

Effect of Fibrinogen Genotype and Other Characteristics on Plasma Fibrinogen Levels

Mi-Hwa Lee[†]

Department of Clinical Laboratory, Chinju Health College

This study was carried out to investigate the effect of fibrinogen genotype and other characteristics on the plasma fibrinogen levels. Many studies have confirmed that high plasma fibrinogen levels are associated with the increased risk of ischaemic heart disease, stroke and arterial disease. And fibrinogen levels are related with age, obesity, cholesterol and alcohol consumption, genotypes. For this study the blood samples were collected from 93 healthy Koreans (66 males and 27 females). The blood samples were individually analyzed by smoking status, cholesterol levels, genotype, age, and gender. The plasma fibrinogen was assayed by clotting method (modified Clauss assay) and cholesterol was assayed by cholesterol oxidase method. Subjects were classified by current smokers, ex-smokers (<6 month), or nonsmokers. The β -fibrinogen genotype was detected by PCR of relevant region and digestion with *HaeIII*, with the H_1H_1 allele allowing cleavage by this restriction enzyme and H_2H_2 allele being refractory. In conclusion, the study shows that the factor of the increasement in the fibrinogen level was closely related with the cholesterol level, smoking status and genotype (H_1H_2); but there was no significant difference by gender. Especially, among the people over 50 years of age, fibrinogen level was higher with the increasement of cholesterol level (<200 mg/dl), current smoker, and genotype H_1H_2 .

Key Words: Plasma fibrinogen levels, Fibrinogen gene polymorphism, Smoking status, Cholesterol levels

서 론

혈장섬유소원은 간질 세포에서 합성되어 혈중으로 방출되는데 혈액응고 인자로서 혈소판 응집과 혈류의 결정인자이다. 또한 감염이나 염증, 조직손상시 혈중 농도가 증가하는 급성상반응 단백질로 알려져 있다¹⁻³). 그 외 혈장섬유소원을 상승시키는 요인으로는 고콜레스테롤 혈증이나 흡연, 연령 증가와 지단백증, 고혈압이나 혈당상승 등이 있다⁴). 혈장섬유소원의 상승은 혈액의 점도를 증가시켜 뇌졸중, 허혈성 심질환, 동맥경화증, 관상동맥성 질환, 혈전증을 유발하는 것으로 보고되고 있다^{3,5,17,22}). 특히 콜레스테롤은 혈장섬유소원 농도에 비례하여 상승하므로 혈장섬유소원 관련 질병을 보다 더 심화시키는 것으로 알려져 있다⁶). 또한 유전학적 연구에 의해 섬유소원 유전자가 밝혀졌으며 유전자형에 따라서 농도에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다¹⁰). Chung 등⁴)은 molecular cloning 기술을 이용하여 섬유소원과 관련된 cDNA를

분리해 냈으며 섬유소원의 α , β , γ chain이 서로 조합하여 개인에 따라 서로 다른 유전자형을 조절한다고 보고하였다^{2,11}). 현재까지 밝혀진 섬유소원 유전자에는 11가지의 제한효소 절단길이 다형성 (restriction fragment length polymorphism)이 있는 것으로 보고되었는데, α 섬유소원과 β 섬유소원의 coding region에는 각각 *RsaI*과 *MnII* 다형성이 위치해 있으며, 5'-flanking region과 인접한 sequence region에는 α 섬유소원의 *TaqI*과 β 섬유소원의 *AluI*, *AvaII*, *BclIA*, *BclIB*, *BglI*, *HincII*, *HindIII*, *HaeIII* 다형성이 보고되었다^{12,18}). 그러나 γ 섬유소원과 관련된 연구는 아직 미미하다.

섬유소원 농도와 관련된 유전자형에 관한 연구로서 Thomas 등¹⁹)은 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR) 후 *HaeIII*에 의하여 절단된 β 섬유소원의 5'-flanking region에서의 A/A⁴⁵⁵ 유전자형 (H_2H_2)이 가장 섬유소원 농도를 상승시키는 것으로 보고하였고, Humphries 등¹³)은 β 섬유소원의 *BclI* 다형성의 2,2 유전자형 (B_2B_2)이 섬유소원 농도를 유의하게 상승시키고, *AvaII*와 α 섬유소원의 *TaqI* 다형성에서는 관련성 있는 유전자형이 없었다고 발표하였다.

그 후 섬유소원 염기배열에서 전사제어배열의 위치를 알아내기 위해 섬유소원의 다형성에 관한 연구들이 진행되었는데 보고들마다 각기 다른 결과를 보이고 있다^{1,5,10}).

*논문 접수: 2002년 11월 30일

수정제 접수: 2002년 12월 13일

[†]별책 요청 저자: 이미화, 경남 진주시 상봉서동 1142, 진주보건대학 임상병리과

Tel: 055-740-1850, Fax: 055-741-8547, e-mail: mhlee@cch.ac.kr

Table 1. Primer sequences and PCR product size

RFLP**	Primer sequences (5'→3')	Product size (bp)***
<i>Hae</i> III	AAGAATTTGGGAATGCAATCTCTGCTACCT CTCCTCATTGTCGTTGACACCTTGGGAC	1,300

*PCR: polymerase chain reaction, **RFLP: restriction fragment length polymorphism, ***bp: base pairs

본 연구에서는 건강인을 대상으로 하여 혈장섬유소원 농도 상승과 관련된 요인으로 보고되고 있는 성별, 연령, 콜레스테롤 농도와 흡연, 유전자형을 조사하고 그 상관성을 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1998년 12월부터 1999년 1월까지 Y대학병원 건강검진센터에서 검진한 93명을 대상으로 하였다. 연구 대상자는 남자 66명 (71%), 여자 27명 (29%)이었으며, 연령분포는 22세부터 68세 까지였다. 채혈한 각 검체는 3.8% sodium citrate 채혈관에 담아 잘 혼합한 후, 혈장을 원심분리하여 섬유소원과 콜레스테롤을 측정하였으며, 남은 혈액은 DNA를 추출하기 위하여 -70℃에서 냉동 보관하였다.

2. 방 법

1) 혈장섬유소원 농도 측정

혈장섬유소원 농도 측정은 Diagnostica Stago사 (France)의 STA를 사용하여 측정하였다. 측정시약은 Fibrinogen Kit (Stago, France)를 사용하였다.

2) 콜레스테롤 농도 측정

Acro (Italy) 자동화학 분석기를 이용하여 cholesterol oxidase (stanbio)법으로 분석하였다.

3) DNA 추출

5 ml의 혈액에 23 ml의 solution I*을 넣어 혼합한 후 3,000 rpm에서 10분간 원침하여 상층액을 제거하였다. 시험관 바닥에 있는 leucocytic nuclear pellet에 1.13 ml의 solution II**를 첨가하고 pellet을 용해시켰다. 0.25 ml의 solution III***를 첨가하고 혼합한 후 37℃에서 12시간 정도 반응시켰다. 반응 후 25 ml의 phenol을 넣고 5분간 혼합한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 다음 상층액을 새로운 시험관에 옮겨 넣었다. Phenol과 chloroform 1:1 혼합액 2.5 ml를 넣고 5분간 혼합한 후, 다시 3,000 rpm에서 15분간 원침한 다음 새 시험관으로

옮겼다. 옮겨진 상층액을 3 M의 NaAc 0.25 ml와 5.5 ml의 ethanol을 넣어 전도혼화한 뒤 실온에 방치했다. DNA pellet이 떠오르면 1.5 ml eppendorf tube로 옮기고 70% ethanol 0.5 ml를 넣어 3,000 rpm에서 10분간 원침했다. 상층액을 제거한 후 진공 건조기로 건조시켰다. TE buffer 0.5 ml를 넣어 DNA pellet을 용해시켰다. 이를 4℃에 보관하여 사용하였다.

4) 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction: PCR)

PCR을 위해 추출한 genomic DNA를 합성한 oligonucleotide primer를 이용하여 증폭하였다 (Table 1).

DNA 증폭은 PCR용 kit (한국생공, Bioneer)를 사용하여 증폭하였다. Premix kit에 genomic DNA 5 µl (400 ng), sense primer 1 µl (20 pmol/µl), antisense primer 1 µl (20 pmol/µl) 등을 섞은 후 증류수로 총량이 50 µl가 되도록 하였다.

Premix kit의 bromophenol blue가 완전히 혼합될 때까지 vortex로 잘 녹여준 후 microcentrifuge를 사용하여 침전시켰다. Mineral oil 30 µl를 덮어서 반응액이 증발되지 않도록 하였다. PCR 반응은 thermal cycler (Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT, USA)를 사용하여 94℃에서 3분간 pre-denaturation시킨 후, 94℃에서 1분간 denaturation, 60℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 2분간 extension시키는 과정을 35 cycle 시행한 후, 72℃에서 10분간 post-extension시켰다. 이 과정에서 얻은 PCR 반응액 10 µl를 1.5% agarose gel에 주입시켜 0.5×TAE 완충액 (0.04% Tris-acetate, 0.001 M EDTA, p 8.0)에서 50 volt의 전압으로 1시간 전기영동한 후, gel을 EtBr (ethidium bromide) 용액에 담그어 염색한 다음, UV transilluminator에서 PCR 반응 산물의 크기를 확인하였다. Molecular weight marker로는 1 kb ladder marker (BMX marker; Boehringer Mannheim, Germany)를 사용하였다. PCR 반응은 94℃에서 5분간 pre-denaturation시킨 후, 94℃에서 1분간 denaturation, 60℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 1분 30초 동안 extension시키는 과정을 35 cycle 시행한 후, 72℃에서 10분간 post extension시켰다. PCR 반응물의 확인은 전술한 조건과 동일하였고, molecular weight marker로는 1 kb ladder marker를 사용하였다.

5) 중합효소 연쇄반응 산물의 정제

PCR 반응액을 제한효소로 절단하기 전에 정제하였다. 상층부의 oil을 제거하고 동량의 chloroform을 넣어 잘 혼합한 후 15,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상층액을 새 시험관에 옮기고, 0.1배의 3 M NaAc (pH 5.2)와 2.5배의 95% ethanol을

*0.32M sucrose, 10 mM Tris-Cl (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 1% Triton <100

**0.075 M NaCl, 0.024 M EDTA (pH 8.0)

***5% SDS (sodium dodecyl sulfate)

넣어 혼합한 후, 15분간 -70℃에서 냉각시킨 다음 15,000 rpm (4℃)에서 15분간 원심분리하였다.

침전물을 70% ethanol을 넣어 5분간 원심분리하여 세척하고 진공 건조기로 건조시킨 후, 20 µl의 TE buffer (pH 8.0)에 녹였다. 이 중 4 µl를 0.8% Agarose gel로 전기영동하여 PCR 증폭 산물을 확인하였다.

6) 제한효소 처리

증폭된 DNA 10 µl에 10배 희석 buffer 2 µl, 제한효소 0.2 µl (2 unit/µl) 등을 넣은 후 증류수 7.8 ml를 넣어 총량 20 ml가 되게 한 후, 37℃에서 overnight시켰다. 제한효소로는 *HaeIII* (Promega)를 사용하였다. 제한효소 처리 후 2% agarose gel로 전기영동 후 EtBr로 염색하여 UV transilluminator에서 band를 확인하였다 (Fig. 1).

7) 유전자형의 분류

각 유전자 다형성에서 유전자형의 구분은 절단된 575 bp와 383 bp band를 H₁H₁ 유전자형으로 하고, 절단되지 않는 958 bp band를 H₂H₂ 유전자형으로 하였다 (Table 2).

3. 분석방법

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows를 이용하였다. 혈장섬유소원 농도, 콜레스테롤 농도, 섬유소원 유전자 다형성, 흡연여부, 성별, 연령 등을 조사한 다음, 각 변수들끼리 t검정과 일원변량분석 (one-way ANOVA)을 통하여 그 유의성을 분석하였으며 다중회귀분석 (multiple regression analysis)를 이용하여 혈장섬유소원에 대한 영향요인을 조사하였다. 분석의 유의 수준은 $\alpha=0.05$ 이다.

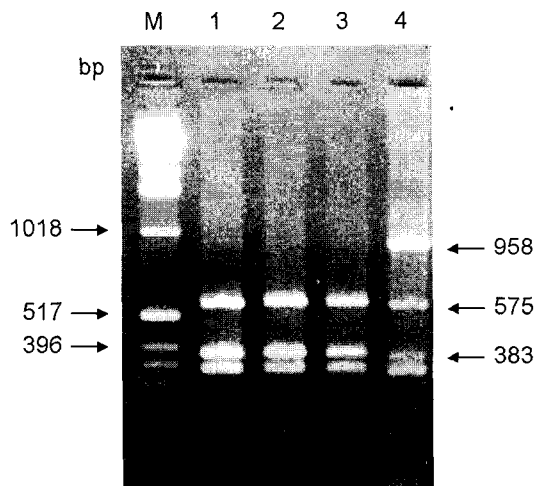


Fig. 1. Digested PCR products with *HaeIII* for polymorphism at the fibrinogen β gene locus.

Lane 1 to 3: H₁H₁ genotype (575 bp and 383 bp fragments)
 Lane 4 : H₂H₂ genotype (958 bp, 575 bp, 383 bp fragments)
 Lane M : DNA molecular weight marker (1 kb ladder)

결 과

본 연구의 대상은 남자 66명 (71.0%), 여자 27명 (29.0%)이었고 연령은 22세부터 68세 까지였다. 연령을 구분한 바 39세 이하는 39명 (41.9%), 40~49세는 22명 (23.7%), 50세 이상은 32명 (34.4%)이었다. 흡연여부에 따라 분류하였을 때 흡연을 하지 않는 경우는 28명 (30.1%), 금연 후 6개월 경과한 경우 18명 (19.4%), 흡연을 하는 경우는 47명 (50.5%)으로 구성되었으며 콜레스테롤 농도는 평균 189.45 mg/dl로 이중 200 mg/dl 이하인 경우는 53명 (57.0%), 200 mg/dl 이상인 경우는 40명 (43.0%)이었다. 섬유소원의 평균 농도는 295.51 mg/dl였다.

성별, 연령, 흡연여부, 콜레스테롤 농도에 따른 혈장섬유소원 농도를 비교해 보면, 성별과 연령에 따라서는 그 차이가 없었으나 흡연여부와 콜레스테롤 농도에 따라서는 유의한 차이가 나타났다. 흡연을 하지 않는 경우 섬유소원 농도는

Table 2. Allele designation and digested fragment sizes

Polymorphism	<i>HaeIII</i>	
	H ₁ H ₁	H ₂ H ₂
Allele designation		
Digested fragment size (bp)	575 383	958

Table 3. Comparison of fibrinogen levels by gender, age, and smoking status

Characteristics	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value
Gender			
Male	66 (71.0)	301.27±52.31	.284
Female	27 (29.0)	288.75±46.75	
Age (yrs.)			
≤39	39 (41.9)	286.14±41.15	.138
40~49	22 (23.7)	311.95±52.46	
≥50	32 (34.4)	301.80±58.29	
Smoking status			
Non-smoker	28 (30.1)	267.60±32.56 ^a	.000
Ex-smoker	18 (19.4)	279.26±47.42 ^a	
Current smoker	47 (50.5)	322.56±48.97 ^b	
Cholesterol (mg/dl)			
<200	53 (57.0)	276.86±43.17	.000
≥200	40 (43.0)	325.15±47.41	

a, b: Tukey's Post Hoc Multiple Comparison (a<b, $\alpha=0.05$)

평균 267.60 mg/dl이었고 예전에는 흡연을 하다가 지금은 하지 않는 경우는 279.26 mg/dl로, 두 군간에는 유의한 차이가 없었으나 흡연을 하는 경우 322.56 mg/dl로 유의하게 높은 것으로 나타났다. 또한 콜레스테롤을 농도별로 분류하였을 때는 200 mg/dl 이하에서는 평균 276.86 mg/dl이었으나 200 mg/dl 이상에서는 325.15 mg/dl로 콜레스테롤 농도 상승시 혈장섬유소원 농도가 높게 나타났다 (Table 3).

연령별로 분류하여 흡연여부에 따른 섬유소원 농도의 차이를 살펴보면, 39세 이하 연령군과 40~49세 연령군에서 흡연을 하지 않는 군과 예전에는 흡연을 하였으나 현재는 하지 않는 군은 서로간에 유의한 차이가 없었으나, 현재 흡연을 하고 있는 군은 흡연하지 않는 두 군과 비교하였을 때 섬유소원 농도가 유의하게 높은 것으로 나타났다. 그러나 50세 이상

연령군에서는 현재 흡연을 하거나 예전에 흡연을 했던 군은 흡연을 하지 않는 군과 비교하였을 때 유의하게 높게 나타났다 (Table 4).

연령군에 따른 콜레스테롤 농도를 혈장섬유소원 농도와 비교한 결과 각 연령군 모두에서 콜레스테롤 농도가 200 mg/dl 이상인 군의 경우, 200 mg/dl 이하인 군 보다 섬유소원 농도가 유의하게 높은 것으로 나타났다. 특히 40~49세 연령군에서 가장 차이가 많이 나타났으며 다음으로 39세 이하, 50세 이상 연령군의 순으로 나타났다 (Table 5).

연령별 유전자형에 따른 섬유소원 농도의 차이를 살펴보면, 39세 이하 연령군과 40~49세 연령군에서는 유전자형에 따라서 차이가 없는 것으로 나타났으며 50세 이상인 연령군에서는 H₁H₁ 유전자형을 갖은 사람은 평균 273.04 mg/dl이었으나

Table 4. Comparison of fibrinogen levels by age and smoking status

Age	Smoking status	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value
≤39 (yrs.)	Non-smoker	11 (11.8)	261.00±21.33 ^a	.000
	Ex-smoker	7 (7.5)	257.60±27.42 ^a	
	Current smoker	21 (22.6)	308.81±39.90 ^b	
40~49 (yrs.)	Non-smoker	7 (7.5)	274.41±36.53 ^a	.001
	Ex-smoker	5 (5.4)	281.62±37.21 ^a	
	Current smoker	10 (10.8)	353.38±37.44 ^b	
≥50 (yrs.)	Non-smoker	28 (30.1)	270.08±41.10	.089
	Ex-smoker	18 (19.4)	302.55±65.74	
	Current smoker	47 (50.5)	321.35±59.08	

a, b: Tukey's Post Hoc Multiple Comparison (a<b, α=.05)

Table 5. Comparison of fibrinogen levels by age and cholesterol

Age	Cholesterol (mg/dl)	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value
≤39 (yrs.)	<200	24 (25.8)	274.96±34.05	.030
	≥200	15 (16.1)	304.01±46.21	
40~49 (yrs.)	<200	12 (12.9)	273.27±31.02	.000
	≥200	10 (10.8)	358.36±29.26	
≥50 (yrs.)	<200	17 (18.3)	282.09±60.70	.039
	≥200	15 (16.1)	423.15±48.04	

Table 6. Comparison of fibrinogen levels by genotypes. and age

Age	Genotype	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value
≤39 (yrs.)	H ₁ H ₁	27 (29.0)	290.98±43.23	.276
	H ₁ H ₂	12 (12.9)	275.24±35.30	
40~49 (yrs.)	H ₁ H ₁	14 (15.1)	301.37±48.65	.219
	H ₁ H ₂	8 (8.6)	330.45±56.95	
≥50 (yrs.)	H ₁ H ₁	17 (18.3)	273.04±45.93	.002
	H ₁ H ₂	15 (16.1)	334.41±54.50	

Table 7. Comparison of fibrinogen levels by genotypes, Smoking status and age

Age	Smoking status	Genotype	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value	
≤39 (yrs.)	Non-smoker	H ₁ H ₁	6 (15.4)	249.12±20.59	.034	
		H ₁ H ₂	5 (12.8)	275.26±11.91		
	Ex-smoker	H ₁ H ₁	4 (10.3)	269.88±22.01	.193	
		H ₁ H ₂	3 (7.7)	241.23±28.75		
	Smoker	H ₁ H ₁	17 (43.6)	310.72±40.38	.664	
		H ₁ H ₂	4 (10.3)	300.73±42.50		
	40~49 (yrs.)	Non-smoker	H ₁ H ₁	5 (22.7)	270.42±42.22	.688
			H ₁ H ₂	2 (9.1)	284.40±24.47	
		Ex-smoker	H ₁ H ₁	4 (18.2)	292.75±31.93	.217
H ₁ H ₂			1 (4.5)	237.10± -		
Smoker		H ₁ H ₁	5 (22.7)	339.22±45.65	.254	
		H ₁ H ₂	5 (22.7)	367.54±23.84		
≥50 (yrs.)		Non-smoker	H ₁ H ₁	7 (21.9)	270.21±30.97	.988
			H ₁ H ₂	3 (9.4)	269.77±68.71	
		Ex-smoker	H ₁ H ₁	3 (9.4)	256.77±49.93	.078
	H ₁ H ₂		3 (9.4)	348.33±45.00		
	Smoker	H ₁ H ₁	7 (21.9)	282.83±59.85	.015	
		H ₁ H ₂	9 (28.1)	351.31±39.36		

H₁H₂ 유전자형을 가진 사람은 평균 334.41 mg/dl로 나타나 H₁H₂ 유전자형을 갖은 사람의 섬유소원 농도가 더욱 높은 것으로 나타났다 (Table 6).

연령별로 흡연여부의 유전자형에 따른 혈장섬유소원 농도의 차이를 살펴보면, 50세 이상인 연령군에서는 흡연자의 경우 H₁H₁ 유전자형을 갖은 사람의 섬유소원 농도는 평균 282.83 mg/dl이었으나 H₁H₂ 유전자형을 갖은 사람은 평균 351.31 mg/dl로 나타나 H₁H₂ 유전자형의 혈장섬유소원 농도가 유의하게 높은 것으로 나타났다 (Table 7).

연령별로 콜레스테롤 농도와 유전자형에 따른 혈장섬유소원의 농도를 비교하였을 때 50세 이상 연령군에서 콜레스테

롤 농도가 200 mg/dl 이상인 군의 H₁H₁ 유전자형의 섬유소원 농도는 평균 278.17 mg/dl이었으나 H₁H₂ 유전자형은 평균 354.80 mg/dl로 H₁H₂ 유전자형을 갖은 사람의 섬유소원 농도가 유의하게 높게 나타나, 연령이 증가할수록 H₁H₂ 유전자형의 섬유소원 농도 상승에 따라 콜레스테롤 농도도 상승하는 경향을 나타내었다 (Table 8).

혈장섬유소원 농도를 상승시키는 영향력 있는 변수를 조사하기 위해 성별, 연령, 콜레스테롤 농도, 흡연, 유전자형 등을 단계적인 방법으로 분석하였다.

그 결과 섬유소원 농도에 대해서는 콜레스테롤이 가장 유의한 영향을 주는 것으로 나타났으며 ($\beta=.408$), 다음으로 흡

Table 8. Comparison of fibrinogen levels by genotypes, cholesterol and age

Age	Cholesterol (mg/dl)	Genotype	No. of person (%)	Mean±SD (mg/dl)	p-value
≤39 (yrs.)	<200	H ₁ H ₁	16 (41.0)	279.52±35.45	.365
		H ₁ H ₂	8 (20.5)	265.85±31.22	
	≥200	H ₁ H ₁	11 (28.2)	307.65±49.58	.632
		H ₁ H ₂	4 (10.3)	294.03±39.86	
40~49 (yrs.)	<200	H ₁ H ₁	9 (40.9)	274.81±32.42	.781
		H ₁ H ₂	3 (13.6)	268.63±32.33	
	≥200	H ₁ H ₁	5 (22.7)	349.18±33.88	.351
		H ₁ H ₂	5 (22.7)	367.54±23.84	
≥50 (yrs.)	<200	H ₁ H ₁	11 (34.4)	270.24±53.43	.290
		H ₁ H ₂	6 (18.8)	303.82±72.13	
	≥200	H ₁ H ₁	6 (18.8)	278.17±31.48	.000
		H ₁ H ₂	9 (28.1)	354.80±27.85	

Table 9. Fibrinogen levels by Stepwise Method

	b	S. E	β	t	p-value
(Constant)	140.460	25.490		5.510	.000
Cholestero	.670	.143	.408	4.697	.000
Smoking Status	19.387	4.969	.335	3.902	.000
Genotype (H ₁ H ₂)	18.253	8.419	.175	2.168	.033

(R-square=.433, F=22.631, P=.000)

b: Unstandardized Coefficients, β: Standardized Coefficients
S. E: Standard Error

연 (β=.335), 유전자형 (β=.175)의 순으로 나타났다. 따라서 콜레스테롤 농도, 흡연, H₁H₂ 유전자형에 따라 혈장섬유소원 농도가 상승하는 것으로 나타났다 (Table 9).

고 찰

여러 연구에서 혈장섬유소원 상승에 따라 심장질환 발생률이 높은 것으로 나타났으며 혈압, 비만, 흡연, 당뇨병과 관련해서는 그 영향력이 큰 것으로 나타났다^{9,14}. 이외에 콜레스테롤, 연령 증가, 폐경 및 body mass index 등과 사회적 지위, 정신적 불안과도 관련이 있다고 한다¹⁵. 혈장섬유소원 농도

상승요인을 밝히기 위한 유전학적 연구에서도 관련 유전자형을 조사하고 있으나 각기 다른 결과를 보이고 있으며^{16,10} 우리나라에서는 이에 대한 조사연구가 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 섬유소원 농도 상승과 관련성이 높다고 하는 성별, 연령, 콜레스테롤 농도, 흡연 및 유전자형을 조사하고 비교 분석하였다.

흡연군은 흡연자와 비흡연자 그리고 금연 후 6개월이 지난 사람 등의 3군으로 나누어 비교하였고 혈장섬유소 농도와 밀접한 상관성이 있다고 하는 콜레스테롤 농도를 관련시켜 보았다. 심혈관계 질환이 없는 정상군에서 추출한 실험 대상군 이므로 콜레스테롤은 참조치 범위 내의 결과를 얻을 수 있었으나 이를 농도별로 두 군으로 나누어 섬유소원 농도와 비교하였다. 분석 결과 성별에 따라서는 유의한 차이가 없었고 흡연에 따른 비교에서는 흡연을 한 적이 없거나 금연 후 6개월 이상이 지난 경우에는 두 군 사이에 유의한 차이가 없었으나 지속적인 흡연을 하는 경우에는 혈장섬유소원 농도가 322.56 mg/dl로 흡연하지 않는 두 군보다 유의하게 높게 나타나 여러 연구와 유사한 결과를 나타냈다^{16,21}. 그러나 금연 기간과 흡연량에 대한 기준에 연구마다 차이가 있으므로 이에 대한 명확한 분류가 필요하다고 사료된다. 콜레스테롤과의 상관성 비교에서도 콜레스테롤의 측정 결과가 정상범위에

들었다 해도 콜레스테롤이 높은 경우 섬유소원 농도도 상승 경향을 나타내어 이 또한 관련 연구들과 유사하였는데 콜레스테롤과 섬유소원은 정상시에는 각기 다른 생리적 역할을 하며 별개의 성분으로 존재하다 심혈관 발생위험 요소로서 작용 시 서로 상승작용을 하여 질병을 심화시키는 것을 확인할 수 있었다. 유전학적 연구 사례에서는 α , β , γ fibrinogen 중 β fibrinogen이 혈장섬유소원 상승에 가장 영향을 미친다고 하였으며⁶⁾, 그 동안 보고된 연구들도 주로 β fibrinogen에 관련된 연구가 주종을 이루고 α 와 γ fibrinogen에 대한 연구는 미미하다¹¹⁾. α fibrinogen에 관하여서도 *TaqI* 제한효소를 사용한 유전자형의 분류에서 섬유소원 농도 상승과 유의한 관련성이 있는 것을 발견할 수 없었다고 하였다²⁰⁾. 이에 따라 본 연구에서도 β fibrinogen을 선택하여 증폭하였고 가장 많이 적용되는 *HaeIII* 제한효소로 절단하여 보았다. 여러 연구에서 H_1H_1 유전자형, H_1H_2 유전자형, H_2H_2 유전자형의 3종류가 나타났다고 하였으나 본 연구에서는 H_1H_1 과 H_1H_2 유전자형만이 나타났다.

유전자형과 관련한 혈장섬유소원 농도는 H_1H_1 유전자형을 갖은 사람보다 H_1H_2 유전자형이 혈장섬유소원 상승에 영향을 미치는 것으로 나타났고 연령이 증가할수록 H_1H_2 유전자형의 섬유소원 농도가 유의하게 높았다. 이는 콜레스테롤 농도에도 영향을 미치는 것으로 H_1H_2 유전자형을 갖은 사람의 섬유소원 농도 증가에 따라 콜레스테롤 농도가 증가하는 것으로 사료된다. 그러나 연구 보고마다 상이한 결과를 나타내고 종족간에서도 차이가 있는 만큼 우리나라 사람을 대상으로 한 연구가 계속되어야 한다고 사료된다. 본 연구에서 조사한 변수 중 혈장섬유소원 농도 상승에 영향력 있는 변수를 찾기 위해 유의 수준에 따라 분석한 결과 콜레스테롤이 가장 관련성이 높으며 흡연, 유전자형 순으로 나타나 생리적 환경요인이 유전자적인 영향보다 더 크게 작용하는 것으로 나타났다.

이러한 연구 결과로서 혈장섬유소원 농도 상승에 영향을 주는 요인들을 통제하고 농도 상승에 관련성 있는 유전자를 가진 경우 심혈관계 질환 발생을 예측할 수 있는 근거 자료가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Berg K and Kierulf P (1989): DNA polymorphisms at fibrinogen loci and plasma fibrinogen concentrations. *Clin Genet*, **36**: 229-235.
- 2) Blomback B, Hessel B and Hogg D (1976): Disulfide bridges in the NH₂-terminal part of human fibrinogen. *Thromb Res*, **8**: 639-658.
- 3) Broadhurst P, Kelleher C, Hughes L, Imeson JD and Raftery EB (1990): Fibrinogen, factor VII clotting activity and coronary artery disease severity. *Atherosclerosis*, **85**: 169-173.
- 4) Chung DW, Que BG, Rixon MW, Mace M Jr and Davie EW (1983): Characterization of complementary deoxyribonucleic acid and genomic deoxyribonucleic acid for the β chain of human fibrinogen. *Biochemistry*, **22**: 3244-3250.
- 5) Connor JM, Fowkes FGR, Wood J, Smith FB, Donnan PT and Lowe GDO (1992): Genetic variation at fibrinogen loci and plasma fibrinogen levels. *J Med Genet*, **29**: 480-482.
- 6) Di Minno G, Silver MJ and Cerbone AM (1986): Increased fibrinogen binding to platelets from patients with familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis*, **6**: 203-211.
- 7) Doolittle RF (1984): Fibrinogen and fibrin. *Ann Rev of Biochem*, **53**: 195-229.
- 8) Fey GH and Fuller GM (1987): Regulation of acute phase gene expression by inflammatory mediators. *Mol Biol Med*, **4**: 323-338.
- 9) Folsom A (1992): Fibrinogen and cardiovascular risk in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. In: fibrinogen, a "new" cardiovascular risk factor, ed. By Ernst E, Koenig W, Lowe GDO, et al. London: Blackwell.
- 10) Green F, Hamsten A, Blomback and Humphries S (1993): The role of β -fibrinogen genotype in determining plasma fibrinogen levels in young survivors of myocardial infarction and healthy controls from Sweden. *Thromb Haemost*, **70**: 915-920.
- 11) Hawiger J, Timmons S, Kloczewiak M, Strong DD and Doolittle RF (1982): γ and α chains of human fibrinogen possess sites reactive with human platelet receptors proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. *Natl Acad Sci USA*, **79**: 2068-2071.
- 12) Humphries SE, Imam AMA and Robbins TP (1984): The identification of a DNA polymorphism of the α fibrinogen gene, and the regional assignment of the human fibrinogen genes to 4q 26-qter. *Hum Genet*, **68**: 148-153.
- 13) Humphries SE, Cook M, Dubowitz M, Stirling Y and Meade TW (1987): Role of genetic variation. *Lancet*, **1**: 1452-1455.
- 14) Kannel WB, D'Agostino RB and Belanger AJ (1987): Fibrinogen, cigarette smoking, and risk of cardiovascular disease: insights from the Framingham Study. *Am Heart J*, **113**: 1006-1010.
- 15) Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP and D'Agostino RB (1987): Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *JAMA*, **258**: 1183-1186.
- 16) Kant JA and Crabtree GR (1983): The rat fibrinogen genes title. *J Biol Chem*, **258**: 4666-4667.

- 17) Meade TW and North WRS (1977): Population based distributions of haemostatic variables. *Br Med Bull*, **33**: 283-288.
- 18) Olexa SA and Budzynski AZ (1980): Evidence for four different polymerization sites involved in human fibrin formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **77**: 1374-1376.
- 19) Thomas AE, Green F, Cruickshank K and Humphries S (1991): The *HaeII* and *HindIII* polymorphisms of the β -fibrinogen gene: racial differences in frequency and association. *Thromb Haemost*, **65**: 890-893.
- 20) Thomas AE, Lamlum H, Humphries SE and Green FR (1994): Linkage disequilibrium across the fibrinogen locus as shown by five genetic polymorphisms, G/A-455 (*HaeIII*), C/T-148 (*HindIII/AluI*), T/G+1689 (*AvaII*), and *BclI* (beta-fibrinogen) and *TaqI* (alpha-fibrinogen), and their detection by PCR. *Hum Mutat*, **3**: 79-81.
- 21) Thomas AE, Green FR, Lamlum H and Humphries SE (1995): The association of combined α and β fibrinogen genotype on plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers. *J Med Genet*, **32**: 585-589.
- 22) Yarnell JWG, Fehily AM and Milbank J (1983): Determinants of plasma lipoproteins and coagulation factors in men from Caerphilly, Southern Wales. *J Epidemiol Community Health*, **37**: 137-140.
-