

한국인 다낭성난소증후군 환자에서 미토콘드리아 DNA Copy 수의 정량적 분석

포천중문의대 차병원 여성의학연구소 산부인과학교실¹,
보건복지부지정 생식의학 및 불임 유전체 연구 센터²

박지은² · 장민희² · 조성원² · 김유신¹ · 원형재¹ · 조정현¹ · 백광현¹ · 이숙환^{1,2}

Mitochondrial DNA Copy Number in the Patients of Korean Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

Ji-EunPark², Min-Hee Jang², Sung-Won Cho², Yoo-Shin Kim¹, Hyung-Jae Won¹,
Jung-Hyun Cho¹, Kwang-Hyun Baek¹, Sook-Hwan Lee^{1,2}

¹Fertility Center of CHA General Hospital, ²CHA Research Institute, Pochon CHA University,
"Genome Research Center for Infertility and Reproductive Medicine" of Korea Ministry of Health & Welfare

Objective: We analyzed quantification of mitochondria DNA (mtDNA) to investigate the relationship of mitochondria and pathogenesis of PCOS.

Materials and Methods: Peripheral blood samples were collected from 28 patients with PCOS who were under the inclusion criteria for PCOS and from 28 healthy controls. Genomic DNA was used to analyze real-time PCR for mtDNA copy number quantification. The mtDNA copy number was compared between the control and PCOS groups. All data was expressed as mean \pm SD. Statistical analysis was assessed by t-test.

Results: In this study, the mtDNA C_T was 11.67 \pm 0.422 in PCOS patients and 11.51 \pm 0.722 in control group, respectively. The mtDNA copy number was 1726410.71 \pm 407858.591 the patients of in PCOS and 2167887.51 \pm 252459.28 in control group (p=0.08), respectively.

Conclusion: In our study, using real-time PCR, there was a tendency of lower mtDNA copy number in the patients of PCOS when comparing to the control group even though statistical difference was not significant. However, more extensive analysis is required to clarify relationship between mtDNA copy number and pathogenesis of PCOS.

Key Words: PCOS, Mitochondria, Real-time PCR

다낭성난소증후군은 가임기여성에서 아주 흔하고 복잡한 내분비 질환의 하나로써 전체 가임기여성의 5~10%의 빈도를 나타내고 우리나라 여자대학생의 4.9%가 PCOS를 가지고 있다는 보고도 있다.¹⁻³ 2003년 ASRM/ESHRE Rotterdam consensus에서는 PCOS revised diagnostic criteria로 희발월경 내지는

무월경 임상적 또는 생화학적 검사상의 고안드로젠 혈증 그리고 초음파상 다낭성난포 형태의 난소 중 2가지를 만족하는 경우로 발표하였다.⁴

다낭성난소증후군의 임상증상은 무배란, 생리불순, 비만 그리고 제2형 당뇨의 높은 빈도를 들 수 있다.⁵⁻⁹ 그래서 미국에서는 당부하 장애의 원인 중 20%

주관책임자: 이숙환, 우) 135-907 서울특별시 강남구 역삼1동 606-5, 차병원 산부인과, 유전학연구소, 생식의학 및 불임 유전체 연구 센터 Tel: (02) 3468-3403, Fax: (02) 3468-3464, e-mail: dnalee@nuri.net

*본 연구는 2006년 대한불임학회 추계학술대회 구연상을 수상하였음.

**이 논문은 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (A010382).

가 PCOS라는 보고도 있다.⁶ 다낭성난소증후군의 발생에는 유전적 요인이 관여하고 있음이 보고 되어 왔으며 최근에는 CYP11a, CYP17 유전자 그리고 인슐린 수용체 유전자 (Insulin receptor gene)와 같은 몇몇 후보 유전자들이 제시되었다. 그러나 PCOS의 유전적인 기전은 아직까지 불분명하다.

인간 미토콘드리아는 원형으로 16.6 kb의 크기를 가지며, ATP의 주 공급원인 호흡사슬 복합체 (respiratory chain complex)의 13개 필수 아단위를 부호화한다.¹⁰⁻¹¹ Mitochondria DNA (mtDNA) copy 수는 해당 세포의 에너지 수요에 따라 매우 큰 차이를 보이며,¹² 태아 발달 단계에서 정교하게 조절된다.¹³ mtDNA copy 수는 세포당 약 $10^2 \sim 10^4$ 로 그 차이가 매우 크다. 이처럼 세포 내 호흡과 에너지 대사의 주요 기관인 미토콘드리아가 최근에는 mtDNA copy 수가 난자의 수정능력에도 직접적인 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있으며, 미토콘드리아가 세포소멸 (apoptosis) 조절에 중요하게 작용한다는 사실이 규명되어 있다.¹²⁻¹⁴ 세포소멸이 일어날 때 미토콘드리아는 전자운송, 에너지 대사 ATP 생성의 방해, 세포의 산화 환원 전위변화, 카스페이즈 (Caspase) 활성화 단백질 등 의 기전에 의해 세포소멸을 조절한다. 그러나 이 현상은 당뇨의 매우 적은 부분에서 만이 설명이 된다. 질적인 변화에 더하여 미토콘드리아 DNA의 양적인 변화 또한 산화적 스트레스에 의하여 일어난다. 산화적 글루코스 대사에서의 미토콘드리아의 중요한 역할과 당뇨로 인하여 일어나는 산화적 스트레스 증가는 질적이고 양적인 미토콘드리아 DNA의 변화가 생길 것이라는 것을 예상할 수 있다. 그래서 본 연구에서는 우선 제2형 당뇨의 위험도가 높은 PCOS 환자에서 mtDNA copy 수가 정상 대조군과 어떤 차이가 있는지를 비교하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

이 연구의 대상은 모두 한국인여성으로, 28명의 다낭성난소증후군 환자군과 다낭성난소증후군과 비슷한 연령의 정상 대조군 여성 28명을 대상으로 하였다. 다낭성난소증후군의 진단은 2003년 ASRM/ESHRE Rotterdam consensus를 통해 설정된 진단분

류에 따라 (1) 희발월경 내지는 무월경, (2) 임상적 또는 생화학적 검사상의 고안드로겐혈증, (3) 초음파상의 다낭성난소의 세 가지 기준 중 2가지를 만족하는 경우를 기준으로 하였다.

2. 연구 방법

1) 혈액 채취

환자군과 대조군 각 28명을 대상으로 좌상완 전박부에서 정맥 전혈 5 ml를 채취한 후 15% EDTA 100 μ l Vacutainer[®] 관에 수집하였다.

2) Genomic DNA 추출

채취한 정맥혈 5 ml를 15 ml 원심분리관에 담은 후, 10 mM Tris-HCl [pH 7.6], 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA가 포함된 저염 완충액 (TKM1) 5 ml를 첨가 하였다. 세포 용해를 위하여 non-diet P-40 (NP-40, Sigma) 125 μ l를 첨가하고 뒤집으면서 잘 섞은 후, 실온에서 10분 동안 2,200 rpm으로 원심분리 하였다. 상층액을 조심스럽게 걷어내고, nuclear pellet만을 남긴 후 TKM1 완충액 5 ml로 세척하였다. 실온에서 10분 동안 2,200 rpm으로 원심분리 한 후, 10 mM Tris-HCl [pH 7.6], 10 mM KCl, 10 mM MgCl₂, 0.4 M NaCl, 2 mM EDTA가 포함된 고염 완충액 (TKM2) 0.8 ml로 조심스럽게 현탁하였다. 10% SDS 50 μ l를 첨가한 뒤 pipet을 이용하여 전체 현탁 액을 골고루 섞은 후, 37°C에서 밤새 반응시켰다. 용액을 15 ml 관에 옮긴 후, 6 M NaCl 0.3 ml를 첨가하고 잘 섞고, 실온에서 미세원심분리기를 이용하여, 10분 동안 12,000 rpm으로 원심분리 하였다. DNA를 포함한 상층액만 남기고, 단백질 결정소구 (protein pellet)는 버린 후, 실온에서 전체 양의 2배의 100% 에탄올을 첨가하고, DNA가 침전될 때까지 관을 수 차례 뒤집어주었다. 침전된 DNA strands를 수확하여 ice-cold 70% 에탄올 1 ml가 들어있는 e-tube에 옮긴 후, 4°C에서 5분간 12,000 rpm으로 원심분리 하였다. 상온에서 pellet을 건조한 후, DNA를 10 mM Tris-HCl [pH 8.0], 1 mM EDTA 완충액에 50°C에서 밤새 재현탁하고, 사용 전까지 -20°C에 보관하였다.

3) Standard Curve 작성 및 실시간 중합효소 연쇄반응

먼저 External standard curve를 얻기 위하여 미토

콘드리아의 16S ribosomal RNA 부위를 PCR로 증폭을 하여 클로닝 하였고, 이를 염기서열 확인하였다. Cloning된 16S rRNA를 이용하여 $10^1 \sim 10^6$ 까지 copies로 standard curve를 그리고, 이를 토대로 PCOS 환자의 미토콘드리아의 initial quantity 계산을 하였다. 연구에 사용된 시발체 (primer)인 mtDNA-specific probe의 염기서열은 forward는 5'-ACGACC-TCGATGTTGAATC-3'로 reverse는 5'-GCTCTGCCA-TCTTAACAAACC-3'으로 제작하고, 5' 말단과 3' 말단을 각각 5-carboxyfluorescein (FAM) reporter와 6-carboxy-tetramethyl-rhodamine (TAMRA) quencher로 표지하여 5'-FAM-TTCAGACCCGGAGTAATCCAGGT-CG-TAMRA-3'으로 제작하였다. 연구에 사용된 시발체와 FAM-labeled TaqMan[®] 소식자 (probe)는 Primer Express[®] software version 2.0 (Applied Biosystems Inc., CA, USA)을 이용하여 디자인하였다. mtDNA 시발체의 염기서열은 Human Mitochondrial DNA Revised Cambridge Reference Sequence를 참조하였다.

3. 통계분석

연구결과의 통계분석은 t-test를 이용하였으며, p 값이 0.05 미만인 경우 통계적 유의성이 있다고 하였다.

결 과

다낭성난소증후군 환자의 평균연령은 32.5 ± 3.1 세이며 정상 대조군은 29.4 ± 4.8 세로 비슷하였고, 체질량지수 (BMI)는 다낭성난소증후군은 $21.65 \pm 3.44 \text{ kg/m}^2$ 으로 정상 대조군 $20.09 \pm 2.18 \text{ kg/m}^2$ 으로 모두 정상범주에 드는 것으로 나타났다. 환자군과 대조군의 여러 가지 임상적 호르몬검사 소견은 Table 1에 기록된 바와 같으며, 결과의 유의한 차이는 없었으나 혈중 황체형성호르몬 (LH), DHEAS, 테스토스테론 등은 다낭성난소증후군 환자군에서 약간 높은 경향을 보였다. 실시간 중합효소 연쇄반응 결과

Table 1. General characteristics of control and PCOS groups

	PCOS	Control
Number	28	28
Age	32.5 ± 3.1	29.4 ± 4.8
Hyperandrogenism and oligomenorrhea	2 (7.1%)	0
Hyperandrogenism and polycystic ovary	21 (75.0%)	0
Hyperandrogenism, oligomenorrhea or amenorrhea and polycystic ovary	5 (17.8%)	0
Body Mass Index	21.65 ± 3.44 (41.70~33.01)	20.09 ± 2.18 (14.28~29.43)
FSH (mIU/ml)	5.35 ± 1.25 (1.00~7.80)	5.89 ± 2.14 (2.98~14.56)
LH (mIU/ml)	6.39 ± 3.48 (1.00~21.08)	3.23 ± 1.64 (1.10~6.89)
DHEAS ($\mu\text{g/dl}$)	169.83 ± 61.84 (80.29~398.29)	152.44 ± 62.25 (52.58~302.00)
Testosterone (mg/ml)	0.43 ± 0.17 (0.12~0.79)	0.21 ± 0.13 (0.01~0.62)
Glucose (mg/dl)	87.24 ± 11.73 (69.96~128.00)	90.23 ± 11.28 (71.00~122.00)
Insulin ($\mu\text{IU/ml}$)	11.17 ± 3.96 (5.12~20.00)	11.78 ± 5.89 (3.98~32.48)

Table 2. mtDNA copy number in PCOS patients

	No.	Average (C_T)	SD (C_T)	Average (copies)	SD (copies)
Control	28	11.51	0.722	2,167,887.50	1,252,459.28
PCOS	28	11.67	0.422	2,167,887.50	407,858.591

PCOS 환자의 C_T 값은 11.67 ± 0.422 , 대조군의 C_T 값은 11.51 ± 0.722 로 나타났으며, mtDNA copy 수는 PCOS 환자에서 $1726410.71 \pm 407858.591$, 대조군은 2167887.5 ± 1252459.28 으로 mtDNA copy 수의 유의한 차이 ($p=0.08$)는 없었다 (Table 2).

고 찰

본 연구에서는 다낭성난소증후군 환자 혈액에서 미토콘드리아 DNA copy 수를 실시간 중합효소 연쇄반응을 이용하여 정량적으로 분석하고 다낭성난소증후군 환자와 미토콘드리아 DNA copy 수를 본 결과 다낭성난소증후군 환자와 정상 대조군 사이에서는 유의한 결과가 없음을 나타내었다.

다낭성난소증후군은 가임기여성에서 5~10%의 빈도로 아주 흔하게 나타나는 내분비 질환으로 내분비계 및 대사계에 다양한 임상양상을 나타낸다. 이러한 다낭성난소증후군은 유전적인 소인이 질환의 근본적인 원인으로 생각되며, 다낭성난소증후군 환자에서 가족력이 높게 나타나는 것은 이 질환의 유전적인 성향을 뒷받침한다.

세포 내에서 ATP를 생산하는 중요한 소기관인 미토콘드리아의 유전자 이상이 모계 유전성 당뇨병의 발생과 밀접하게 관련되어 있음은 잘 알려져 있다. 미토콘드리아의 양의 변화와 당뇨병과의 관계를 분석한 많은 보고가 있으며, 이들과 관련한 보고에서는 임신성 당뇨병환자의 혈액에서 미토콘드리아 DNA copy 수를 실시간 중합효소 연쇄반응을 이용하여 정량적으로 분석하고 임신성 당뇨병환자와 미토콘드리아 copy 수가 연관이 있음을 보고 하였다.¹⁵ 그리고 제2형 당뇨병환자의 골격근에서도 미토콘드리아 DNA의 양적인 감소의 발견이 보고 되었다.^{16,17}

본 실험에서 사용한 실시간 중합효소 연쇄반응법에서 반응산물의 특성은 실험완료 후 반응산물의 양 (Rn)이 일정기준, 즉 역치 (threshold)를 초과하기 시작하는 시점의 사이클 수 (C_T)로 표현된다. 따라서 시료를 단계적으로 희석한 표준곡선 (standard curve)에 의거하여 그래프를 작성하고, 이를 토대로 목적의 DNA (target DNA)의 양이 역치의 사이클 값 (C_T)을 가지고 다낭성난소증후군 환자의 미토콘드리아 copy 수를 구하였다. 미토콘드리아 3243 부위의

점 돌연변이는 당뇨의 가장 중요한 유전적인 원인으로 알려져 있다. 모계로 유전되는 청력손실을 동반한 당뇨병에서 미토콘드리아 DNA 결손이 발견되었고 최근에는 모계 유전양상의 당뇨병 환자의 가계에서 미토콘드리아 DNA 3243 염기의 A에서 G로의 점 돌연변이가 전세계적으로 다양한 종족에서 관찰되고 있다.¹⁸⁻²⁰ 우리나라에서도 Chang et al (2005)의 연구에서 임신성 당뇨병환자 68명 중에서 1명 (1.47%)의 환자의 혈구세포에서 이 돌연변이와 함께 청각장애를 겪고 있다고 보고 하였다.¹⁵ 다낭성난소증후군은 흔히 비만을 나타내나 동반되지 않는 경우도 있고 특징적인 인슐린 저항성과 고인슐린혈증을 동반한다. Lee et al (2006)는 우리나라 다낭성난소증후군 환자에서 인슐린 수용체 유전자의 exon 17에서 C, T 다형성의 대립유전자 빈도를 보았을 때 CC, CT, TT 유전자형 빈도가 양쪽군에서 유의한 차이가 없었다.²¹ 이 결과는 기존의 T allele의 빈도가 PCOS 환자에서 유의하게 높다는 보고들과는 상이한 내용이다.¹⁰ 다낭성난소증후군의 후보 유전자좌 (genetic locus)로 알려진 CYP17 유전자는 P45017 α 를 코딩하는 유전자로 염색체 10번에 위치하며 여덟 개의 엑손과 일곱개의 인트론으로 이루어져 번역 개시 위치 (Translation initiation site)로 부터 -34 bp 위치에서 T→C로의 다형성이 있음이 알려져 있다. Diamanti-Kandarakis et al (1999)는 그리스에서 50명의 백인여성을 대상으로 CYP17 유전자의 다형성을 조사한 결과, 정상인에서는 A2A2 (C allele) 유전자형이 없었으나 다낭성난소증후군 환자군에서 8%로 나타나 통계적인 차이를 보였으며, 혈중 테스토스테론의 농도도 A2A2군에서 더 높다고 하였다.²² 그러나 Marszalek (2001) 등은 같은 백인을 대상으로 한 연구에서 정상 대조군과 다낭성 환자군간에 CYP17 유전자형의 차이가 없었으며, 유전자형에 따른 호르몬 농도도 다르지 않다고 보고 하였다.²³ 또한 Lim et al (2002)의 결과에서도 우리나라 다낭성난소증후군 환자에서 CYP17 유전자의 allele 유전자형과 각 유전자형의 빈도가 다낭성난소증후군 환자에서 A2A2 유전자형의 빈도는 33%로 Marszalek et al과 동일한 결과를 보여 주었다.²⁴ CYP11 α 유전자의 전사 시작 부위에서 528 bp 상방에 위치한 (ttta)n microsatellite 다형성이 다낭성난소증후군 및 고안드로겐혈증과

연관이 있다고 보고 되어, 다낭성난소증후군의 주요 감수성 유전자 부위 (susceptibility locus)로 제시되었다.²⁵⁻²⁷ CYP11 α 유전자의 promoter 부위에는 CYP11 α 유전자의 전사를 증가시키거나 감소시키는 다양한 camp-regulated elements들이 존재하는 것으로 밝혀졌다.²⁸ Lim et al (2002)은 CYP11 α gene의 5' regulatory region에 존재하는 tttta microsatellite polymorphism 유전자형 분석을 해 본 결과 PCOS 환자의 77%가 216 positive pattern을, 23%가 216 negative pattern을 보여 기존 외국의 보고와도 일치함을 보였다.²⁴ 앞서 말한 것과 같이 지금까지 연구에서 연구자 마다 서로 결과가 달라 연관성에 대하여 명확한 결론을 내리기는 쉽지 않다. 다낭성난소증후군의 병인에는 상당히 복합적인 요소가 있다. 그 다양한 요소들 중 지역적, 인종적, 그리고 유전적 변이가 많은 작용을 한다. 본 연구에서는 다낭성난소증후군 환자와 정상 대조군 사이에서 mtDNA copy 수가 유의한 차이가 없었으나, 앞으로 여러 인종에서 많은 다낭성난소증후군 환자를 대상으로 연구하여야 될 것으로 사료되는 바이다.

참 고 문 헌

1. Carmina E, Lobo RA. Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1897-9.
2. Futterweit W. Polycystic ovary syndrome : clinical perspectives and management. *Obstet Gynecol Surv* 1999; 54: 403-13.
3. Byun E, Kim HJ, Oh JY, Hong YS, Sung YA. The prevalence of polycystic ovary syndrome in college students from Seoul. *J Kor Soc Endocrinol* 2005; 20: 120-6.
4. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004; 81: 19-25.
5. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hyperandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocrinol Rev* 1995; 16: 322-53.
6. Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome (a prospective, controlled study in 254 affected women). *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 165-9.
7. Calvo RM, Telleria D, Sancho J, San Millan JL, Escobar-Morreale HF. Insulin gene variable number of tandem repeats regulatory polymorphism is not associated with hyperandrogenism in Spanish women. *Fertil Steril* 2002; 77: 666-8.
8. Ehrmann DA, Tang X, Yoshiuchi I, Cox NJ, Bell GI. Relationship of insulin receptor substrate-1 and -2 genotypes to phenotypic features of polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4297-300.
9. San Millan JL, Corton M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2640-6.
10. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290(5806): 457-65
11. Seifer DB, Gardiner AC, Ferreira KA, Peluso JJ. Apoptosis as a function of ovarian reserve in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996; 66(4): 593-8.
12. Trounce I, Byrne E, Marzuki S. Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1989 25; 1(8639): 637-9.
13. Cavelier L, Johannisson A, Gyllensten U. Analysis of mtDNA copy number and composition of single mitochondrial particles using flow cytometry and PCR. *Exp Cell Res* 2000; 259: 79-85.

14. Piko L, Taylor KD. Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early mouse embryos. *Dev Biol* 1987; 123: 364-74.
15. Chang SW, Lee SH, Jun HS, Kwack K, Cho SW, Jeong HJ, et al. The quantitative analysis the number of mitochondrial DNA copy using real-time PCR and mitochondrial tRNA mutation analysis at position 3243 in Korean gestational diabetes mellitus. *Kor J Obstet Gynecol* 2005 48(4): 978-86.
16. Song J, Oh JY, Sung YA, Pak YK, Park KS, Lee HK. Peripheral blood mitochondrial DNA content is related to insulin sensitivity in offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2001 May; 24(5): 865-9.
17. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002 Oct; 51(10): 2944-50.
18. Readson W, Ross RJM, Sweeney MG, Luxon LM, Pembrey ME, Harding AE, Trembath RC. Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. *Lancet* 1992; 340: 1376-9.
19. Kadowaki H, Kodowaki H, Mori Y, Tobe K, Sakuta R, Suzuki Y, Tanabe Y, Sakura H, Awata T, Goto Y, Hayakawa T, Matsuoka K, Kawamori R, Kamada T, Horai S, Nonaka I, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y. A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation of mitochondrial DNA. *New Engl J Med* 1994; 330: 962-8.
20. Yanagisawa K, Uchigata Y, Sanaka M, Sakura H, Minei S, Shimizu M, Kanamuro R, Kadowaki T, Kadowaki T, Omori Y. Mutation in the mitochondrial tRNA leu at position 3243 and spontaneous abortions in Japanese women attending a clinic for diabetic pregnancies. *Diabetologia* 1995; 38(7): 809-15.
21. Eung-Ji Lee, Kyong-Jai Yoo, So-Jeong Kim, Sook-Hwan Lee, Kwang Yul Cha, Kwang-Hyun Baek. Single nucleotide polymorphism in exon 17 of the insulin receptor gene is not associated with polycystic ovary syndrome in a Korean population. *Fertil Steril* 2006; 86(2): 380-4.
22. Diamanti-Kandarakis E, Bartzis MI, Zapanti ED, Spina GC, Filandra FA, Tsianateli TC, Bergiele AT and Kouli CR Polymorphism T→C (-34 bp) of gene CYP17 promotor in Greek patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1999; 71: 431-5.
23. Marszalek B, Lacinski M, Babych N, Capla E, Biernacka-Lukanty J, Warenik-Szymankiewicz A, et al. Investigations on the genetic polymorphism in the region of CYP17 gene encoding 5'-UTR in patients with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15: 123-8.
24. Lim SK, Kim MS, Lee SH, Baek KH. Polymorphism of CYP17 and CYP11 α for Polycystic Ovary Syndrome in a Korean Population. *Kor J Gene* 2002; 24(4): 343-8.
25. Franks S, Gharani N, Waterworth D, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997; 12: 2641-8.
26. Gharani N, Waterworth DM, Batty S, et al. Association of the steroid synthesis gene CYP11 α with polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. *Hum Mol Genet* 1997; 6(3): 397-402.
27. Kandarakis ED, Bartzis MI, Bergiele AT, et al. Microsatellite polymorphism (ttta) $_n$ at 528 base pairs of gene CYP11 α influences hyperandrogenemia in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 735-41.
28. Moore CCD, Brentano ST, Miller WL. Human P450-scc gene transcription is induced by cyclic AMP and repressed by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and A23817 through independent cis elements. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 6013-23.

= 국문초록 =

목적: 제2형 당뇨의 위험도가 높은 PCOS 환자와 미토콘드리아와의 연관성을 보기 위하여 mitochondria DNA copy 수를 알아보고자 하였다.

연구방법: 연구대상자는 ESHRE의 진단 기준을 만족하는 다낭성난소증후군 여성 28명과 연령이 비슷하며 규칙적인 생리를 하는 여성 28명의 대조군을 대상으로 하였다. 연구대상자들의 genomic DNA는 혈액에서 추출하였으며, 미토콘드리아의 ribosomal RNA 부위를 중합효소 연쇄반응을 통해 증폭한 후 클로닝 하여 표준곡선을 작성한 후, 이를 토대로 다낭성난소증후군 환자의 미토콘드리아 initial quantity를 계산하였다.

결과: Real-time PCR 결과 다낭성난소증후군 환자의 mtDNA copy 수는 $2,167,887.50 \pm 1,252,459.28$, 정상 대조군은 $1,726,410 \pm 407,858.519$ 으로 다낭성난소증후군 환자에서 약간 감소하였으나 유의한 차이는 없었다 ($p=0.08$).

결론: 본 연구에서는 다낭성난소증후군 환자의 혈액에서 mtDNA copy 수를 조사한 결과, 정상 대조군과 다낭성난소증후군 환자 사이에서 mtDNA copy 수의 유의한 차이가 없었다. 다낭성난소증후군의 병인에는 상당히 복합적인 요소가 있는 것으로 보여지며 그 중 인종적, 지역적 그리고 유전적인 변이가 있는 것으로 보이기 때문에 앞으로 여러 인종에서 더 많은 다낭성난소증후군 환자를 대상으로 연구하여야 될 것으로 사료되는 바이다.

중심단어: 다낭성난소증후군, 미토콘드리아, 실시간 중합효소 연쇄반응