3098 to 0.0420) | 0.1321 |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.0148 | (-0.1935 to 0.1649) | 0.8724 |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.0351 | (-0.2130 to 0.1450) | 0.7032 |
| | | 60 to 69 | 120 | 0.0834 | (-0.0973 to 0.2588) | 0.3652 |
| | | All | 600 | -0.0068 | (-0.1858 to 0.1726) | 0.9412 |

(Continued to the next page)

Table 4. (Continued from the previous page) Correlation between serum adiponectin levels (µg/mL) and other variables in normal Korean subjects (N=1,200) with no history of metabolic syndrome*

| Variable | Sex | Age | N | r | 95% CI | P-value | | |
|-------------|--------|-----------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------|
| FBG (mg/dL) | All | All | 600 | -0.0627 | (-0.1420 to 0.0174) | 0.1250 | | |
| | | All | 1,200 | -0.1874 | (-0.2414 to -0.1322) | < 0.0001 | | |
| | Male | 20 to 29 | 120 | -0.1610 | (-0.3307 to 0.0188) | 0.0790 | | |
| | | | 30 to 39 | 120 | -0.2709 | (-0.4293 to -0.0963) | 0.0028 | |
| | | | 40 to 49 | 120 | -0.1455 | (-0.3165 to 0.0346) | 0.1128 | |
| | | | 50 to 59 | 120 | -0.1499 | (-0.3205 to 0.0302) | 0.1023 | |
| | | | 60 to 69 | 120 | 0.1154 | (-0.0652 to 0.2887) | 0.2094 | |
| | | All | 600 | -0.1122 | (-0.1905 to -0.0324) | 0.0059 | | |
| | | | Female | 20 to 29 | 120 | 0.0293 | (-0.1507 to 0.2074) | 0.7508 |
| | | | | 30 to 39 | 120 | -0.0662 | (-0.2425 to 0.1144) | 0.4726 |
| | | | | 40 to 49 | 120 | -0.1116 | (-0.2851 to 0.0690) | 0.2249 |
| | | | | 50 to 59 | 120 | -0.3832 | (-0.5263 to 0.2190) | < 0.0001 |
| 60 to 69 | 120 | -0.0377 | (-0.2155 to 0.1425) | 0.6823 | | | | |
| All | 600 | -0.1141 | (-0.1924 to -0.0344) | 0.0051 | | | | |
| All | All | 1,200 | -0.2000 | (-0.2537 to -0.1450) | < 0.0001 | | | |
| TG (mg/dL) | Male | 20 to 29 | 120 | -0.2113 | (-0.3763 to -0.0334) | 0.0205 | | |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.3571 | (-0.5041 to -0.1900) | < 0.0001 | | |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.2930 | (-0.4487 to -0.1201) | 0.0012 | | |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.1546 | (-0.3248 to 0.0254) | 0.0918 | | |
| | | 60 to 69 | 120 | -0.1172 | (-0.2903 to 0.0634) | 0.2024 | | |
| | | All | 600 | -0.2212 | (-0.2960 to -0.1437) | < 0.0001 | | |
| | Female | 20 to 29 | 120 | -0.1444 | (-0.3155 to 0.0358) | 0.1156 | | |
| | | 30 to 39 | 120 | -0.0928 | (-0.2676 to 0.0789) | 0.3132 | | |
| | | 40 to 49 | 120 | -0.3793 | (-0.5230 to -0.2146) | < 0.0001 | | |
| | | 50 to 59 | 120 | -0.3369 | (-0.4868 to -0.1678) | 0.0002 | | |
| | | 60 to 69 | 120 | -0.3229 | (-0.4747 to -0.1525) | 0.0003 | | |
| | | All | 600 | -0.2574 | (-0.3306 to -0.1811) | < 0.0001 | | |
| All | All | 1,200 | -0.3372 | (-0.3864 to -0.2861) | < 0.0001 | | | |
| HDL (mg/dL) | Male | 20 to 29 | 120 | 0.3834 | (0.2193 to 0.5265) | < 0.0001 | | |
| | | 30 to 39 | 120 | 0.3718 | (0.2063 to 0.5166) | < 0.0001 | | |
| | | 40 to 49 | 120 | 0.2415 | (0.0650 to 0.4032) | 0.0079 | | |
| | | 50 to 59 | 120 | 0.1629 | (-0.0168 to 0.3324) | 0.0754 | | |
| | | 60 to 69 | 120 | 0.1704 | (-0.0092 to 0.3392) | 0.0628 | | |
| | | All | 600 | 0.2580 | (0.1817 to 0.3312) | < 0.0001 | | |
| | Female | 20 to 29 | 120 | 0.1670 | (-0.0127 to 0.3361) | 0.0684 | | |
| | | 30 to 39 | 120 | 0.1378 | (-0.0425 to 0.3094) | 0.1334 | | |
| | | 40 to 49 | 120 | 0.5350 | (0.3935 to 0.6518) | < 0.0001 | | |
| | | 50 to 59 | 120 | 0.3153 | (0.1442 to 0.4681) | 0.0005 | | |
| | | 60 to 69 | 120 | 0.1959 | (0.0172 to 0.3624) | 0.0320 | | |
| | | All | 600 | 0.2883 | (0.2132 to 0.3601) | < 0.0001 | | |
| All | All | 1,200 | 0.4132 | (0.3652 to 0.4591) | < 0.0001 | | | |

* Bold letters imply statistically significant results.

Abbreviations: CI, confidence interval; BMI, body mass index; WC, waist circumference; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; FBG, fasting blood glucose; TG, triglyceride; HDL, high-density lipoprotein cholesterol.

정상군을 ROC 분석의 대조군으로 사용하였으므로 97.5% (95% 신뢰구간 95.9%-98.6%)였다. 마찬가지로, 정상인 여자의 2.5백분위수 참고치인 4.5 µg/mL를 여자 대상군에 대한 절단값으로 적용하는 경우, 대사증후군 진단에 대한 민감도는 30.0% (95% 신뢰구간

17.9%-44.6%)로 낮았고, 특이도는 97.5% (95% 신뢰구간 95.9%-98.6%)로 남자와 동일하였다.

나이 등의 변수가 대사증후군 환자군과 정상군 사이에 차이가 있었으므로, 다변량 분석을 시행하여 유의한 독립변수를 선별하

Table 5. Results of the multivariate analysis using binary logistic regression with metabolic syndrome as a dependent variable and other factors as predictors in patients with metabolic syndrome (N=100) and healthy subjects (N=1,200)

| Factors* | Odds ratio | 95% CI | P-value |
|--------------------------|------------|-------------------|---------|
| Female | 7.4391 | 3.7291 to 14.8402 | <0.0001 |
| BMI (Kg/m ²) | 1.3504 | 1.2119 to 1.5046 | <0.0001 |
| SBP (mmHg) | 1.0905 | 1.0639 to 1.1177 | <0.0001 |
| FBG (mg/dL) | 1.0254 | 1.0104 to 1.0406 | 0.0008 |
| TG (mg/dL) | 1.0119 | 1.0080 to 1.0159 | <0.0001 |
| HDL (mg/dL) | 0.8946 | 0.8552 to 0.9359 | <0.0001 |
| Adiponectin (µg/mL) | 0.7993 | 0.7223 to 0.8844 | <0.0001 |

*Age, diastolic blood pressure, and waist circumference did not show a statistically significant association with the presence of metabolic syndrome in the multivariate analysis.

Abbreviations: CI, confidence interval; BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; FBG, fasting blood glucose; TG, triglyceride; HDL, high-density lipoprotein cholesterol.

였으며, 그 결과를 Table 5에 요약하였다. 본 연구의 대상군에서는 성별, 체질량지수, 수축기혈압, 공복혈당, 중성지방 및 고밀도 콜레스테롤 농도가 대사증후군과 관련된 유의한 독립변수였으며, 혈청 adiponectin 농도의 경우 대사증후군에 대한 odds ratio가 0.7993으로, 낮은 adiponectin 농도와 대사증후군 사이에 독립적인 관련성이 있었다($P < 0.0001$).

고찰

Adiponectin이 1990년대 말 처음 발견된 이후, 당뇨, 인슐린 저항성, 비만 등과 관련된 복합적 대사이상을 평가하기 위한 지표로서의 유용성이 주로 연구되어 왔으나, 근래에는 암, 감염질환 및 자가면역질환 등 다양한 질병과의 연관성이 밝혀지고 있다. 이러한 임상적 중요성에도 불구하고 임상검사에서 정량검사로써 adiponectin 정량검사를 시행하기 위한 선결과제로 adiponectin 검사의 검사 성능을 평가하는 연구가 많이 시행되지 못하였고, 임상검사에서 사용하기 위한 adiponectin 측정 정량검사 시약의 개발도 활발하게 이루어지지 않았다.

이 연구에서는 국내에서 개발된 adiponectin 정량검사용 ELISA의 검사 성능을 평가하고자 하였으며, 향후 연구를 위한 기초 자료로 사용할 수 있도록 대사증후군이 없는 한국인 1,200명에서 혈청 adiponectin 농도를 측정하여 한국인의 adiponectin 참고구간을 설정하고자 하였다.

이 연구에서 평가한 AdipoMark ELISA 검사는 adiponectin 농도가 6.66에서 23.42 µg/mL 범위의 혈청 검체에 대하여 변이계수 9.3%에서 13.6% 사이의 총 비정밀도를 보였고, 검사 내 비정밀도는 변이계수 5.5%에서 9.6% 사이였으며, 검사 간 비정밀도는 변이계수

7.5%에서 9.5% 범위였다(Table 1). Adipokine 동시정량검사의 검사 성능을 평가한 이전의 한 연구에서 multiplex bead-based immunoassay 및 방사면역측정법(radioimmunoassay) 원리를 사용한 adiponectin 측정 검사의 검사 내 비정밀도는 각각 검사에 대하여 변이계수 3.8% 및 3.9%, 검사 간 비정밀도는 각각 변이계수 13.0% 및 8.5%였고[14], 이와 유사한 다른 연구에서도 multiplex bead-based immunoassay와 ELISA의 검사 내 비정밀도를 각각 변이계수 5.0%와 6.9%로, 검사 간 비정밀도를 대상농도에 따라 multiplex bead-based immunoassay는 변이계수 8.9%에서 12.0%, ELISA는 4.1%에서 8.2%로 보고한 바 있어[15], 본 연구의 결과와 유사하였으나, 두 연구 모두 총 비정밀도를 보고하지 않아 본 연구의 결과와 정확한 비교는 어려웠다. 상용화된 adiponectin 측정검사가 많이 보급되지 않았고, adiponectin 측정검사의 검사 성능에 대한 보고도 드물어 여러 종류의 adiponectin 측정검사의 보급을 위하여 검사 성능에 대한 평가가 선행되어야 할 것으로 사료된다.

한편, 최근의 한 연구에 따르면 소아의 경우 출생 이후부터 14세 경까지 혈장 adiponectin 농도가 지속적으로 감소하므로 나이에 따른 참고구간을 적용해야 한다고 하였으나[16], 본 연구에서는 대사증후군에 이환되지 않은 성인만을 대상으로 혈청 adiponectin 농도를 측정한 결과, 남자의 경우 연령별 대상군 간에 adiponectin 농도의 차이가 없었고, 여자의 경우 남자보다 높은 adiponectin 농도를 보이고 연령별 대상군 간에도 차이를 보였으며, 40대 여성의 경우에서 가장 낮은 adiponectin 농도를 보였다. 이전의 한 연구에서 개인 내 adiponectin의 일중 변화가 cortisol의 변화에 영향을 받음을 보고한 바 있으나[17], 다른 연구에서는 비만인 대상군에 비하여 정상인에서 30일간 개인 내 adiponectin 농도 변화는 매우 작음을 보고하였고[18], 다른 연구에서도 체질량지수의 변화를 보정한 경우 1년간 개인 내 변화가 극히 적어 역학 조사를 위해 adiponectin을 측정하는 경우 개인당 한번만 측정해도 충분함을 제시한 바 있다[19]. 본 연구에서는 특히 40대 여성의 경우 adiponectin 농도가 다른 연령대의 여성 대상군에 비하여 낮았으나 대상군 중 40대 여성의 체질량지수나 허리둘레가 오히려 50대 및 60대 여성군에 비해서 작았으므로, 체질량지수나 허리둘레 등 본 연구에서 고려한 변수 이외의 요소가 여성에서 adiponectin 농도의 연령대별 차이에 영향을 준 것으로 생각된다. 최근의 한 연구에서 중년 여성의 경우 낮은 성호르몬결합글로불린(sex hormone binding globulin) 및 높은 테스토스테론(testosterone) 농도가 낮은 adiponectin 농도와 관련이 있음을 보고하였는데[20], 본 연구의 결과에서 40대 이상 여성의 adiponectin 농도가 감소하는 이유는 아마도 중년 이후 여성에서 발생하는 호르몬 불균형 및 남성화 때문일 것으로 추정된다. 따라서 adiponectin의 연령에 따른 생리적 변동에 대한 추가적 연구가 필요할 것으로 생각된다. 본 연구에서 남자의

경우 연령 별로 adiponectin 농도에 차이가 없었으나, 여자의 경우 연령에 따라 차이가 있었고, 남녀 간에도 adiponectin 농도에 차이가 있었으므로, 여자의 경우 연령대에 따라 각각의 참고구간을 적용하는 것이 바람직할 것으로 사료되고, 남자의 경우에는 연령 별로 참고구간을 구분할 필요는 없을 것으로 생각된다.

이전의 여러 연구들에서 보고한 바와 같이[2, 6, 8, 10, 21-23], 본 연구에서도 대부분의 연령 및 성별 대상군에서 혈청 adiponectin 농도가 체질량지수 및 허리둘레와 음의 상관관계를 보였고, 남자의 경우 50세 미만, 여자의 경우 40세 이상에서 adiponectin 농도가 고밀도콜레스테롤 수치와 양의 상관관계를 보여 낮은 adiponectin 농도가 당뇨, 심혈관질환 및 대사증후군의 위험도와 관련이 있을 것으로 생각되었다. 남녀 및 연령대별로 adiponectin 농도와 다른 대사지표 간의 상관성 정도가 달랐고, 이는 연령 및 성별에 따른 지방대사의 차이에 따른 것으로 생각된다. 이처럼 건강인 사이에도 연령 및 성별에 따라 여러 대사지표들에 차이가 있으므로 본 연구에서는 검체 수집 시 조사된 변수들을 포함하여 다변량 분석을 시행하였으며, 그 결과 낮은 adiponectin 농도가 대사증후군과 독립적으로 연관되어 있었으므로, adiponectin 농도가 대사 이상을 반영하는 중요한 지표임을 확인하였다.

남녀 각각 50명씩 100명의 대사증후군 환자에서 혈청 adiponectin을 측정된 결과, 남녀 모두 정상인에 비하여 대사증후군 환자가 낮은 adiponectin 농도를 보였다. 또한, ROC 분석에서 남녀 모두 AUC 값이 0.82 이상으로 adiponectin 농도가 대사증후군 진단에 유용한 지표임을 알 수 있었다. 그러나, ROC 분석을 위한 대조군과 참고구간 산출을 위한 정상인 대상군이 같았으므로 이 연구에서 산출한 2.5백분위수 참고치를 대사증후군 진단을 위한 절단값으로 적용하는 경우 97.5%의 특이도를 보인 반면, 민감도는 남녀 모두 30% 내외로 낮아서 참고구간을 대사증후군 진단을 위한 절단값으로 사용하는 것은 바람직하지 않을 것으로 생각되며, 특정 질환의 진단을 목적으로 adiponectin을 측정하는 경우 질환 별로 최적의 절단값을 산출할 필요가 있을 것으로 판단된다. 본 연구 결과에서 대사증후군 진단을 위한 최적의 adiponectin 절단값은 남자 6.59 µg/mL, 여자 9.27 µg/mL였으며, 이를 적용하는 경우 대사증후군 진단에 대한 민감도와 특이도는 남자의 경우 86.0% 및 70.5%, 여자의 경우 78.0% 및 75.0%였다.

한편, 본 연구에서 산출한 혈청 adiponectin 농도의 상위 참고구간값이 시약의 측정가능범위를 벗어났으나, adiponectin 농도의 감소가 질환과 관련되어 있으므로 산출된 상위 참고구간값의 정확성에 대한 추가적인 검증은 시행하지 않았다.

본 연구에서 평가한 국내 제조사의 adiponectin 정량검시약은 ELISA 원리를 사용한 검사임을 감안할 때, 이전의 보고들과 유사한 정밀도를 보이는 등, 허용할 만한 수준의 검사 성능을 보였다.

Adiponectin과 다양한 질병의 관련성에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있는 점을 고려하여 볼 때, 자동화된 측정원리를 적용한 검시약의 개발을 통하여 신속하고 용이한 검사가 가능함은 물론, 검사 성능을 더욱 개선함으로써 향후 임상검사실에서 adiponectin 측정을 정규검사로 도입할 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서 설정한 한국인의 성별 및 연령 별 혈청 adiponectin 참고구간은 한국인을 대상으로 다양한 질환에서 adiponectin의 역할을 밝히기 위한 기본 자료로서 향후 연구에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

배경: Adiponectin은 지방세포에서 분비되는 혈장 단백질로, adiponectin의 감소가 인슐린저항성 및 대사증후군과 관련이 있음이 보고되어 왔다. 본 연구에서는 혈청 내 adiponectin 농도 측정을 위한 ELISA 시약의 검사 및 임상 성능을 평가하고 한국인의 참고구간을 설정하고자 하였다.

방법: AdipoMark Human Adiponectin ELISA 시약(Mesdia Co., Korea)의 정밀도와 직선성을 평가하였다. 대사증후군이 없는 대상군 1,200명에서 adiponectin을 측정하여 참고구간을 설정하였다. 대사증후군 환자 100명에서 adiponectin을 측정하였다.

결과: 정밀도 평가를 위한 혈청 검체의 평균 adiponectin 농도는 각각 6.66, 12.61 및 23.42 µg/mL였고, AdipoMark ELISA 검사는 해당 농도에 대하여 각각 표준편차 0.90, 1.18 및 2.47 µg/mL, 변이계수 13.6%, 9.3% 및 10.5%의 총 비정밀도를 보였다. AdipoMark ELISA 검사는 혈청 adiponectin 농도가 1.8-29.9 µg/mL인 범위에서 직선성을 보였다. 한국인의 95% 참고구간은 남자 3.6-19.2 µg/mL, 여자 4.5-34.2 µg/mL이었다. 대사증후군 진단에 대한 adiponectin의 상대수행능곡선-곡선하면적은 남자 0.85, 여자 0.83이었다. 다변량 분석에서 낮은 adiponectin 농도가 대사증후군과 독립적으로 연관되어 있었다.

결론: 본 연구에서 평가한 adiponectin 측정시약은 ELISA 원리를 활용한 검사임을 감안할 때 허용할 만한 수준의 검사 성능을 보였다. Adiponectin과 관련된 것으로 알려져 있는 다양한 대사질환에 대한 연구를 위하여 신뢰할 수 있는 adiponectin 측정방법에 대한 요구가 꾸준히 증가하고 있어, 향후 자동화된 검사방법을 개발하여 adiponectin 측정시약을 더 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

Adiponectin ELISA 시약을 제공해주신 메스디아(주) 및 본 연구에 사용된 검체를 제공해주신 연세대학교 보건대학원 지선하 교

수 연구팀께 감사 드립니다.

REFERENCE

1. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:286-9.
2. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:79-83.
3. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473-6.
4. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 2000;32:47-50.
5. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001;103:1057-63.
6. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1595-9.
7. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3815-9.
8. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1930-5.
9. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 2001;50:1126-33.
10. Rasmussen-Torvik IJ, Wassel CL, Ding J, Carr J, Cushman M, Jenny N, et al. Associations of body mass index and insulin resistance with leptin, adiponectin, and the leptin-to-adiponectin ratio across ethnic groups: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Ann Epidemiol* 2012;22:705-9.
11. Liu Q, Yuan B, Lo KA, Patterson HC, Sun Y, Lodish HF. Adiponectin regulates expression of hepatic genes critical for glucose and lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:14568-73.
12. Behnes M, Brueckmann M, Lang S, Putensen C, Saur J, Borggrefe M, et al. Alterations of adiponectin in the course of inflammation and severe sepsis. *Shock* 2012;38:243-8.
13. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev* 2012;33:547-94.
14. Martos-Moreno GÁ, Burgos-Ramos E, Canelles S, Argente J, Barrios V. Evaluation of a multiplex assay for adipokine concentrations in obese children. *Clin Chem Lab Med* 2010;48:1439-46.
15. Loo BM, Marniemi J, Jula A. Evaluation of multiplex immunoassays, used for determination of adiponectin, resistin, leptin, and ghrelin from human blood samples, in comparison to ELISA assays. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71:221-6.
16. Cangemi G, Di Iorgi N, Barco S, Reggiardo G, Maghnie M, Melioli G. Plasma total adiponectin levels in pediatrics: reference intervals calculated as a continuous variable of age. *Clin Biochem* 2012;45:1703-5.
17. Gavrilu A, Peng CK, Chan JL, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:2838-43.
18. Shand B, Elder P, Scott R, Frampton C, Willis J. Biovariability of plasma adiponectin. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1264-8.
19. Pischon T, Hotamisligil GS, Rimm EB. Adiponectin: stability in plasma over 36 hours and within-person variation over 1 year. *Clin Chem* 2003;49:650-2.
20. Wildman RP, Wang D, Fernandez I, Mancuso P, Santoro N, Scherer PE, et al. Associations of testosterone and sex hormone binding globulin with adipose tissue hormones in midlife women. *Obesity (Silver Spring)* 2012.
21. Riestra P, García-Anguita A, Lasunción MA, Cano B, de Oya M, Garcés C. Relationship of adiponectin with metabolic syndrome components in pubertal children. *Atherosclerosis* 2011;216:467-70.
22. Yoon SJ, Lee HS, Lee SW, Yun JE, Kim SY, Cho ER, et al. The association between adiponectin and diabetes in the Korean population. *Metabolism* 2008;57:853-7.
23. Kotani K and Sakane N. Leptin:adiponectin ratio and metabolic syndrome in the general Japanese population. *Korean J Lab Med* 2011;31:162-6.