

Hepatic lipase 유전자 promoter의 G-250A 다형성과 대사증후군간의 관련성

김명철, 이명숙¹⁾, 유병철, 이용환

고신대학교 의과대학 예방의학교실, ¹⁾고신대학교 대학원 보건과학과

Relationship of the G-250A Polymorphism of the Human Hepatic Lipase Gene Promoter with Metabolic Syndrome in Koreans

Myung Chul Kim, Myeong Sook Lee¹⁾, Byeng Chul Yoo, Yong Hwan Lee

Department of Preventive Medicine, Kosin University College of Medicine,

¹⁾Department of Health Science, Kosin University Graduate School, Busan, Korea

Abstract

Background and Objectives: The -250G to A polymorphism of the hepatic lipase gene (LIPC) has been associated with lowered hepatic lipase activity, dyslipidemia, and diabetes. The aims of this study were to elucidate the relationship of the G-250A polymorphism of LIPC with metabolic syndrome in Koreans.

Methods: A total of 943 health screen examinees were enrolled in this study who were examined in Kosin University Gospel Hospital from December 2004 to February 2006. The height, weight, body mass index, body fat mass, visceral fat mass, waist circumference, and systolic and diastolic blood pressure of the subjects were examined and fasting blood glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride were measured by sampling in venous blood. The metabolic syndrome was defined as the presence of three or more of the following : waist circumference men ≥ 90 cm, women ≥ 80 cm, blood pressure $\geq 130/85$ mmHg, fasting glucose ≥ 110 mg/dL, HDL cholesterol men < 40 mg/dL, women < 50 mg/dL, triglyceride ≥ 150 mg/dL. The blood pressure, fasting glucose, HDL cholesterol, triglyceride were evaluated by using the criteria of NECP ATP III and waist circumference was assessed by using the criteria of WHO Asia-Western Pacific. The genotype at position -250 of the hepatic lipase promoter was determined by single base extension and electrophoresis.

Results: The observed frequencies of the -250G to A polymorphism of LIPC were 49.8% for the metabolic syndrome, 51.4% for the control group and 50.9% in total subjects. The frequency of the A allele was 36% in total subjects. Concentration of triglyceride was significantly higher in subjects with GA and AA genotypes in women..

Conclusion: The -250A allele frequency was 36% in Koreans and the -250G to A polymorphism of LIPC seems to significantly influence to plasma triglyceride levels in women.

Key words : Metabolic syndrome, Hepatic lipase, Genetic polymorphism

서 론

Hepatic lipase는 간에서 합성되어 분비되는 지방분해효

소로서 중성지방이 풍부한 지단백의 가수분해에 필수적인 성분으로서, 분비된 후 간의 sinusoidal endothelial surface에 부착되어 있으며 혈장 내 지단백을 콜레스테롤과 함께 동맥경화를 일으키는 혈중 지방 성분인 중성지방과 인지질로 가수분해한다.¹⁻³⁾ 또한 고밀도 지단백(High density lipoprotein, HDL) 콜레스테롤 대사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, HDL 콜레스테롤

교신저자 : 이용환

주소: 602-702, 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 예방의학교실
TEL. 051-990-6659
E-mail: yhlee@ns.kosinmed.or.kr

의 농도가 부분적으로 hepatic lipase에 의해 조절된다는 것이 입증되었다.⁴⁾ 이러한 hepatic lipase의 결함이 발생할 경우 HDL 콜레스테롤의 증가, HDL과 저밀도 지단백(Low density lipoprotein, LDL)에서 중성지방 농도의 증가, 그리고 식사 후 glyceride-rich lipoproteins 대사의 손상을 가져오게 되는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁸⁾ 그리고 이러한 현상들은 동맥경화증의 위험인자들로 알려져 있다. Hepatic lipase는 다양한 기능을 가진 중요한 효소임에도 불구하고 지단백 대사에서의 hepatic lipase의 정확한 역할은 아직 확실하지 않다.

인간 hepatic lipase (LIPC) 유전자는 염색체 15q21에 위치하며, 35kb의 크기로서, 9개의 exon으로 이루어져 있다.⁹⁻¹²⁾ 이미 hepatic lipase 결함과 관련된 돌연변이를 포함하여 LIPC 유전자의 단일염기 다형성에 대해서 여러 보고가 있었다.^{5,7,8,13-15)} 최근에는 이러한 LIPC 유전자의 promoter부분에서 일어나는 변이가 혈장 내 HDL 콜레스테롤 농도와 관련이 있는 것으로 보고되었으며, LIPC 유전자의 promoter 부위의 변이가 hepatic lipase의 활성도와 관련이 있다고 보고되었다.¹⁶⁻²⁴⁾

대사증후군은 비만, 당불내인성(또는 2형 당뇨병), 고혈압, HDL 콜레스테롤의 감소, 고중성지방혈증으로 구성된다.²⁵⁻²⁷⁾ 대사증후군은 현재 전세계적으로 특히, 서구의 노년층에서 가장 흔한 질환 중의 하나로 인식되고 있다. Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)에 따르면 미국 성인의 20%이상에서 대사증후군을 가지고 있다고 한다.²⁸⁾ 우리나라의 경우 20-79세의 7,865명을 대상으로 1998년 시행된 국민건강영양조사에서 WHO 아시아-서태평양 북부비만 진단기준을 적용하였을 때 대사증후군의 유병률은 남자 20.1%, 여자 23.9%이었다.²⁹⁾

여러 생활 습관이 대사증후군과 관련이 있지만 그 중에서도 지방산의 질과 양이 대사증후군의 발생에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.^{30,31)} 또한 유전적 요인이 대사증후군 발생과 관련이 있다는 증거도 보고되고 있다.³²⁾

한국인에서는 아직 LIPC 유전자에서의 돌연변이에 대한 연구가 제대로 이루어지지 않고 있으므로 한국인에 있어서 LIPC 유전자의 G-250A 단일염기 다형성과 대사증후군과의 관련성을 확인하기 위하여 이 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

고신대학교 복음병원 산업보건관리센타에서 2004년 12월에서 2006년 2월 사이에 건강진단을 받았던 수진자 가운데 본 연구에 참여하기를 동의하였던 1501명 중 자료가 불충분한 사람을 제외한 943명을 조사 대상으로 하였으며, 이중 대사증후군으로 분류된 사람은 281명, 정상대조군은 662명 이었다.

2. 방법

1) 신체계측 및 혈액검사

대상자들의 신체계측은 신장, 체중, 체질량지수, 허리둘레와 수축기와 이완기 혈압을 측정하였다. 키, 체중은 자동측정기를 이용하고, 복부둘레는 직립자세에서 제대부위를 측정하였으며, 체지방과 내장 지방량은 체성분분석기(ZEUS 9.9, Jawon Medical, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈압측정 후 정맥혈을 채혈하여 공복 혈당, 총콜레스테롤, 고밀도 지단백(High density lipoprotein, HDL) 콜레스테롤, 저밀도 지단백(Low density lipoprotein, LDL) 콜레스테롤과 중성지방 수치를 측정하였다. 공복 혈당, 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 중성지방의 검사는 HITACHI 7600-210 & HITACHI 7180 (HITACHI, JAPAN)으로 측정하였다. 공복 혈당은 헥소카이네즈법으로 측정하였고, 총콜레스테롤과 중성지방은 enzymatic colorimetric법으로 측정하였으며, HDL 콜레스테롤은 selective inhibition 방법으로 측정하였고, LDL 콜레스테롤은 Friedwald 공식을 이용하여 산출하였다.

2) 대사증후군의 정의

대사증후군의 정의는 혈압, 공복 혈당, HDL 콜레스테롤, 중성지방은 NCEP ATP III의 기준²³⁾을 적용하였고, 허리둘레는 WHO 아시아-서태평양 기준²⁴⁾을 적용하여, 다음의 5가지 항목, 즉 허리둘레 남자 ≥ 90 cm, 여자 ≥ 80 cm, 혈압 $\geq 130/85$ mmHg, 공복 혈당 ≥ 110 mg/dL, HDL 콜레스테롤 남자 < 40 mg/dL, 여자 < 50 mg/dL, 중성지방 ≥ 150 mg/dL, 이 가운데서 3가지 이상을 가지고 있

을 때로 정의하였다.

3) DNA 추출

혈액으로부터 DNA를 추출하기 위해 Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega Co, USA)를 사용하였다. 혈액 300 μ l를 1.5 ml tube에 분주한 후 Cell Lysis Solution 900 μ l를 첨가하였다. 위의 용액을 잘 섞은 후 실온에서 10분간 방치하였다. 13,000 rpm에서 20초간 원심 분리하여 상등액의 잔여물이 약 20~30 μ l 남도록 한 후 10~20초간 강하게 섞었다. Nuclei Lysis Solution을 300 μ l 첨가하고 세포가 완전히 용해될 수 있도록 5~6회 섞었다. 그 후 1.5 μ l의 RNase를 첨가하여 2~5회 섞은 뒤 37°C에서 15분 방치하였다. 단백질을 침전 용액을 100 μ l 첨가한 후 10~20초간 강하게 섞어 13,000 rpm에서 3분간 원심 분리하였다. 상등액을 새로운 튜브로 옮긴 뒤 300 μ l의 isopropanol을 첨가하여 2~5회 섞었다. 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상등액을 제거한 후 DNA 침전물을 확인하였다. 70% ethanol 900 μ l를 첨가하여 DNA를 세척한 후 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상등액을 완전히 제거하여 세포를 건조시켰다. DNA Rehydration Solution을 100 μ l 첨가하여 65°C에서 1시간 방치하였다. 그 후 4°C에서 24시간 방치한 후 -20°C에서 DNA를 보관하였다.

4) Single base extension에 의한 genotyping

(1) 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction, PCR) 과정

사용한 PCR primer는 표 1과 같았다. 각 primer의 혼합물(Applied Biosystems, Foster city, Calif, USA) (genomic DNA 20 ng, 250 mM dNTPs, 0.15U Taq DNA polymerase) 1.25 pmol로 PCR을 하였다. 증폭은 GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler (Applied Biosystem)를 사용하여 touch-down 방법으로 시행하였다.³³⁾ Primer extension 반응을 보기 위해 IU SAP (Amersham Life Science)를 PCR 산물에 첨가하여 PCR을 깨끗이 하였다. 이 혼합물은 37°C에서 1시간동안 배양 후 72°C에서 15분간 배양하여 효소를 불활성화 시켰다.

Table 1. Primer sequence of LIPC single nucleotide polymorphism

Gene	Locus	Primer	5'-3'
LIPC	rs6078_GA	forward	GAGCTGGAGAAGGAAGAAGGG
		reverse	GACGGCGATGGTGTAGTGGT
		extension	CTCTGTCCCTCCTCAGGTGGACGGC

(2) Primer extension 반응

Primer extension 반응은 SNaPshot ddNTP Primer Extension Kit (Applied Biosystems)를 사용하여 수행하였다. 1U SAP를 반응 혼합물에 첨가하여 37°C에서 1시간, 72°C에서 15분간 배양하였다.

(3) 전기영동

DNA 표본과 extension 산물, 그리고 Genescan 120 Liz size-standard 용액을 Hi-Di formamide (Applied Biosystems)에 첨가하였다. 이 혼합물을 95°C에서 5분간 배양 후 5분간 얼음에 담겼다. ABI Prism 3100 Genetic Analyzer에서 전기영동하였다. 이때 사용한 프로그램은 ABI Prism GeneScan and Genotyper (Applied Biosystems)였다.

LIPC의 염기서열 분석은 MacroGen 사(Korea)에 의뢰하여 그 결과를 얻었다(Fig.1).

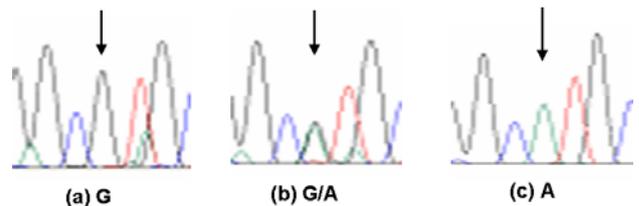


Fig. 1. The DNA sequencing of the spanning of G-250A region from a normal control and the patient with metabolic syndrome. An G to A substitution was demonstrated in the (c).

5) 자료분석

수집된 자료는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., USA) 통계프로그램을 사용하여 자료의 특성에 따라 t-검정, χ^2 -검정, 일원 분산분석을 하였으며, 통계적 유의성은 p<0.05로 하였다.

결 과

1. 연구대상자의 일반적 특성

대사증후군은 남자 107명, 여자 174명으로 전체 281명 이었으며, 정상 대조군은 남자 248명, 여자 414명, 전체 662명으로서 남,녀의 성별 구성에 있어서 유의한 차이는 없었다(Table 2). 대사증후군의 평균 연령은 54.7세 이었고, 정상 대조군은 50.9세로서 대사증후군에서 유의하게 높았다(p=0.000). 대사증후군의 체지방량은 21.3 kg, 내장지방량은 3.2 kg, 체지방률은 31.1%이었으며, 정상 대조군은 각각 17.4 kg, 2.4 kg, 28.0% 이었다. 대사증후군의 평균 허리둘레는 88.1 cm, 체질량 지수는 26.3 kg/m² 이었고, 정상 대조군은 각각 79.7 cm, 24.0 kg/m² 이었다. 수축기 혈압과 이완기 혈압은 대사증후군에서는 각각 138.3 mmHg, 82.0 mmHg 이었으며, 정상 대조군은 각각 125.9 mmHg, 75.2 mmHg로서 대사증후군에서 모두 유의하게 높았다(p=0.000). 대사증후군의 총콜레스테롤치는 200.2 mg/dL, LDL 콜레스테롤치는 114.4 mg/dL, HDL 콜레스테롤치는 48.4 mg/dL, 중성지방은 182.1 mg/dL, 공복 혈당은 113.7 mg/dL로서 정상대조군의 총콜레스테롤치 195.2 mg/dL, LDL 콜레스테롤치 116.5 mg/dL, HDL 콜레스테롤치 57.3 mg/dL, 중성지방 105.6 mg/dL, 공복 혈당 98.1 mg/dL 로서 LDL 콜레스테롤치를 제외하고는 모두 대사증후군에서 정상대조군보다 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.05).

Table 2. Characteristics of the study groups

	Control (n=662)	Metabolic syndrome (n=281)	P-value
Sex (men/women), n/n	248/414	107/174	0.883
Age (years)	50.9±7.8	54.7±8.1	0.000
Waist circumference (cm)	79.7±7.6	88.1±7.1	0.000
BMI (kg/m ²)	24.0±2.6	26.3±3.6	0.000
Body fat mass (kg)	17.4±4.5	21.3±5.0	0.000
Visceral fat mass (kg)	2.4±2.9	3.2±4.6	0.000
Systolic blood pressure (mmHg)	125.9±14.4	138.3±16.1	0.000
Diastolic blood pressure (mmHg)	75.2±9.7	82.0±10.7	0.000
Fasting glucose (mg/dL)	98.1±20.6	113.7±29.6	0.000
Total cholesterol (mg/dL)	195.2±35.0	200.2±36.6	0.047
HDL cholesterol (mg/dL)	57.3±12.9	48.4±11.8	0.000
LDL cholesterol (mg/dL)	116.5±31.0	114.4±34.1	0.361
Triglyceride (mg/dL)	105.6±60.0	182.1±77.3	0.000

2. 대사증후군과 정상 대조군에서 G-250A 유전자 다형성 발현 빈도

대사증후군에서 G-250A 유전자 다형성 발현 빈도는 140명(49.8%)이었고, 정상 대조군에서는 340명(51.4%)으로서 발현 빈도에 있어서 두 군간의 유의한 차이는 없었다(Table 3). 대립형질 A의 빈도에 있어서도 대사증후군에서는 35.2%, 정상 대조군에서는 35.8%로서 두 군간에 유의한 차이는 없었으며, 전체적으로는 대립형질 A의 빈도가 36.0% 이었다.

Table 3. Frequency distributions of the hepatic lipase gene according to the study groups

Group	Genotype (%)		X ²	p	Allele (%)		X ²	p
	GG	GA+AA			G	A		
Metabolic syndrome (n=281)	141 (50.2)	140 (49.8)	0.186	0.666	258 (64.8)	140 (35.2)	0.052	0.852
Control (n=662)	322 (48.6)	340 (51.4)			609 (64.2)	340 (35.8)		

Table 4. Comparison of components of metabolic syndrome and internal fat mass with different genotypes in total subjects

	Hepatic lipase gene type			
	GG (n=463)	GA (n=404)	AA (n=76)	p
Waist circumference (cm)	82.2±8.3	82.4±8.3	81.6±9.2	0.749
Body fat mass (kg)	18.7±5.1	18.5±5.0	18.5±4.4	0.865
Visceral fat mass (kg)	2.8±4.8	2.5±1.4	2.5±0.9	0.537
Systolic blood pressure (mmHg)	130.6±16.2	128.9±15.6	126.8±15.9	0.082
Diastolic blood pressure (mmHg)	77.9±10.4	76.9±10.3	74.2±11.6	0.012
Fasting glucose (mg/dL)	102.1±24.4	102.4±23.9	107.4±28.7	0.227
Total cholesterol (mg/dL)	195.9±34.3	198.3±36.4	193.3±39.0	0.410
HDL cholesterol (mg/dL)	55.1±13.5	54.5±13.0	52.8±13.3	0.339
LDL cholesterol (mg/dL)	116.0±30.2	116.2±33.1	113.5±36.2	0.783
Triglyceride (mg/dL)	121.6±73.5	133.7±75.2	134.8±69.8	0.043

3. 전체대상자에서 G-250A 유전자 다형성 유무에 따른 검사 결과 비교

전체 대상자 가운데 G-250A 돌연변이가 일어난 사람과 일어나지 않은 사람에서 검사 결과의 차이가 있는지를 비교하였다(Table 4). 전체 대상자 943명 GG형이 463명, GA형이 404명, AA형이 76명이었다. 각 형에 따른 비교에서 이완기 혈압이 GG형은 77.9 mmHg, GA형은 76.9 mmHg, AA형은 74.2 mmHg로서 GG형이 통계적으로 유의하게 높았다(p=0.012). 중성지방에서는 GG, GA, AA형이 각각 121.6 mg/dL, 133.7 mg/dL, 134.8 mg/dL로서

GA형과 AA형에서 통계적으로 유의하게 높았다 (p=0.043).

4. 남자 대상자에서 G-250A 유전자 다형성 유무에 따른 검사 결과 비교

전체 대상자 가운데 남자 355명을 대상으로 LIPC G-250A 유전자 다형성 유무에 따라 검사 결과에 있어서 차이가 있는지를 표 5에서 비교하였다. 남자 355명 가운데 돌연변이를 나타낸 사람은 188명 이었으며, 돌연변이가 없는 사람은 167명이었다. 돌연변이가 있는 군과 없는 군 간에 모든 검사 결과에 있어서 유의한 차이를 발견할 수 없었다.

Table 5. Comparison of components of metabolic syndrome and internal fat mass with different genotypes in male subjects

	Hepatic lipase gene type			P
	GG (n=167)	GA (n=180)	AA (n=28)	
Waist circumference (cm)	86.2±7.0	86.2±7.4	87.6±6.4	0.610
Body fat mass (kg)	16.8±4.9	17.2±4.6	17.7±4.3	0.594
Visceral fat mass (kg)	3.0±5.9	2.6±0.9	2.7±0.9	0.665
Systolic blood pressure (mmHg)	141.1±76.2	131.4±14.2	133.3±14.5	0.249
Diastolic blood pressure (mmHg)	87.9±80.1	77.9±9.7	76.9±11.0	0.225
Fasting glucose (mg/dL)	107.9±27.1	107.1±28.1	111.4±28.3	0.754
Total cholesterol (mg/dL)	195.1±34.3	192.6±34.2	190.7±34.5	0.719
HDL cholesterol (mg/dL)	52.9±14.4	52.2±13.1	48.3±13.3	0.253
LDL cholesterol (mg/dL)	111.2±31.2	108.9±29.2	110.8±31.7	0.784
Triglyceride (mg/dL)	150.3±85.4	148.2±79.4	152.1±75.0	0.962

5. 여자 대상자에서 G-250A 유전자 다형성 유무에 따른 검사 결과 비교

전체 대상자 가운데 여자는 588명이었으며, 이중 G-250A 유전자 다형성 있는 사람은 292명, 없는 사람은 296명이었다(Table 6). 돌연변이가 있는 군과 없는 군을 대상으로 검사 결과에 있어서 유의한 차이가 있는지를 비교하였으며, 유전자 다형성이 있는 경우 중성지방이 통계적으로 증가되어 있는 것을 확인할 수 있었다 (p=0.003).

Table 6. Comparison of components of metabolic syndrome and internal fat mass with different genotypes in female subjects

	Hepatic lipase gene type			P
	GG (n=296)	GA (n=244)	AA (n=48)	
Waist circumference (cm)	79.9±8.1	79.8±7.9	78.1±8.7	0.336
Body fat mass (kg)	19.7±4.9	19.3±5.0	18.9±4.4	0.524
Visceral fat mass (kg)	2.6±4.0	2.4±1.7	2.3±0.8	0.730
Systolic blood pressure (mmHg)	138.0±88.9	130.8±58.1	150.5±141.5	0.280
Diastolic blood pressure (mmHg)	86.3±93.0	80.0±60.0	101.7±149.2	0.274
Fasting glucose (mg/dL)	99.0±22.2	99.2±20.1	105.0±29.0	0.212
Total cholesterol (mg/dL)	196.3±34.4	202.1±37.3	194.8±41.6	0.140
HDL cholesterol (mg/dL)	56.3±12.8	56.1±12.7	55.4±12.8	0.879
LDL cholesterol (mg/dL)	118.7±29.3	121.0±34.6	115.0±38.8	0.444
Triglyceride (mg/dL)	105.8±60.5	124.4±71.1	124.6±65.3	0.003

고찰

인간 hepatic lipase는 monoglyceride, diglyceride, triglyceride hydrolase, phospholipase A1 활성도를 가지고 있으며, 간에서 합성되고 분비된다. 지질대사 이상이 있는 환자들에서 hepatic lipase의 활성도에 영향을 미치는 hepatic lipase 유전자(LIPC)의 돌연변이가 발견된다.²⁴⁾ 인간 hepatic lipase 유전자의 promoter 부위에서 4개의 유전자 다형성(G-250A, C-514T, T-710C, A-763G)이 흔히 발견되고 있으며, 유전자 다형성이 있는 경우 hepatic lipase의 활성도에 영향을 미쳐 지질 대사의 이상을 초래하게 된다. 이 연구에서는 LIPC G-250A의 유전자 다형성과 대사증후군과의 관련성을 확인하고자 하였다.^{20,21)}

이 연구에서 LIPC G-250A의 유전자 다형성 빈도는 대사증후군에서는 49.8%, 정상 대조군에서는 51.4%로서 발현 빈도에 있어서 두 군간에 유의한 차이는 없었다. 전체 대상자들의 유전자 다형성 발현 빈도는 50.9%였으며, 대립형질 A의 발현 빈도는 36%이었다. 백인을 대상으로 한 연구에서는 대립형질 A의 발현 빈도가 15%²⁰⁾와 21%²³⁾이었으며, 아프리카계 미국인은 45-53%^{22,23)}, 일본계 미국인은 47%²³⁾이었다고 보고하고 있다. 중국인 165명을 대상으로 한 연구에서는 대립형질 A의 발현 빈도가 24-30%이었으며³⁴⁾, 한국인을 대상으로 한 연구에서는

36-37%이었다.³⁵⁾ Hepatic lipase의 활성도와 인체 지질 대사에 있어서 인종간에 차이가 나는 이유 중의 하나가 LIPC promoter 부위의 유전자 다형성이라고 알려져 있다.²²⁾ 정상 한국인 124명과 관상동맥질환자 137명을 대상으로 한 Hong 등³⁵⁾의 연구와 본 연구 결과에 비추어 볼 때 우리나라 사람의 LIPC promoter 부위의 대립형질 A의 발현 빈도는 백인과 중국인보다는 높은 36% 정도일 것으로 판단된다.

전체 대상자 943명을 유전형 GG, GA, AA형에 따라 대사증후군 구성요소와 체지방량에 있어서 차이가 있는지를 확인한 결과 중성지방 농도가 GA형과 AA형이 각각 133.7 mg/dL, 134.8 mg/dL로서 GG형의 121.6 mg/dL보다 통계적으로 유의하게 높았으며, 이를 성별로 나누어 비교하였을 때는 남자에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었으나 여자에서는 그 차이가 더욱 두드러지게 나타났다. Pihlajamaki 등¹⁶⁾은 인간 hepatic lipase 유전자의 promoter 부위의 G-250A 유전자 다형성이 있을 때 총 중성지방과 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL) 중성지방이 증가한다고 보고하였으며, Tahvanainen 등²⁴⁾은 LDL, intermediate density lipoprotein, HDL의 중성지방 농도가 G-250A 유전자 다형성이 있을 때 증가한다고 하였다. Hepatic lipase는 주로 LDL의 중성지방을 가수분해한다고 알려져 있다.³⁶⁾ 이 연구에서는 총 중성지방만 측정하였으므로 어느 지단백 유래의 중성지방이 증가하였는지는 알 수 없으나 선행 연구와는 일치되는 결과를 얻었다.^{16,24)} Zambon 등²³⁾은 G-250A 유전자 다형성이 있을 경우 hepatic lipase 활성도가 유의하게 감소하였으며, buoyant LDL 입자와 HDL2 콜레스테롤은 더 증가하였으나 중성지방과 HDL3 콜레스테롤은 유의한 차이가 없었다고 하였다. Carr 등³⁷⁾은 hepatic lipase 활성도는 G-250A 유전자 다형성이 있을 경우 감소하였고, 총콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤이 통계적으로 유의하게 증가하였다고 보고하였다. 그러나 Todorova 등³⁸⁾은 유전자형에 따른 중성지방과 HDL 콜레스테롤의 비교에서 유의한 차이를 발견할 수 없었다고 보고하였다.

기존의 연구에서는 LIPC 유전자의 다형성이 있을 경우 hepatic lipase 활성도가 감소하고, HDL 콜레스테롤치와 buoyant LDL 입자 수가 증가하며, 중성지방혈증이 나타나며, 인슐린 저항성이 증가한다고 하였으며,²³⁾ 결과적

으로 hepatic lipase 활성도의 저하와 인슐린 저항성의 증가로 인하여 고중성지방혈증이 나타난다고 하였다.¹⁶⁾ 이 연구에서는 hepatic lipase의 활성도를 측정하지 않았으므로 그 관계를 명확히 알 수가 없었으며, HDL 콜레스테롤치에 있어서 유의한 차이를 발견할 수 없었던 것은 HDL 아형(subtype)에 따른 콜레스테롤치를 측정하지 않았기 때문으로 생각된다. 앞으로 지단백에 따른 중성지방 농도와 HDL 아형에 따른 콜레스테롤치 측정 등의 추가 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

남성과 달리 여성에서 유전자형에 따라 중성지방 농도가 유의한 차이가 난 이유 중의 하나는 hepatic lipase의 활성도 때문으로 생각된다. Hepatic lipase 활성도는 유전자형에 무관하게 남성이 여성보다 약 30% 정도 더 높은 것으로 알려져 있다.³⁹⁾ 에스트로겐이 HDL 콜레스테롤과 양의 상관관계가 있으며, 폐경 전의 여성들은 폐경 후의 여성들에 비하여 hepatic lipase 활성도가 더 낮은 것으로 알려져 있다.⁴⁰⁾ 이 연구에서 여성에서 중성지방의 농도가 유전자형에 따라 차이가 났지만 hepatic lipase 활성도에 대한 측정을 하지 않았으므로 이에 대한 고려가 있어야 할 것으로 생각된다.

복부지방이 hepatic lipase 활성도를 증가시킨다고 알려져 있으며, G-250G 유전형 보다 -250A 대립형질에서 hepatic lipase 활성도가 최대 58%까지 감소한다고 알려져 있으므로,³⁷⁾ G-250A 유전자 다형성에 따른 체지방량과 내장지방량을 비교하였으나 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 지금까지는 LIPC promoter 부위의 C-514T의 유전자 다형성이 있을 때 복부지방량이 증가할수록 hepatic lipase 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있었다.²³⁾

인슐린은 hepatic lipase의 활성도에 따라 조절되며, 고인슐린 혈증과 hepatic lipase 활성도의 증가가 서로 연관되어 있는 것으로 알려져 있으므로,¹⁶⁾ G-250A 유전자 다형성에 따른 공복 혈당 농도를 비교하였으나 본 연구에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었다. Jansen 등²¹⁾은 C-514T 유전자 다형성이 없는 사람에서 혈장 내 인슐린 농도와 hepatic lipase 활성도가 양의 상관관계가 있었으며, 유전자 다형성이 있는 사람에서는 아무런 관계를 발견할 수 없었다고 하였다. Pihlajamaki 등¹⁶⁾도 G-250A 유전자 다형성이 없는 사람에서 공복 인슐린 농도가 hepatic lipase 활성도와 유의한 양의 상관관계가 있었으

나 유전자 다형성이 없는 사람에서는 유의한 관계가 없었다고 하였다. 따라서 LIPC promoter 부위의 유전자 다형성은 인슐린이 hepatic lipase 활성도를 촉진시킬 수 있는 능력을 없애는 것으로 추정되고 있다. 그러나 본 연구에서는 공복 혈당만 측정하였으므로 hepatic lipase의 활성도와 인슐린 간의 관련성을 확인할 수는 없었다.

Hepatic lipase promoter 부위의 유전자 다형성(G-250A, C-514T, T-710C, A-763G) 중 어느 것이 기능적으로 더 중요한지는 아직 명확하지 않다. 이 유전자들의 다형성은 서로 연관되어 있으므로^{20,22)}, 각 개인에서의 변이의 중요성에 대해서는 확인할 수가 없었다. C-514T 유전자 다형성이 있는 경우 hepatic lipase 활성도가 35-45% 감소되어 있었으며, G-250A 유전자 다형성이 있는 경우 24-29%의 hepatic lipase 활성도 감소가 있었다.³⁾

본 연구의 제한점으로는 첫째, 조사 대상자들에 대해서 hepatic lipase의 활성도를 측정하지 않았다는 점이다. hepatic lipase 유전자 다형성이 효소의 활성도에 영향을 주는데도 불구하고 이를 측정하지 않음으로써 중성지방 농도의 차이가 hepatic lipase 활성도 저하에 의한 것이라고 결론내리기에는 부족한 점이 있다. 둘째로는 중성지방을 포함한 대사증후군에 영향을 줄 수 있는 지질강화요법 여부, 음주, 흡연, 운동, 식이 등에 대해서 고려를 하지 않았다는 점이다. 이러한 요인들을 모두 제어 또는 보정한 후에 연구를 시행했어야 실제 유전자 다형성의 영향을 정확히 평가할 수 있었을 것으로 생각된다. 마지막으로 조사대상자들에 대한 모든 검사는 어느 시점에 1회 실시한 결과이므로 우연에 의한 가능성을 완전히 배제할 수는 없다. 그러나 조사대상자가 943명으로서 기존의 한국인에 대한 연구보다 훨씬 많은 대상자이므로 한국인에서의 G-250A 유전자 다형성 발현 빈도에 대해서는 중요한 참고 자료가 될 것으로 생각된다.

Hepatic lipase 유전자 다형성에 의해 hepatic lipase 활성도의 저하가 나타나서 지질이상과 당뇨 질환을 초래할 수 있다는데 착안하여 LIPC promoter 부위의 유전자 다형성과 대사증후군간의 관련성을 확인하고자 한 연구결과 G-250A 유전자 다형성이 있는 경우 중성지방이 증가되어 있었으며, 특히 여성에서 더욱 현저히 증가되어 있었다.

결론

인간 hepatic lipase 유전자의 다형성은 hepatic lipase 활성도를 저하시켜 지질대사 이상과 당뇨 질환 등을 일으키는 것으로 알려져 있으므로 한국인에 있어서 LIPC 유전자의 G-250A 단일염기 다형성과 대사증후군과의 관련성을 확인하기 위하여 고신대학교 복음병원 산업보건관 리센타에서 2004년 12월에서 2006년 2월 사이에 건강진단을 받았던 수진자 가운데 943명(대사증후군 281명, 정상 대조군 662명)을 대상으로 신장, 체중, 체질량지수, 체지방과 내장 지방량, 허리둘레와 수축기와 이완기 혈압, 공복 혈당, 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤과 중성지방 수치를 측정하였으며, single base extension에 의한 genotyping으로 대상자들의 G-250A 유전자 다형성을 확인하였다.

G-250A의 유전자 다형성 빈도는 대사증후군에서는 49.8%, 정상 대조군에서는 51.4% 였으며, 전체 대상자들의 유전자 다형성 발현 빈도는 50.9% 이었고, 대립형질 A의 발현 빈도는 36%이었다. 전체 대상자들의 유전형에 따른 비교에서 중성지방 농도가 GA형과 AA형이 각각 133.7 mg/dL, 134.8 mg/dL로서 GG형의 121.6 mg/dL보다 통계적으로 유의하게 높았으며, 이를 성별로 나누어 비교하였을 때는 남자에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었으나 여자에서는 통계적으로 더 유의하게 차이가 있었다.

G-250A 유전자 다형성이 있는 경우 중성지방이 증가되어 있었으며, 특히 여성에서 더욱 현저히 증가되어 있었고 -250A 대립형질의 빈도가 36%로 나타났다. Hepatic lipase 활성도를 측정하는 연구와 병행함으로써 G-250A 유전자 다형성과 혈중 중성지방 농도와의 관련성을 확인할 필요가 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Connelly PW: The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. Clin Chim Acta 286:243-55, 1999
2. Galan X, Robert MQ, Llobera M, Ramirez I: Secretion of hepatic lipase by perfused liver and isolated hepatocytes. Lipids 35:1017-1026, 2000
3. Cohen JC, Vega GL, Grundy SM: Hepatic lipase: new insights from genetic and metabolic studies. Curr Opin Lipidol

- 10:259-267, 1999
4. Kuusi T, Saarinen P, Nikkila EA: Evidence for the role of hepatic endothelial lipase in the metabolism of plasma high density lipoprotein2 in man. *Atherosclerosis* 36:589-593, 1980
 5. Hegele RA, Little JA, Vezina C, Maguire GF, Tu L, Wolever TS, Jenkins DJ, Connelly PW: Hepatic lipase deficiency. Clinical, biochemical, and molecular genetic characteristics. *Arterioscler Thromb* 13:720-728, 1993
 6. Connelly PW, Hegele RA: Hepatic lipase deficiency. *Crit Rev Clin Lab Sci* 35:547-572, 1998
 7. Knudsen P, Antikainen M, Uusi-Oukari M, Ehnholm S, Lahdenpera S, Bensadoun A, Funke H, Wiebusch H, Assmann G, Taskinen MR, Ehnholm C: Heterozygous hepatic lipase deficiency, due to two missense mutations R186H and L334F, in the HL gene. *Atherosclerosis* 128:165-174, 1997
 8. Knudsen P, Antikainen M, Ehnholm S, Uusi-Oukari M, Tenkanen H, Lahdenpera S, Kahri J, Tilly-Kiesi M, Bensadoun A, Taskinen MR, Ehnholm C: A compound heterozygote for hepatic lipase gene mutations Leu334→Phe and Thr383Met: correlation between hepatic lipase activity and phenotypic expression. *J Lipid Res* 37:825-834, 1996
 9. Sparkes RS, Zollman S, Klisak I, Kirchgessner TG, Komaromy MC, Mohandas T, Schotz MC, Lusis AJ: Human genes involved in lipolysis of plasma lipoproteins: mapping of loci for lipoprotein lipase to 8p22 and hepatic lipase to 15q21. *Genomics* 1:138-144, 1987
 10. Cai SJ, Wong DM, Chen SH, Chan L: Structure of the human hepatic triglyceride lipase gene. *Biochemistry* 28:8966-8971, 1989
 11. Datta S, Luo CC, Li WH, VanTuinen P, Ledbetter DH, Brown MA, Chen SH, Liu SW, Chan L: Human hepatic lipase. Cloned cDNA sequence, restriction fragment length polymorphisms, chromosomal localization, and evolutionary relationships with lipoprotein lipase and pancreatic lipase. *J Biol Chem* 263:1107-1110, 1988
 12. Ameis D, Stahnke G, Kobayashi J, McLean J, Lee G, Buscher M, Schotz MC, Will H: Isolation and characterization of the human hepatic lipase gene. *J Biol Chem* 265:6552-6555, 1990
 13. Brand K, Dugi KA, Brunzell JD, Nevin DN, Santamarina-Fojo S: A novel A→G mutation in intron I of the hepatic lipase gene leads to alternative splicing resulting in enzyme deficiency. *J Lipid Res* 37:1213-1223, 1996
 14. Hoffer MJ, Snieder H, Bredie SJ, Demacker PN, Kastelein JJ, Frants RR, Stalenhoef AF: The V73M mutation in the hepatic lipase gene is associated with elevated cholesterol levels in four Dutch pedigrees with familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 151:443-450, 2000
 15. Nie L, Niu S, Vega GL, Clark LT, Tang A, Grundy SM, Cohen JC: Three polymorphisms associated with low hepatic lipase activity are common in African Americans. *J Lipid Res* 39: 1900-1903, 1998
 16. Pihlajamaki J, Karjalainen L, Karhapaa P, Vauhkonen I, Taskinen MR, Deeb SS, Laakso M: G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1789-1795, 2000
 17. Couture P, Otvos JD, Cupples LA, Lahoz C, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM: Association of the C-514T polymorphism in the hepatic lipase gene with variations in lipoprotein subclass profiles: The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:815-822, 2000
 18. Shohet RV, Vega GL, Anwar A, Cigarroa JE, Grundy SM, Cohen JC: Hepatic lipase (LIPC) promoter polymorphism in men with coronary artery disease. Allele frequency and effects on hepatic lipase activity and plasma HDL-C concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 1975-1978, 1999
 19. Jansen H, Chu G, Ehnholm C, Dallongeville J, Nicaud V, Talmud PJ: The T allele of the hepatic lipase promoter variant C-480T is associated with increased fasting lipids and HDL and increased preprandial and postprandial LpCIII:B: European Atherosclerosis Research Study (EARS) II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:303-308, 1999
 20. Guerra R, Wang J, Grundy SM, Cohen JC: A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4532-4537, 1997
 21. Jansen H, Verhoeven AJ, Weeks L, Kastelein JJ, Halley DJ, van den Ouweland A, Jukema JW, Seidell JC, Birkenhager JC: Common C-to-T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2837-2842, 1997
 22. Vega GL, Clark LT, Tang A, Marcovina S, Grundy SM, Cohen JC: Hepatic lipase activity is lower in African American men than inwhite American men: effects of 5' flanking polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC). *J Lipid Res* 39:228-232, 1998
 23. Zambon A, Deeb SS, Hokanson JE, Brown BG, Brunzell JD: Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL2 cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:1723-1729, 1998
 24. Tahvanainen E, Syvanne M, Frick MH, Murtomaki-Repo S, Antikainen M, Kesaniemi YA, Kauma H, Pasternak A, Taskinen MR, Ehnholm C: Association of variation in hepatic lipase activity with promoter variation in the hepatic lipase gene. The LOCAT Study Investigators. *J Clin Invest* 101: 956-960, 1998
 25. Grundy SM: Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 83: 25F-29F, 1999
 26. Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP: Prospective analysis of the insulin resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes* 41: 715-722, 1992
 27. Reaven GM: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988

28. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Camethon MR, Heymsfield SB: The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the third National Health and Nutritional Examination Survey, 1988-1994. *Archives of Internal Medicine*, 163:427-436, 2003
29. 박혜순, 오상우, 강재현, 박용우, 최중명, 김용성, 최응환, 유형준, 김영설. 한국인에서 대사증후군의 유병률 및 관련 요인 - 1998년 국민건강영양조사를 바탕으로 -. *대한비만학회지* 12:1-13, 2003
30. Grundy SM, Hansen B, Smith SC Jr, Cleeman JI, Kahn RA: Clinical management of metabolic syndrome: report of the American heart association/national heart, lung, and blood institute/American diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 109:551-556, 2004
31. Kris-Etherton P, Daniels SR, Eckel RH, Engler M, Howard BV, Krauss RM, Lichtenstein AH, Sacks F, St Jeor S, Stampfer M, Grundy SM, Appel LJ, Byers T, Campos H, Cooney G, Denke MA, Kennedy E, Marckmaa P, Pearson TA, Riccardi G, Rudel LL, Rudrum M, Stein DT, Tracy RP, Ursin V, Vogel RA, Zock PL, Bazzarre TL, Clark J: AHA scientific statement: summary of the scientific conference on dietary fatty acids and cardiovascular health. Conference summary from the nutrition committee of the American heart association. *J Nutr* 131:1322-1326, 2001
32. Bouchard C: Genetics and the metabolic syndrome. *Int J Obes* 19(Suppl 1):S52-S59, 1995
33. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS: 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res* 19(14):4008, 1991
34. Su Z, Zhang S, Nebert DW, Zhang L, Huang D, Hou Y, Liao L, Xiao C: A novel allele in the promoter of the hepatic lipase is associated with increased concentration of HDL-C and decreased promoter activity. *J Lipid Res* 43:1595-1601, 2002
35. Hong SH, Song J, Kim JQ: Genetic variations of the hepatic lipase gene in Korean patients with coronary artery disease. *Clin Biochem* 33:291-296, 2000
36. Santamarina-Fojo S, Haudenschild C, Amar M: The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 9:211-219, 1998
37. Carr MC, Hokanson JE, Deeb SS, Purnell JQ, Mitchell ES, Brunzell JD: A hepatic lipase gene promoter polymorphism attenuates the increase in hepatic lipase activity with increasing intra-abdominal fat in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:2701-2707, 1999
38. Todorova B, Kubaszda A, Pihlajamaki J, Lindstrom J, Eriksson J, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukkaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M: The G-250A promoter polymorphism of the hepatic lipase gene predicts the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes mellitus: The Finnish diabetes prevention study. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2019-2023, 2004
39. Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, Deeb SS, Barrett PH, Purnell JQ, Brunzell JD: The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2831-2837, 2001
40. Jones DR, Schmidt RJ, Pickard RT, Foxworthy PS, Eacho PI: Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. *J Lipid Res* 43:383-391, 2002