

Relationship between Endurance Performance and Genetic Polymorphisms of Mitochondrial DNA in Korean Male Elite Athletes

Dai-Ho Jang¹, Byung-Yong Kang², In-Geun Jung³, Sang-Duk Oh³ and Kang-Oh Lee^{1†}

¹Department of Life Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea.

²Research Institute for Life Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea.

³College of Physical Education, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

It has been reported that endurance performance is influenced by various environmental and genetic factors. In view of an important role of human mitochondrial DNA (mtDNA) as a candidate for endurance performance, this study focused on the relationships between VO_{2max} value as a measure of endurance performance or other associated phenotypes and four mtDNA restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) (*Bam* HI, *Hinc* II1, *Hinc* II2 and *Nci* I) in the the NADH dehydrogenase subunit 5 and one (*Kpn* I) in the D-loop region of mtDNA. MtDNA was purified from buffy coat in human peripheral blood, and PCR-RFLP analysis was performed to estimate the allele frequencies of each polymorphism in the mtDNA. There were no significant differences in allele distributions of all polymorphisms studied between male athletes and controls, respectively ($P>0.05$). However, the *Kpn* I polymorphism was significantly associated with diastolic blood pressure level in male athletes, respectively ($P<0.05$). Therefore, our results suggest that this polymorphism might be one of the factors modifying inter-individual difference in cardiovascular risk. Further studies using larger sample size will be required to generalize these results from the study described herein.

Key Words: Endurance performance, Mitochondrial DNA, Polymorphism

서 론

지구력의 지표가 되는 최대 산소 소비량 (maximum oxygen consumption, VO_{2max})은 유전 가능성이 대략 25% 정도인 것으로 알려졌으며 구체적인 유전적 양상을 탐색하기 위한 연구를 통해서 주목할 만한 결과들이 보고되고 있다 (Bouchard et al., 1989; Dionne et al., 1991). 즉 최대 산소 소비량은 개인차의 일부인 나이, 성 및 신체구성에 영향을 받을 뿐만 아니라, 유전적인 차이가 있다고 평가되어지고 있으며, 이러한 유전적 차이를 확인하기 위한 연구가 진행되고 있다. 이러한 추세에 발맞추어 운동 능력에 관련된 특별한 후보 유전자에 대한 연구가 진행되어 왔으며, 최근에는 이와 관련된 몇몇 유전적 요인들이 밝혀진 바 있다 (Murakami et al., 2001). 운동 능력의 척도인 지구력 관련 유전적 소인을 찾기 위한 연구는 주로 구미 선진국에서 활발하게 수행되고 있는데,

genome-wide scanning의 결과에 의하면 인간의 1번, 2번, 4번, 6번, 8번, 10번 및 14번 염색체에 존재하는 유전자 표지 (genetic marker)와 지구력의 척도인 최대 산소 소비량 (VO_{2max}) 값 사이에 유의한 연관을 나타내어 지구력에 영향을 미치는 유전적 소인이 여러 염색체에 흩어져 있음을 보여 주었다 (Bouchard et al., 2000). 관련성 연구에 의한 결과를 보면 사립체 DNA의 NADH dehydrogenase 유전자 (Dionne et al., 1991), 상염색체에 존재하는 Na⁺-K⁺-ATPase α2 유전자 (Rankinen et al., 2000a), muscle-specific creatin kinase 유전자 (Rivera et al., 1997) 및 α₂-adrenergic receptor 유전자 (Wolfarth et al., 2000) 등이 최대 산소 소비량과 유의한 관련성을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

운동 능력의 유전적 요인 중 하나인 사립체 DNA는 다양한 성인병과 운동 능력 등에 영향을 미치는 유전자들을 포함하고 있으며 인체 사립체 DNA 전체 염기서열이 발표된 이래로 (Anderson et al., 1981) 이를 기준 염기서열로 하여 사립체 DNA의 다형성에 관련된 염기서열을 비교하는 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Lutz et al., 1998). 사립체 DNA의 유전적 변이가 최대 산소 소비량 (VO_{2max}) 값에 영향을 미친다는 사실을 나타내는 첫 번째 증거는 훈련을 통한 VO_{2max} 값에서의 개인차가 사립체 DNA에서의 일부 변이에 의해 영향

*논문 접수: 2005년 2월 17일

수정재접수: 2005년 4월 27일

†교신저자: 이강오, (우) 139-742, 서울특별시 노원구 공릉2동 26-21, 삼육대학교 생명과학과

Tel: 82-2-3399-3561, Fax: 82-2-971-6812

e-mail: leeko@syu.ac.kr

을 받는다는 결과를 보고한 Dionne et al. (1991)에 의해 제시되었다. 그렇지만 이와 관련된 연구 결과들이 집단마다 일치하지 않는 양상을 나타내어 민족 집단간에 유전적 배경의 차이가 연구 결과에 중요한 영향을 미치고 있는 것으로 생각되고 있다 (Rivera et al., 1998; Chen et al., 2000).

한국인은 단일 민족으로써 수천 년 이래로 지리적, 인종적, 문화적, 그리고 언어적으로 격리된 결과 여타 민족과 다른 유전적인 특성을 보유하고 있다. 그럼에도 불구하고, 사립체 DNA에 존재하는 유전적 변이가 한국인 집단에서 VO_{2max} 값을 비롯한 운동 능력과의 관련성에 관한 이렇다 할 연구 결과가 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 한국인 집단 중 20대의 운동 선수들을 대상으로 하여 사립체 DNA에 존재하는 유전적 다형성의 분포를 조사하고, 이러한 유전적 변이가 운동 능력, 다양한 신체 계측치 및 생화학적 변인들과 유의한 관련성을 나타내는 지를 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

본 연구 대상자들은 19~24세의 나이를 갖는 총 137명의 한국인 남성들로 이루어져 있는데, 이들은 모두 특정한 스포츠 종목의 운동 선수들 (농구 15명, 축구 25명, 야구 32명, 체조 12명, 배구 18명, 5,000~10,000 m 육상 4명, 마라톤 5명, 유도 9명, 아이스하키 17명)로서 적어도 1년 이상 장기간에 걸친 규칙적인 운동을 수행한 사람들로 이루어져 있다. 또한 본 연구에서는 연구 대상자들의 유전자형 분포가 일반인 집단에 대한 유전자형 분포에서 유의하게 벗어나지 않았는지를 확인하기 위하여 전문적인 스포츠 종목에 종사하지 않는 남성 일반인 106명을 대조군으로 선발하여 유전자형 분포를 비교하였다.

2. 신체 계측치 및 신체조성 검사

수축기 혈압 및 확장기 혈압은 수은혈압계 (sphygmoma-

nometer)를 이용하여 측정하였고, 신체능력수준 척도인 심폐 지구력 요인은 점증적 운동부하검사 (Graded Exercise Test: GXT)를 이용하여 측정하였으며, 체질량지수 (body mass index, BMI)는 연구 대상자의 체중 (kg)을 신장의 제곱 (m^2)으로 나눈 값으로 계산하였다.

3. 생화학적 분석

혈청 총 콜레스테롤 (total cholesterol, TC) 농도 및 중성지방 (triglyceride, TG) 농도는 각각 cholesterol oxidase 효소 측정법과 glycerol phosphate oxidase 효소 측정법을 이용하여 측정하였고, 혈청 포도당 (glucose) 농도는 glucose oxidase 측정법을 이용하여 측정하였다. 혈청 HDL-cholesterol 농도는 dextran sulfate $MgCl_2$ 침전법을 이용하여 측정하였으며, 위의 측정된 농도를 기초로 하여 Friedewald (1972) 공식에 의하여 혈청 LDL-cholesterol 농도를 계산하였다. 혈청 Lipoprotein (a) (Lp(a)) 농도는 immunoprecipitation 방법 (SPQ Test System, INCSTAR Corporation, Stillwater, Minnesota, USA)을 이용하여 측정하였고, 혈청 apolipoprotein AI (ApoAI) 농도는 immunoturbidimetric method (COBAS INTEGRA, Roche, Diagnostics, USA)을 이용하여 측정하였다.

4. 중합효소 연쇄반응

혈액에서의 DNA 분리는 Wizard blood DNA isolation kit (Promega, Co. Ltd., Madison, WI, USA)를 이용하여 추출하였다. PCR 반응에는 약 150 ng의 total genomic DNA, 10 pmol 농도의 primer, 200 μ m 농도의 dNTP, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 0.01% gelatin, 50 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$ 를 포함하는 총 50 μ l의 반응액을 이용하였다. 사립체 DNA 다형성 연구를 위한 primer의 종류는 Table 1에 나타나 있는 바와 같다.

5. 유전자형 분석

Nci I 제한 효소에 의한 다형성을 검출하기 위한 primer는 사립체 DNA의 13,364 bp 염기서열을 절단하여 MTND5 부

Table 1. Primer sequences and restriction enzymes for detecting the genetic polymorphisms in the mitochondrial DNA

Enzyme	Primer
<i>Nci</i> I	Sense primer 5'-AGGCGCTATCACCCTCTGTTCG-3'.
	Antisense primer 5'-GAATTCCTGCGAATAGGCTTCCGGCTGCC-3'.
<i>Bam</i> H I	Sense primer 5'-AGGCGCTATCACCCTCTGTTCG-3'.
	Antisense primer 5'-GAATTCCTGCGAATAGGCTTCCGGCTGCC-3'.
<i>Hinc</i> II	Sense primer 5'-CAAATATCACTCTCCTACTTACAG-3'.
	Antisense primer 5'-TGTAACGAACAATGCTACAG-3'.
<i>Kpn</i> I	Sense primer 5'-TCAAAGCTTACACCAGTCTTGTA-3'.
	Antisense primer 5'-CCTGAAGTAGGAACCAGATG-3'.

위의 다형성을 결정하기 위한 것이고 *Bam* HI 제한 효소에 의한 다형성을 검출하기 위한 primer는 사립체 DNA의 13,470 bp 염기서열을 절단하여 MTND5 부위의 다형성을 결정하기 위한 것이다. *Hinc* II 제한 효소에 의한 다형성을 검출하기 위한 primer는 사립체 DNA의 12,406 bp의 염기서열을 절단하여 MTND5 부위의 다형성을 결정하기 위한 것이고, *Kpn* I 제한 효소에 의한 다형성을 검출하기 위한 primer는 사립체 DNA의 16,133 bp의 염기서열을 절단하여 D-loop 부위의 다형성을 결정하기 위한 것이다. 이렇게 준비된 반응액을 PCR cycycler에서 94°C의 조건으로 5분간 가열하였고, 그 이후에 95°C에서 3분, 55°C에서 25초, 72°C에서 1분 30초를 1주기로 하여 PCR 반응을 수행한 후 95°C에서 25초, 55°C에서 25초, 70°C에서 1분 30초를 1주기로 하여 29주기 동안 반복하여 반응시킨 다음 마지막으로 72°C에서 10분간 PCR을 수행하였다. PCR 반응이 끝나면 반응산물 중 12 µl를 취하여 각각의 제한 효소 (*Nci* I, *Bam* HI, *Hinc* II, *Kpn* I)로 처리하여 37°C에서 18시간 동안 반응시킨 후에 그 결과를 1.5% agarose gel에서 전기영동하였으며, ethidium bromide로 염색하여 band 형태를 확인하였다.

Table 2. Clinical characteristics of elite athletes

Parameter	No ¹ (137)	Minimum	Maximum	Mean	SD ¹²
Age (year)	125	19.0	26.0	20.7	1.3
SBP (mmHg) ²	127	96.0	142.0	188.7	8.5
DBP (mmHg) ³	127	42.0	85.0	70.6	8.6
BMI (kg/m ²) ⁴	126	18.8	29.8	23.1	2.0
TC (mg/dl) ⁵	107	118.0	473.0	171.8	39.7
TG (mg/dl) ⁶	107	11.0	515.0	107.3	74.5
HDL (mg/dl) ⁷	107	34.0	90.0	57.5	11.8
LDL (mg/dl) ⁸	107	0.0	404.0	91.2	42.3
Glucose (mg/dl)	106	28.0	108.0	53.4	15.0
Lp(a) (mg/dl) ⁹	60	1.7	19.2	8.3	8.2
ApoAI (mg/dl) ¹⁰	106	55.0	264.0	102.0	31.9
VO _{2max} (ml/kg/min) ¹¹	86	50.9	59.1	55.8	1.6

¹number, ²systolic blood pressure, ³diastolic blood pressure, ⁴body mass index, ⁵total cholesterol, ⁶triglyceride, ⁷high density lipoprotein cholesterol, ⁸low density lipoprotein cholesterol, ⁹lipoprotein (a), ¹⁰apolipoprotein AI, ¹¹maximum oxygen consumption, ¹²standard deviation

Table 3. Pearson correlations among clinical parameters

	Age	SBP	DBP	BMI	TC	TG	HDL	LDL	Glucose	Lp(a)	ApoAI	VO _{2max} ¹⁰
Age (year)	r=0.030 P=0.744	r=0.008 P=0.925	r=0.092 P=0.309	r=0.104 P=0.345	r=0.213 P=0.051	r=-0.013 P=0.909	r=0.012 P=0.913	r=-0.125 P=0.256	r=-0.297 P=0.043*	r=-0.101 P=0.929	r=-0.384 P=0.000*	
SBP (mmHg) ¹		r=0.569 P=0.000*	r=0.271 P=0.002*	r=0.019 P=0.863	r=0.093 P=0.393	r=-0.020 P=0.854	r=-0.012 P=0.912	r=-0.170 P=0.114	r=0.080 P=0.566	r=-0.039 P=0.718	r=-0.236 P=0.029*	
DBP (mmHg) ²			r=0.182 P=0.043*	r=-0.094 P=0.384	r=0.071 P=0.511	r=-0.187 P=0.082	r=-0.080 P=0.163	r=-0.186 P=0.084	r=0.063 P=0.649	r=-0.206 P=0.055	r=-0.200 P=0.066	
BMI (kg/m ²) ³				r=-0.025 P=0.817	r=0.078 P=0.475	r=-0.160 P=0.141	r=0.008 P=0.994	r=-0.241 P=0.025*	r=0.049 P=0.728	r=-0.120 P=0.273	r=-0.958 P=0.000*	
TC (mg/dl) ⁴					r=0.058 P=0.552	r=0.126 P=0.196	r=0.898 P=0.000*	r=-0.052 P=0.594	r=0.068 P=0.608	r=0.133 P=0.175	r=-0.008 P=0.940	
TG (mg/dl) ⁵						r=-0.397 P=0.000*	r=-0.221 P=0.022*	r=0.166 P=0.089	r=0.029 P=0.825	r=0.127 P=0.193	r=-0.136 P=0.211	
HDL (mg/dl) ⁶							r=0.018 P=0.854	r=-0.083 P=0.400	r=0.017 P=0.896	r=0.267 P=0.006*	r=0.156 P=0.151	
LDL (mg/dl) ⁷								r=-0.132 P=0.177	r=0.058 P=0.658	r=-0.021 P=0.829	r=-0.012 P=0.909	
Glucose (mg/dl)									r=0.006 P=0.962	r=0.345 P=0.000*	r=0.255 P=0.018*	
Lp(a) (mg/dl) ⁸										r=0.007 P=0.960	r=-0.144 P=0.305	
ApoAI (mg/dl) ⁹											r=0.109 P=0.316	
VO _{2max} (ml/kg/min)												

¹systolic blood pressure, ²diastolic blood pressure, ³body mass index, ⁴total cholesterol, ⁵triglyceride, ⁶high density lipoprotein cholesterol, ⁷low density lipoprotein cholesterol, ⁸lipoprotein (a), ⁹apolipoprotein AI, ¹⁰maximum oxygen consumption, *P<0.05

6. 통계 분석

대립 유전자 빈도는 gene counting 방법으로 계산하였으며 사립체 DNA에 존재하는 다형성들의 대립 유전자 빈도가 두 군간에 차이가 있는지를 조사하기 위하여 χ^2 -독립성 검정법을 이용하였다. 각각의 대립 유전자들에 대한 신체 계측치들과 생화학적 측정치들간의 관련성 여부는 독립표본 t-검정 (Student's t-test)을 이용하여 분석하였다. 각각의 신체 계측치들과 생화학적인 측정치들간의 상관관계는 Pearson 적률 상관 계수를 이용하여 측정하였다. 모든 통계적 유의 수준은 $P=0.05$ 로 하였으며 자료 처리는 SPSSWIN version 11.0 프로그램 이용하여 수행하였다.

결 과

1. 연구 대상자의 신체적인 특징

본 연구 대상자들의 신체적인 특징은 Table 2에 요약하였다. Table 3은 본 연구 대상자들로부터 측정된 신체 계측치들과 생화학적인 지표들 간의 상관관계를 분석한 결과이다.

지구력의 척도인 최대 산소 소비량 (VO_{2max}) 값은 연령 ($r=-0.384, P<0.001$), 수축기 혈압 ($r=-0.236, P=0.029$) 및 체질량 지수 ($r=-0.958, P<0.001$)와 유의한 음의 상관관계를 보였다.

2. 사립체 DNA에 존재하는 다형성의 대립 유전자 분포

사립체 DNA에 존재하는 5곳의 다형 부위의 전기영동 pattern에 대한 양상은 Fig. 1에 나타내었다. *Bam* HI 다형성은 사립체 DNA의 13,470 bp에 위치하는 다형성으로 PCR 증폭과 제한 효소인 *Bam* HI에 의한 절단이 이루어지지 않는 533 bp의 대립 유전자와 294 bp와 259 bp로 절단이 일어나는 2종류의 대립 유전자로 이루어져 있는데, 본 연구에서는 두 종류의 대립 유전자를 갖는 개체들이 모두 검출되어 polymorphic한 양상을 나타내었다 (Fig. 1A).

Hinc II 다형성은 사립체 DNA의 12,406 bp에 위치하는 다형성으로 PCR 증폭과 제한 효소인 *Hinc* II에 의한 절단이 이루어지지 않는 702 bp의 대립 유전자와 484 bp와 218 bp로 절단이 일어나는 2종류의 대립 유전자로 이루어져 있는데, 본 연구에서는 두 종류의 대립 유전자가 모두 검출되었다 (Fig. 1B). 그런데 본 연구에서는 기존의 연구에서 *Hinc* II 제

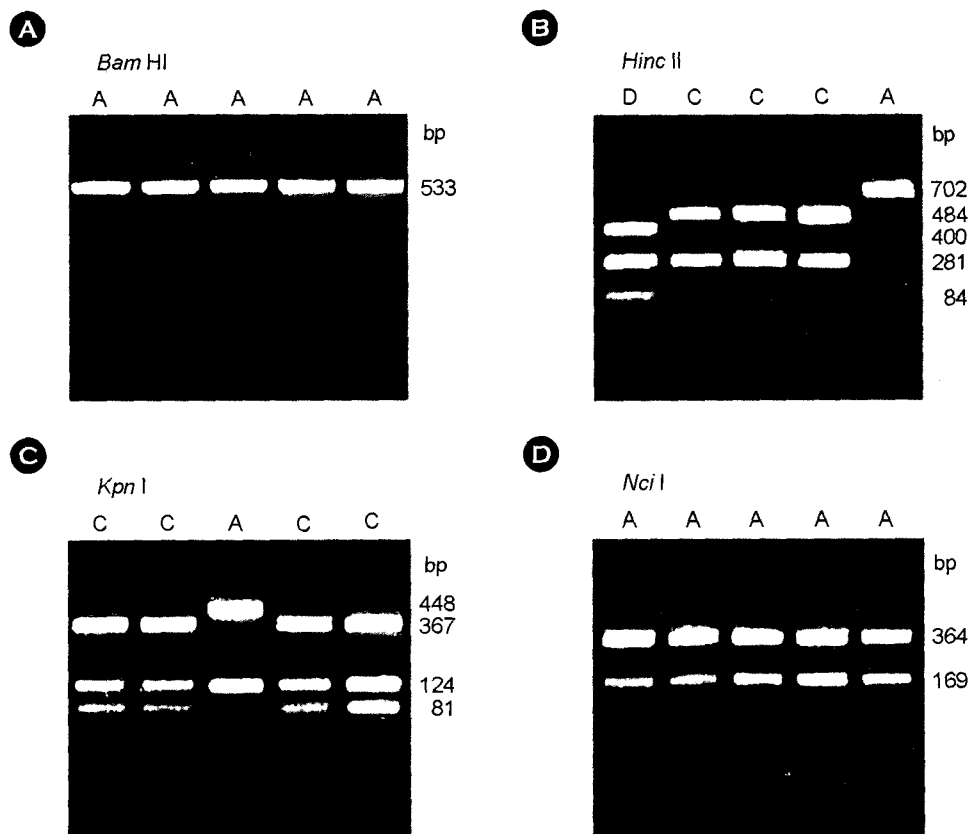


Fig. 1. Restriction fragment patterns of genetic polymorphisms in the mitochondrial DNA. A) MTND5-*Bam* HI RFLP at 13,470 bp. B) MTND5-*Hinc* II RFLPs at 12,406 bp. C) D-loop-*Kpn* I RFLP at 16,133 bp. D) MTND5 -*Nci* I RFLP at 13,364 bp. MT DMA fragment sizes are given in base pairs (bp).

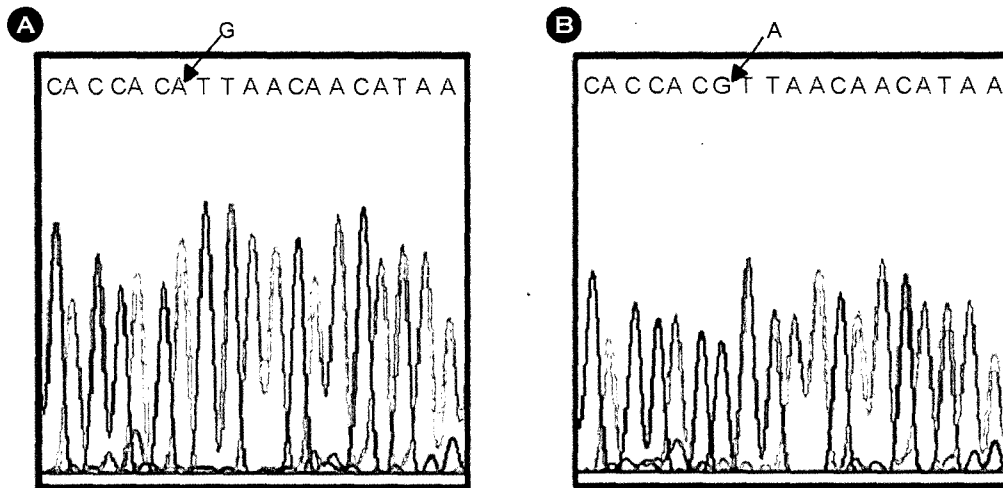


Fig. 2. The detection of 12025 A→G transition in the mitochondrial DNA. A) Absence of *Hinc* II restriction site. B) Presence of *Hinc* II restriction site.

한 효소 절단부위가 존재하지 않았던 484 bp의 부위에 새로운 *Hinc* II 제한 효소부위가 생성되는 제 2의 다형 부위가 발견되었다. 따라서 이 다형 부위의 정확한 염기변화 위치를 규명하기 위하여 PCR product를 용출시키고 이를 ABI3770 automatic sequencer machine을 이용하여 DNA 염기서열 분석을 수행한 결과, 사립체 DNA의 12,025 bp 위치에서 A염기가 G염기로 치환된 것을 확인하였다 (Fig. 2). 따라서 본 연구에서는 기존에 존재하는 *Hinc* II 다형성을 *Hinc* III 다형성이라고 명명하였고 이번에 새로이 발견된 다형성을 *Hinc* II2 다형성이라고 명명하였다. *Kpn* I 다형성은 사립체 DNA의 16,133 bp에 위치하는 다형성으로 PCR 증폭과 제한 효소인 *Kpn* I에 의한 절단이 이루어지지 않는 448 bp와 124 bp의 대립 유전자와 367 bp, 124 bp, 그리고 81 bp로 절단이 일어나는 2종류의 대립 유전자로 이루어져 있는데, 본 연구에서는 두 종류의 대립 유전자를 갖는 개체들이 모두 검출되어 polymorphic한 양상을 나타내었다 (Fig. 1C).

Nci I 다형성은 사립체 DNA의 13,364 bp에 위치하는 다형성으로 PCR 증폭과 제한 효소인 *Nci* I에 의한 절단이 이루어지지 않는 533 bp의 대립 유전자와 364 bp와 169 bp로 절단이 일어나는 2종류의 대립 유전자로 이루어져 있는데, 본 연구에서는 두 종류의 대립 유전자를 갖는 개체들이 모두 검출되어 polymorphic한 양상을 나타내었다 (Fig. 1D).

사립체 DNA에 존재하는 5종류의 다형 부위에 대한 대립 유전자 분포 양상은 Table 4에 나타내었다. *Bam* HI과 *Nci* I 제한 효소에 의해 검출되는 다형성은 단지 운동 선수군에서만 검출되어 비교적 낮은 유전자 다양성 (genetic diversity)을 나타낸 반면에, *Kpn* I, *Hinc* III 및 *Hinc* II2 다형성은 운동 선수군 및 대조군 모두에서 polymorphic한 양상을 나타내어 전술한 2종류의 다형 부위들에 비해서 상대적으로 높은 유전

Table 4. Allele frequencies of male controls and athletes of 6 RFLPs in the human mitochondrial DNA

RFLP	Group	Allele Frequency (%)		P ¹
		- ²	+ ³	
<i>Bam</i> HI	Control	103 (100.0)	0 (0.0)	0.385
	Young	41 (100.0)	0 (0.0)	0.583
	Athlete	136 (99.3)	1 (0.7)	
	Total	239 (99.6)	1 (0.4)	
<i>Kpn</i> I	Control	24 (27.9)	62 (72.1)	0.929
	Young	13 (32.5)	27 (67.5)	0.624
	Athlete	37 (28.5)	93 (71.5)	
	Total	61 (28.2)	155 (71.8)	
<i>Hic</i> III	Control	7 (7.1)	91 (92.9)	0.715
	Young	3 (7.3)	38 (92.7)	0.816
	Athlete	11 (8.5)	119 (91.5)	
	Total	18 (7.9)	210 (92.1)	
<i>Hinc</i> II2	Control	91 (92.9)	7 (7.1)	0.156
	Young	39 (95.1)	2 (4.9)	0.585
	Athlete	126 (96.9)	4 (3.1)	
	Total	217 (95.2)	11 (4.8)	
<i>Nci</i> I	Control	0 (0.0)	96 (100.0)	0.393
	Young	0 (0.0)	41 (100.0)	0.576
	Athlete	1 (0.8)	131 (99.2)	
	Total	1 (0.4)	227 (99.6)	

¹probability, ²absence of restriction site, ³presence of restriction site

자 다양성을 나타내었다. 이들 각각의 다형성을 구성하는 대립 유전자 빈도를 운동 선수군과 대조군을 대상으로 비교했을 때 두 군간에 통계적으로 유의한 관련성을 나타내지 않았다 ($P>0.05$). 대조군과 운동 선수군의 연령층을 조정하기 위

Table 5. The Comparison of the clinical phenotypes according to *Kpn I* polymorphism in the mitochondrial DNA

Variable	Allele	
	A (No.)	C (No.)
Age (year)	26.7±13.0 (55)	28.3±14.1 (144)
SBP (mmHg) ¹	120±9.6 (44)	118.3±8.0 (113)
DBP (mmHg)²	74.3±9.6 (44)	70.8±8.7 (113)*
BMI (kg/m ²) ³	23.4±2.3 (55)	23.4±2.0 (145)
TC (mg/dl) ⁴	158.4±30.3 (32)	167.5±47.9 (92)
TG (mg/dl) ⁵	115.9±93.1 (32)	116.4±85.9 (92)
HDL (mg/dl) ⁶	50.7±15.9 (32)	49.0±18.2 (92)
LDL (mg/dl) ⁷	84.0±28.4 (32)	95.6±46.5 (92)
Glucose (mg/dl)	61.0±21.5 (29)	59.3±38.9 (87)
Lp(a) (mg/dl) ⁸	8.7±5.2 (21)	10.2±8.8 (69)
ApoAI (mg/dl) ⁹	101.3±40.8 (27)	98.0±30.3 (75)
VO _{2max} (ml/kg/min) ¹⁰	55.8±1.9 (18)	55.7±1.4 (56)

¹systolic blood pressure, ²diastolic blood pressure, ³body mass index, ⁴total cholesterol, ⁵triglyceride, ⁶high density lipoprotein cholesterol, ⁷low density lipoprotein cholesterol, ⁸lipoprotein (a), ⁹apolipoprotein AI, ¹⁰maximum oxygen consumption, *P<0.05

하여 대조군 중에서 운동 선수군과 비슷한 20대의 연령층을 대상으로 대립 유전자 빈도를 비교한 경우에도 역시 두 군간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다 (P>0.05). 따라서 본 연구 대상자들은 비록 20대의 남성 운동 선수들만으로 이루어진 제한된 표본이긴 하지만, 유전자형 분포에 있어서는 일반인 집단에 대한 분포와 큰 차이를 나타내지 않은 것으로 생각된다.

3. 사립체 DNA에 존재하는 다형성과 신체 계측치 및 생화학적 지표들과의 관련성

Table 5~7은 사립체 DNA에 존재하는 5종류의 다형성들 중에서 비교적 높은 유전자 다양성을 나타낸 3종류의 다형성들과 운동 선수들의 신체 계측치 및 생화학적 지표들 사이의 관련성을 분석한 결과이다. *Hinc III* 및 *Hinc II2* 다형성의 경우에는 각각의 대립 유전자들이 운동 선수군들에 대한 어떠한 신체 계측치 및 생화학적 지표들과도 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 반면에 *Kpn I* 다형성의 경우에는 대립 유전자들이 운동 선수군에서 확장기 혈압 값과 유의한 관련성을 나타내었는데 (Student's t-test, t=2.149, df=155, P=0.033), 특별히 A 대립 유전자를 가진 운동 선수들 (DBP = 74.3±9.6)에 비해서 C 대립 유전자를 갖는 운동 선수들 (DBP = 70.8±8.7)이 유의하게 낮은 확장기 혈압 값을 나타내었다 (Table 5). 따라서 사립체 DNA에 존재하는 다형성들 중에서는 *Kpn I* 다형성을 구성하는 C 대립 유전자를 가진 운동 선수들은 유전적으로 심혈관질환에 대항하여 저항적인 소인을 갖고 있을 것으로 추측된다.

Table 6. The Comparison of the clinical phenotypes according to *Hinc III* polymorphism in the mitochondrial DNA

Variable	Allele	
	A (No.)	C (No.)
Age (year)	29.3±16.3 (15)	29.4±14.9 (196)
SBP (mmHg) ¹	119.5±11.7 (11)	119.1±8.5 (146)
DBP (mmHg) ²	72.6±12.6 (11)	71.9±8.8 (146)
BMI (kg/m ²) ³	23.9±3.2 (15)	23.3±2.0 (197)
TC (mg/dl) ⁴	158.8±28.2 (10)	162.7±46.3 (122)
TG (mg/dl) ⁵	105.7±48.0 (10)	133.5±86.0 (122)
HDL (mg/dl) ⁶	54.5±22.9 (10)	47.2±17.6 (122)
LDL (mg/dl) ⁷	86.8±22.1 (10)	91.7±44.3 (122)
Glucose (mg/dl)	60.3±18.9 (9)	58.2±32.4 (111)
Lp(a) (mg/dl) ⁸	11.6±12.47 (5)	10.7±10.1 (88)
ApoAI (mg/dl) ⁹	105.6±73.1 (10)	96.1±28.3 (95)
VO _{2max} (ml/kg/min) ¹⁰	54.8±3.2 (5)	55.8±1.3 (69)

¹systolic blood pressure, ²diastolic blood pressure, ³body mass index, ⁴total cholesterol, ⁵triglyceride, ⁶high density lipoprotein cholesterol, ⁷low density lipoprotein cholesterol, ⁸lipoprotein (a), ⁹apolipoprotein AI, ¹⁰maximum oxygen consumption

Table 7. The Comparison of the clinical phenotypes according to *Hinc II2* polymorphism in the mitochondrial DNA

Variable	Allele	
	A (No.)	C (No.)
Age (year)	29.0±14.9 (202)	36.4±15.1 (9)
SBP (mmHg) ¹	119.0±8.7 (152)	123.0±8.5 (5)
DBP (mmHg) ²	71.8±9.1 (152)	76.2±6.8 (5)
BMI (kg/m ²) ³	23.3±2.0 (203)	24.7±2.5 (9)
TC (mg/dl) ⁴	161.3±44.9 (125)	181.6±50.0 (7)
TG (mg/dl) ⁵	112.8±82.9 (125)	113.4±103.5 (7)
HDL (mg/dl) ⁶	48.2±18.0 (125)	40.0±18.6 (7)
LDL (mg/dl) ⁷	89.9±41.7 (125)	115.2±61.1 (7)
Glucose (mg/dl)	57.7±31.9 (113)	67.9±25.3 (7)
Lp(a) (mg/dl) ⁸	10.8±10.4 (88)	10.7±4.2 (5)
ApoAI (mg/dl) ⁹	97.4±34.8 (103)	78.5±20.9 (2)
VO _{2max} (ml/kg/min) ¹⁰	55.7±1.5 (74)	0.0±0.0 (0)

¹systolic blood pressure, ²diastolic blood pressure, ³body mass index, ⁴total cholesterol, ⁵triglyceride, ⁶high density lipoprotein cholesterol, ⁷low density lipoprotein cholesterol, ⁸lipoprotein (a), ⁹apolipoprotein AI, ¹⁰maximum oxygen consumption

고 찰

본 연구의 일차적인 목적은 한국인 남성 운동 선수군을 대상으로 사립체 DNA에 존재하는 3종류의 후보 유전자에 대해 5종류의 제한 효소 절편 (*Bam HI*, *Kpn I*, *Hinc III*, *Hinc II2* and *Nci I*) 다형성의 분포를 조사함과 아울러 이러한 다형성

의 분포가 대조군의 분포와 유의한 차이가 있는지를 파악하고자 하는데 있었다. 그 결과 제한 효소 *Bam* HI과 *Nci* I의 절편 다형성은 대조군의 경우 monomorphic한 pattern을 나타내었으며, 운동 선수군의 경우 낮은 대립인자 빈도인 0.7~0.8%로 나타나 본 연구의 분석에서는 제외시켰다. 나머지 3 종류의 다형성의 경우에는 운동 선수군 및 대조군 모두 polymorphic한 pattern을 나타내어 임상적인 표현형들과의 관련성을 분석하기 위한 유전자 표지 (genetic marker)로 사용하였다.

최대 산소 소비량으로 표시되는 지구력과 8~20주에 걸친 유산소 훈련 프로그램을 통한 최대 산소 소비량의 증가로 표시되는 유산소 훈련 성취도 (trainability)에서 나타나는 개인차는 연령이나 성별과 같은 불변성 요인 혹은 생활양식 (life style)이나 영양 상태 (nutrition)와 같은 환경적 가변성 요인 (environmental factor)과 다양한 유전적 요인 (polygenic heritable factor)의 상호작용에 의해 결정되는 다인자성 형질 (multifactorial trait)로 알려져 있다 (Dionne et al., 1991; Rivera et al., 1998). 지금까지 운동 능력에 관한 연구는 주로 환경적인 요인에 초점이 맞추어져 왔으며, 그 결과 개인의 운동 능력을 향상시키기 위한 운동 프로그램의 설계 및 운동 처방에 있어서도 유전적 요인은 소홀히 다루어져 왔다는 사실을 부인할 수 없다. 그러나 구미 선진국을 비롯한 여러 나라에서는 지구력에 영향을 미치는 유전자들이 점차로 밝혀지고 있으며, 특히 angiotensin I converting enzyme (ACE) 유전자 (Gayagy et al., 1998; Rankinen et al., 2000b), muscle specific creatine kinase (MCK) 유전자 (Rivera et al., 1997) 및 사립체 DNA에 존재하는 많은 유전적 변이들이 지구력에 영향을 미치는 유력한 후보 유전자 (candidate gene)인 것으로 나타났다 (Rivera et al., 1998). 이러한 후보 유전자들 중에서 사립체 DNA는 tRNA와 rRNA를 암호화하는 유전자들 이외에 전자전달계 (electron transport system) 및 산화적 인산화 (oxidative phosphorylation)에 관여하는 많은 효소들을 암호화하는 유전자들을 포함하고 있기 때문에 이들 효소들의 기능적 차이에 영향을 미치는 유전적 변이가 지구력 및 유산소 훈련 프로그램의 성취도에서의 개인차에 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단되어 사립체 DNA에 존재하는 유전적 변이와 이러한 형질들과의 관계를 조사하기 위한 연구들이 수행되었다. Dionne et al., (1991)은 24~29세의 캐나다인을 대상으로 22종류의 제한 효소를 이용한 분석을 통해서 사립체 DNA에 존재하는 유전적 변이와 유산소 훈련 프로그램을 통한 훈련 성취도와의 관련성을 분석한 결과 NADH dehydrogenase subunit 5를 암호화하는 유전자에 존재하는 *Hinc* III 제한 효소에 의한 다형성이 최대 산소 소비량 및 유산소 훈련 프로그램을 통한 훈련 성취도와 유의한 관련성이 있음을 보고하였다. 그러나 Rivera et al., (1998)은 역시 캐나다인 125명의 운동 선수들과

65명의 대조군을 대상으로 사립체 DNA의 NADH dehydrogenase subunit 5를 암호화하는 유전자 및 D-loop region에 존재하는 4종류의 다형성을 분석하였는데, 두 군간에 유의한 대립 유전자 빈도 차이를 검출하지 못했을 뿐만 아니라 최대 산소 소비량에서의 유의한 차이도 검출하지 못하였다. 아시아 집단인 일본인 및 중국인을 대상으로 한 연구 결과는 서양인을 대상으로 한 연구 결과와는 상이한 양상을 나타내었는데, 특별히 일본인을 대상으로 한 연구에서 Murakami et al., (2001)은 제한 효소인 *Hinc* III, *Nci* I 및 *Bam* HI을 이용한 유전적 변이를 이용하여 지구력과의 관련성을 분석하려 하였으나, 이들이 monomorphic한 pattern을 나타내어 더 이상의 분석을 수행할 수 없었다. *Nci* I 및 *Bam* HI에 의한 유전적 변이는 본 연구에서도 역시 낮은 유전자 다양성 값을 나타내었는데, 유전적 구성에 있어서의 이러한 유사성은 두 집단의 유전적 배경 (genetic background)이 유사하다는 사실을 사립체 DNA 분석에서도 입증하고 있는 것이다.

한국인과 일본인 집단의 유전적 배경에서의 유사성은 많은 핵 DNA 및 Y 염색체에 존재하는 유전자들에 대한 다형성 분석에서도 역시 입증되고 있다 (Bae et al., 2001). Murakami et al., (2002)은 사립체 DNA에 존재하는 유전자들에 대한 높은 유전자 다양성이 관련성 연구에서 중요한 요인이 된다는 사실을 인식하여 사립체 DNA 중에서 비교적 높은 유전자 다양성을 나타내는 부위인 D-loop region에 존재하는 유전적 변이를 이용하여, 20대의 55명의 남성에서 최대 산소 소비량 및 유산소 훈련 프로그램을 통한 훈련 성취도에서의 차이가 존재하는지를 분석하였다. 그 결과 이 부위에 존재하는 유전적 변이들이 이들 표현형들의 개인차에 유의한 영향을 미친다는 사실을 보고하여 일본인을 대상으로 한 연구에서는 D-loop region에 존재하는 유전적 변이가 지구력 및 유산소 훈련 프로그램을 통한 훈련 성취도에 유의한 영향을 미치는 유전적 표지 (genetic marker)임을 입증하였다. 또한 중국인을 대상으로 한 지구력 관련 연구에서는 Chen et al., (2000)이 33명의 운동 선수들과 20명의 대조군을 대상으로 하여 D-loop region에 존재하는 유전적 변이의 분포가 두 군간에 유의한 차이가 있는지를 조사하였는데, 그 결과 대립 유전자 분포에 있어서 두 군간에 유의한 차이가 검출되어 일본인을 대상으로 한 Murakami et al., (2002)이 수행했던 연구 결과와 일치하는 양상을 나타내었다. 그러나 유전자 다양성이 비교적 높은 D-loop region에 존재하는 다형성인 *Kpn* I 다형성을 포함하여 총 5종류의 다형성을 이용한 20대의 한국인 남성 운동 선수들을 대상으로 한 본 연구 결과에서는 운동 선수군과 대조군을 비교하거나 혹은 최대 산소 소비량 값을 비교한 결과 어떠한 유의한 관련성도 검출되지 않았기 때문에 이러한 다형성들이 한국인 집단에서는 지구력에 영향을 미치는 유전적 표지로서는 적절치 않은 것으로 생각된

다. 비슷한 유전적 배경을 갖는 일본인 및 중국인을 대상으로 한 연구 결과와 본 연구 결과가 일치하지 않은 양상을 나타낸 이유는 연구 설계에서의 차이가 가장 큰 원인일 것으로 생각된다. 본 연구 대상자들은 중국인 연구 대상자보다 연구 대상자의 수는 훨씬 많았지만 지구력 종목의 운동 선수들만을 연구 대상으로 선정했던 중국인 연구 대상자들과는 달리 운동 선수들이 다양한 종목의 선수들로 이루어져 있었기 때문에 본 연구에서는 운동 종목의 다양한 조합에 의한 사립체 DNA에 존재하는 유전적 변이가 지구력에 미치는 효과가 상쇄작용에 의해 유의성이 가려졌을 가능성을 배제할 수 없다. 또한 본 연구에서는 일본인을 대상으로 수행했던 연구와는 달리 유산소 훈련 프로그램을 수행하지 않았기 때문에 추후에는 한국인을 대상으로 유산소 훈련 프로그램을 통한 훈련 성취도의 개인별 차이가 사립체 DNA에 존재하는 유전적 변이에 의해 영향을 받을 수 있는 지를 분석하기 위한 연구를 수행하는 일도 의미있는 작업이 될 수 있을 것으로 생각된다.

전술한 바와 같이 사립체 DNA에 존재하는 유전자들은 전자전달계나 산화적 인산화와 같은 유기 호흡에 중추적인 역할을 담당하는 효소 분자들을 암호화하는 유전정보를 갖고 있기 때문에 이 부위에서 일어나는 유전적 변이는 주로 근육 및 신경계 질환의 발병 원인이거나 혈청 포도당 및 지질 농도를 포함하는 다양한 임상적인 표현형에 영향을 미치는 것으로 보고되었다 (Kokaze et al., 2001; Kokaze et al., 2003). 본 연구에서도 사립체 DNA에 존재하는 5종류의 다형성들 중에서 낮은 유전자 다형성 값을 나타낸 *Bam* HI 및 *Nci* I 다형성을 제외한 나머지 3종류의 다형 부위가 혈압, 비만도, 혈청 지질 및 포도당 농도와 어떠한 관련성이 있는지를 조사하였다. 그 결과, *Kpn* I 다형성이 운동 선수군에서 확장기 혈압 값과 유의한 관련성을 나타내었는데, A 대립 유전자를 가진 운동 선수들에 비해서 C 대립 유전자를 갖는 운동 선수들이 유의하게 낮은 확장기 혈압 값을 나타내었다. 이러한 결과는 *Kpn* I 다형성이 한국인 남성에서 고혈압의 예측 및 진단에 적용할 수 있는 유용한 유전자 표지일 가능성을 제시하는 결과로서 주목된다. 하지만 본 연구 대상자들은 20대의 젊은 운동 선수군만으로 이루어진 전문화된 집단으로서 이를 일반인에 대한 현상으로 확대시키기에는 무리가 있을 뿐만 아니라 성별에 있어서도 단지 남성만을 대상으로 연구를 수행했기 때문에 이 다형성이 고혈압과 유의한 관련성을 나타내는지에 관해서는 일반인 및 고혈압 환자군을 대상으로 한 환자-대조군 연구 등을 통해서만이 보다 정확한 결론을 도출할 수 있을 것으로 생각된다. 게다가 *Kpn* I 다형성 부위는 D-loop region에 위치하고 있기 때문에 사립체 DNA의 복제에는 관여하지만 기능적인 유전자를 포함하는 부위는 아니기 때문에 본 연구에서 관찰된 *Kpn* I 다형성과 확장

기 혈압과의 유의한 관련성은 기능적인 연관이 아닌 *Kpn* I 다형성과 사립체 DNA 내에 혈압 조절에 관여하는 아직 알려지지 않은 유전적 변이와의 연관 불평형 (linkage disequilibrium)에 의한 결과일 것으로 생각된다. 염색체 DNA에 존재하는 많은 유전적 변이의 경우에도 임상적인 표현형들 간의 유전적 관련성의 원인은 기능적인 연관 보다는 연관 불평형에 의한 간접적인 관련성을 나타내는 경우가 훨씬 더 많은 것으로 알려져 있다 (Mastana and Nunn, 1997). 따라서 어떠한 가설이 옳은 지를 판정하기 위해서는 보다 더 많은 연구 대상자 및 다른 민족 집단들을 대상으로 한 추사가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구의 목적은 20대의 한국인 운동 선수군에서 사립체 DNA에 존재하는 5종류의 다형성이 지구력을 비롯한 다양한 임상적인 표현형들과 유의한 관련성이 있는 지를 조사한 것으로서, 이에 다음과 같은 결론을 도출하였다. 첫째, 사립체 DNA에 존재하는 5종류의 다형성들 (*Bam* HI, *Kpn* I, *Hinc* III, *Hinc* II2, *Nci* I) 중에서 *Bam* HI 및 *Nci* I에 의한 다형성들을 제외한 나머지 3종류의 다형성들 (*Kpn* I, *Hinc* III, *Hinc* II2)에서 비교적 높은 유전자 다양성을 나타내어 임상적인 관련성 분석에 사용할 수 있었다. 둘째, 임상적인 관련성 분석 결과, *Kpn* I 다형성의 경우에는 대립 유전자들이 운동 선수군에서 확장기 혈압 값과 유의한 관련성을 나타내었다 (Student's t-test, $t = 2.149$, $df = 155$, $P = 0.033$).

REFERENCES

- Aderson S, Bankier AT, Barrell BG, Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Stinger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of human mitochondrial genome. Nature 1981. 290: 457-465.
- Bae JS, Kang BY, Kim KT, Shin JH, Lee CC. Association study on the genetic variation of the dopamine D1 receptor gene in Korean essential hypertensives. Korean J Genet. 2001. 23: 221-226.
- Bouchard C, Chagnon M, Thibault MC, Boulay MR, Marcotte M, Cote C, Simoneau JA. Muscle genetic variants and relationship with performance and trainability. Med Sic Sports Exerc 1989. 21: 71-77.
- Bouchard C, Rankinen T, Chagnon YC, Rice T, Perusse L, Gagnon J, Borecki I, An P, Leon AS, Skinner JJ, Wilmore JH, Province M, Rao DC. Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE family study. J Appl Physiol. 2000. 88: 551-559.
- Chen Q, Ma LH, Chen JQ. Analysis on genetic polymorphism of

- mtDNA in endurance athletes and sedentary subjects. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2000. 16: 327-330.
- Dionne FT, Turcotte L, Thibault MC, Boulay MR, Skinner JS, Bouchard C. Mitochondrial DNA sequence polymorphism, VO_{2max} , and response to endurance training. *Med Sci Sports Exerc*. 1991. 23: 177-185.
- Friedewald WT, Levy RI, Friedrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972. 18: 499-502.
- Gayagy G, Yu B, Hambly B, Boston T, Hahn A, Celermajer DS, Trent RJ. Elite endurance athletes and the ACE I allele: the role of genes in athletic performance. *Hum Genet*. 1998. 103: 48-50.
- Kokaze A, Ishikawa M, Matsunaga N, Yoshida M, Sekine Y, Sekiguchi K, Satoh M, Harada M, Teruya K, Takeda N, Uchida Y, Tsunoda T, Takashima Y. Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism modulates effects of daily drinking and cigarette consumption on serum triglyceride levels in middle-aged Japanese men. *Exp Gerontol*. 2003. 38: 1071-1076.
- Kokaze A, Ishikawa M, Matsunaga N, Yoshida M, Sekine Y, Teruya K, Takeda N, Sumiya Y, Uchida Y, Takashima Y. Association of mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism with serum lipid levels in Japanese population. *Hum Genet*. 2001. 109: 521-525.
- Lutz S, Weisser HJ, Heizmann J, Pollak S. Location and frequency of polymorphic positions in the mtDNA control region of individuals from Germany. *Int J Legal Med*. 1998. 111: 67-77.
- Mastana S, Nunn J. Angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism is associated with hypertension in a Sikh population. *Hum Hered*. 1997. 47: 250-253.
- Murakami H, Ota A, Simojo H, Okada M, Ajisaka R, Kuno S. Polymorphisms in control region of mtDNA relates to individual difference capacity or trainability. *Jpn J Physiol*. 2002. 52: 247-256.
- Murakami H, Soma R, Hayashi J, Katsuta S, Matsuda M, Ajisaka R, Okada M, Kuno S. Relationship between Mitochondrial DNA polymorphism and the individual differences in aerobic performance. *Jpn J Physiol*. 2001. 51: 563-568.
- Rankinen T, Perusse L, Borecki I, Chagnon YC, Gagnon J, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C. The Na^+K^+ -ATPase $\alpha 2$ gene and trainability of cardiorespiratory endurance: the HERITAGE family study. *J Appl Physiol*. 2000a. 88: 346-351.
- Rankinen T, Perusse L, Gagnon J, Chagnon YC, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE family study. *J Appl Physiol*. 2000b. 88: 1029-1035.
- Rivera MA, Wolfarth B, Dionne FT, Chagnon M, Simoneau JA, Boulay MR, Song TM, Perusse L, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Keul J, Bouchard C. Three mitochondrial DNA restriction polymorphisms in elite endurance athletes and sedentary control. *Med Sci Sports Exerc*. 1998. 30: 687-690.
- Rivera MA, Dionne FT, Simoneau JA, Perusse L, Chagnon M, Chagnon Y, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Muscle-specific creatine kinase gene polymorphism and VO_{2max} in the HERITAGE family study. *Med Sci Sports Exerc*. 1997. 29: 1311-1317.
- Wolfarth B, Rivera MA, Oppert JM, Boulay MR, Dionne FT, Chagnon M, Gagnon J, Chagnon Y, Perusse L, Keul J, Bouchard C. A polymorphism in the α_2a -adrenoceptor gene and endurance athlete status. *Med Sci Sports Exerc*. 2000. 32: 1709-1712.