

## 남녀 노인층에서 Alzheimer 위험 예측 인자로써의 Apo E4 Genotype에 관한 연구\*

오현희<sup>1)</sup> · 신은정<sup>1)2)</sup> · 김현숙<sup>3)</sup> · 임운숙<sup>4)</sup> · 박미영<sup>2)5)</sup> · 김꽃별<sup>2)</sup> · 김은미<sup>3)</sup> · 이명숙<sup>1)2)§</sup>

성신여자대학교 가족건강복지센터 영양의학실,<sup>1)</sup> 성신여자대학교 생활과학대학 식품영양학과,<sup>2)</sup>  
숙명여자대학교 식품영양학과,<sup>3)</sup> 경희대학교 생활과학대학 식품영양학과,<sup>4)</sup>  
서울의료원 부설연구소 임상의학연구소<sup>5)</sup>

### Apo E4 Genotype as the Alzheimer Indicator in Korean Senior Subjects Aged 50 to 64 Years Old\*

Oh, Hyunhee<sup>1)</sup> · Shin, Eunjung<sup>1)2)</sup> · Kim, Hyunsook<sup>3)</sup> · Lim, Yunsook<sup>4)</sup>  
Park, Miyoung<sup>2)5)</sup> · Kim, Kkochbyul<sup>2)</sup> · Kim, Eunmee<sup>3)</sup> · Lee, Myoungsook<sup>1)2)§</sup>

Department of Food & Nutrition,<sup>1)</sup> Family Health and Welfare Center (FHWC),  
Sungshin Women's University, Seoul 136-742, Korea

Department of Food and Nutrition,<sup>2)</sup> Sungshin Women's University, Seoul 136-742, Korea

Department of Food and Nutrition,<sup>3)</sup> Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Department of Food and Nutrition,<sup>4)</sup> Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

Division of Clinical Research,<sup>5)</sup> Seoul Medical Center Research Institute, Seoul 135-740, Korea

#### ABSTRACT

Recent studies described the  $\epsilon 4$  allele of apoE confers a two-to fourfold increased risk for late-onset Alzheimer's disease (LOAD), but LOAD pathology does not all fit neatly around apo E. Therefore, the goal of this study was to find the association between Alzheimer and apo E4 genotype in the 107 elderly between 50 to 64 years old who visited to FHWC of Sungshin Women's University. We conducted the questionnaire survey (general & 24 hr dietary recall), anthropometrics (BP, waist & BMI) and blood biochemistry (FBS & lipid profiles). LDL-c and HOMA-IR were calculated by Friedwald's and Matthew's formulas. The apo E genotyping was performed by PCR-RFLP method and subjects were divided into three allele groups ( $\epsilon 3$ ; wild,  $\epsilon 2$  &  $\epsilon 4$ ; mutants). The apo E allele frequencies were 7.0% for the  $\epsilon 2$ , 83.6% for the  $\epsilon 3$  and 9.3% for the  $\epsilon 4$ . In comparison with biochemistry characteristics by apo E genotype, FBS was significantly higher in  $\epsilon 4$  ( $129.2 \pm 6.8$ ) than that in the others ( $\epsilon 2$ :  $117 \pm 7.4$ ,  $\epsilon 3$ :  $107.3 \pm 2.2$ ) ( $p < 0.01$ ). More than forty percents of  $\epsilon 4$  group shown the dyslipidemia [high TG ( $> 150$  mg/dl) & low HDL ( $< 40$  mg/dl: ♂ or  $< 50$  mg/dl: ♀)]. The cytokines levels such as IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  were not different among three apoE alleles. After the adjusting sex, age & dietary fiber, LDL-c level was significantly higher in  $\epsilon 4$  ( $108.3 \pm 7.7$ ) than that in  $\epsilon 2$  ( $100.4 \pm 8.4$ ) ( $p < 0.05$ ). According to food intake and the recipe on the basis of 24 hr dietary recall, the elderly with  $\epsilon 4$  allele took higher intake frequency of the light-colored vegetable (radish, onion & cabbage) and pan-fried foods (sauteed beef and vegetables, stir-fried vienna with vegetables) than the others. We knew that the elderly with  $\epsilon 4$  allele had been restricted the calories intakes with high dietary fiber ( $33.6 + 2.5$  g/d) to maintain the normal level of FBS and LDL-c. On next study, the prevalence of Alzheimer's disease in this population who has  $\epsilon 4$  allele on the condition of calories restriction will be continually follow-up. (*Korean J Nutr* 2007; 40(7): 593~600)

**KEY WORDS** : Alzheimer, apo E genotype, PCR-RFLP, dyslipidemia, cytokine.

접수일 : 2007년 10월 1일

채택일 : 2007년 10월 18일

\*This study was supported by a grant of the Seoul R & BD Program, Republic of Korea(10526). This work was supported by researches committed of Sungshin women's university, in which main fund from the Ministry of Education & Human Resources Development.

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : mlee@sungshin.ac.kr

## 서론

한국인의 10대 사망 원인 중 1위는 28%를 차지하고 있는 뇌혈관질환이라고 보고되었다(통계청, 2000). 이중 알츠하이머성 치매는 뇌의 위축과 대뇌의 신경세포가 사멸하는 병리학적 증후를 나타내는 것으로,<sup>1)</sup> 한국 등 아시아에서 높은 발병률을 나타내고 있다. 뇌혈관질환 중 치매의 발병은 연령에 따라 상관성을 나타내며, 여성이 남성에 비해 1.5~2.5배 높게 나타나고, 남성은 뇌혈관성 치매가 여성은 알츠하이머성 치매의 발병률이 높다고 연구되었다.<sup>2)</sup> 치매는 다른 노인성 질환에 비해 치료가능성이 매우 낮으며, 집중적이고 장기적인 간호와 수발을 필요로 한다. 치매노인의 부양부담이 가족부양자들의 우울 정도와 상관관계가 있다는 연구와 치매부양자들의 가족갈등이 치매노인환자의 발생률 시점으로 시작되어 치매 질병이 악화될수록 가족구성원과 주부양자간의 갈등이 더욱 심화된다는 연구를 보더라도 치매는 환자 자신은 물론 그 가족들의 삶의 질을 가장 심하게 황폐화시키는 질환이므로 국민 복지를 위하여 최우선으로 해결해야 할 보건문제라 할 수 있다.<sup>3,4)</sup>

이러한 치매의 후기단계에 관여하는 유전적 요인으로서 일반적으로 신경세포를 발달시키고 혈류에서 콜레스테롤 운반체로서 역할을 하는 아포단백질 E (apo E) 유전자이다.<sup>5)</sup> Apo E 유전자의 다형성은 112번과 158번의 서열 차이로 인해 구성 아미노산의 net charge에 따라 negative한 순으로 3개의 isoform인  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ 로 구분된다. apo E 변이형의 아미노산 배열을 보면 apo E4형은 아르기닌이 apo E2형은 시스테인이 112와 158번에 위치한 반면, apo E3형은 112번에 시스테인이 158번에 아르기닌이 위치한다. 결과적으로 apo E4형과 apo E2형은 apo E3형에 비하여 양전하의 가감으로 charge difference를 형성하기 때문에 LDL 콜레스테롤 또는 E 수용체의 결합 영역과 결합능의 차이를 보이므로 혈청지질 제거율의 차이를 초래하게 된다. Apo E2는 수용체와 친화도가 낮기 때문에 apo E2 대립유전자를 가지고 있으면 apo E3을 가지고 있는 사람에 비해 혈장으로부터 apo E가 함유된 키로미크론과 초저밀도지단백의 잔유물 제거율이 감소하므로 혈중 중성지방과 apo E 단백질은 증가한다. 결국 간의 콜레스테롤 함량이 감소하므로 HMG-CoA 환원효소가 상향조절되거나 저밀도지단백 수용체의 활성도가 증가되므로 혈중 총 콜레스테롤 저밀도 지단백 콜레스테롤과 apo B는 감소한다. Apo E4 대립유전자를 가지고 있는 경우에는 apo E4를 함유한 지질단백 잔유물들의 수용체를 통한 섭취가 향진되어 세포 내 콜레스

테롤 저장고가 증가되므로 HMG-CoA 환원 효소와 간의 저밀도 지단백 수용체가 하향조절 된다. 따라서 혈중 총콜레스테롤, 저밀도지단백 콜레스테롤과 apo B가 증가되는 것이다. 이중에서도 특히 apo E4는  $\beta$ -amyloid를 축적시키며 neurofibrillary tangles를 형성시켜 치매를 유발하는 역할을 하는 것으로 알려졌다.<sup>6-8)</sup> Apo E4 동형접합체는 apo E3보다 노인반에서의 A $\beta$ ( $\beta$  peptide)의 양을 증가시키며, 혈관 축적을 야기시키고, LDL 수용체와 연계단백질인 LRP (LDL receptor related protein)이 apo E와 함께 노인반에 존재하고 있다.<sup>9)</sup> 뇌세포의  $\beta$ -아밀로이드는 노인반에서 apo E4의 역할 이전에 다양하게 제시되고 있다. 뇌에서 apo E는 astrocytes에서 합성되는데 이의 합성은 중추 및 말초 신경섬유를 손상시키며 특히 A $\beta$ P 축적은 신경조직을 손상시키는데 손상자리에 apo E4도 함께 축적되어 노인반을 형성하게 된다. 또 다른 기전으로는 apo E4 형이 plaque 형성을 촉진한다는 것으로 apo E는 LDL수용체와 LRP 모두에 결합하는데 뇌세포는 LDL 수용체보다 LRP가 더 많이 분포되어 있으며 이는 알츠하이머 질병 (AD)을 가진 환자의 노인반에도 잘 나타나 있다. 근본적으로 노인반은 AD의 진행과정에서 축적되는 것이 아니므로 apo E-A $\beta$ P 복합체가 LRP에 의해 중성구로부터 제거되고 apo E4형은 A $\beta$ P 복합체 형성 시 제거과정의 손상이나 apo E-A $\beta$ P 결합반응을 변화시킬 수 있다. Neurofibrillary Tangles의 기전은, 미세관과 연계된 단백질로 원형질 내에서 소기관의 구조적 안정화에 세포와 신경돌기간의 운반단백질로 작용하는 Tau가 단백질의 카복실기 말단에서 적어도 하나의 인산화자리를 가지고 있는데 AD환자에는 PHFs가 비정상적으로 7자리 이상 인산화되어 있어 AD가 발병하게 된다. 이와 같이 과잉으로 인산화 된 tau는 결합에 관여하지 않으며 마이크로튜블을 불안정화 시키고 tangle내에 tau가 과잉 존재하며 AD환자의 뇌에 엉켜있게 된다. Tau에 결합한 apo E는 주로 apo E3 형이며 apo E4형은 제외되고 오히려 apo E2형이 관여한다. 따라서 apo E3형이나 apo E2형은 과잉 인산화과정을 억제하여 neurofibrillary tangles 형성을 지연시키며 tau에 대한 apo E4형의 결합 불능이 비정상적인 인산화를 촉진하게 되는 것이다.

최근 연구에 의하면 apo E 중의 apo E4형은 알츠하이머 치매의 위험을 2~4배 정도 증가시키나 알츠하이머 치매라 해서 모두 apo E를 동반한 것은 아니라고 하였다.<sup>10)</sup> 2000년 인간 genome의 해독에 의해 과거 체질로 설명되었던 많은 부분들이 유전자들과의 관련성으로 밝혀진 후 유전자에 따른 영양소 반응차이, 약물 반응차이, 질병 발생양상의 변화 등을 추정 할 수 있게 되었고 이에 본 연구에서는 성신

여자대학교 가족건강복지센터를 방문하는 50~64세의 노인 107명을 대상으로 알츠하이머와 아포 E4형 간의 관련성을 찾아보고자 하였다.

## 연구방법

### 대상자의 선정

2006년 6월~2007년 3월까지 성신여자대학교 가족건강복지센터에서 모집한 노인 50~69세 이상의 남녀 노인 184명 중에서 동의서, 설문지, 식이조사, 인체계측 및 채혈을 모두 완료한 107명을 최종 분석 대상으로 하였다.

### 동의서 및 설문지 작성

연령, 직업, 참여 동기, 질병유무, 가족력, 질병에 대한 관심도, 약의 복용 등의 일반 설문과 음주, 흡연, 식습관, 24시간 회상법에 의한 식이조사 설문지 (1일)를 작성하였고 연구내용 및 목적에 관하여 충분히 설명 후 유전자연구동의서를 자발적으로 작성하도록 하였다.

### 신체계측

12시간 공복 후 편안한 마음과 복장의 차림으로 신장과 체중을 각각 2회씩 측정한 후 체질량지수 (BMI)를 산출하였고, 허리둘레는 배꼽을 중심으로 줄자를 수평으로 돌린 다음 앞 배에서 줄자를 포개어 눈금을 읽었다. 혈압은 안정된 상태를 취하게 한 후 자동혈압측정기를 이용하여 2회 측정 후 평균을 구하였다.

### 채혈과 혈액 검사

12시간 이상 공복 후 채혈하여 3,000 rpm에서 15분 원심분리 하여 혈청을 수집하고, 혈장은 DNA 추출을 위해 분석 전까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다. 공복시 혈당, 총 콜레스테롤 (Total Cholesterol, TC) 과 중성지방 (Triglyceride, TG), HDL-콜레스테롤 (High density lipoprotein-cholesterol, HDL)은 비색정량법 (enzymatic colorimetry, Bayer, Japan)을 이용하여 자동 생화학 분석기 (Bayer, USA)로 분석하였고 LDL-콜레스테롤과는 Friedwald formula [ $\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - (\text{TG}/5)$ ]의 공식에 의해 계산하였다. 인슐린 ( $\mu\text{IU}/\text{ml}$ )은 RIA법으로 정량하고 Matthewa 등<sup>11)</sup>의 공식에 의해 인슐린 저항성 지표인 Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR)을  $\text{fasting insulin } (\mu\text{IU}/\text{ml}) \times \text{fasting glucose } (\text{mmol}/\text{ml})/22.5$ 의 방법으로 계산하였다. HbA1c (%)는 전혈을 HPLC (Bio-rad, Germany)로 분석하였다. 면역관련 물질인 사이토카인 중에 interleukin-6 (IL-6), interleukin-1b

(IL-1b), tumor necrosis factor alpha (TNF  $\alpha$ )에 관한 분석은 ELISA (BioSource International, Inc. California, USA)방법에 의해 각각 450 nm에서 ELISA reader로 측정하였다.

### Apo E 유전자 다형성 분석

Hixon 등의 방법을 수정한 PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) 법<sup>12,13)</sup>에 의해 유전자의 다형성을 분석하였다. 혈액은 EDTA-tube에 채혈 한 후 QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 template DNA를 추출하고 TE buffer에 용해하여  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동고에 보관하였다. PCR반응은 DNA 주형과 100 pmol의 up, down primer (5'-CCA GTG GGC TGC CAG GGG-3', 5'-GCC AGT GGC GCC CAA CGG-3'), 0.25 mM dNTPs,  $10 \times$  PCR buffer,  $4 \times$  Magic buffer, 1 unit Taq DNA polymerase (KOMA Biotech Inc., Korea)을 혼합한 PCR 반응액을  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 전처리 과정 후  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 40초,  $67^{\circ}\text{C}$ 에서 40초,  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 40초간 반응시키는 과정을 35회 반복하고 최종적으로  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 확장하는 단계를 시행하여 PCR 최종 생산물을 얻었다. PCR 후 얻어진 산물 중 일부를 2% agarose gel에 전기영동 하여 400 bp에서 apoE 밴드를 확인하고 나머지 PCR 산물에 Hha I enzyme (New England BioLabs Inc.), 완충용액,  $10 \times$  BSA를  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 16시간 반응 후 4% Metaphor agarose gel에 전기영동하여 band를 확인하였다. 다형성 판독은 97 bp, 64 bp, 61 bp, 15 bp가 나타나면 apo E3형 (wild type), 158 bp, 97 bp, 64 bp, 61 bp, 15 bp는 apoE2형 (mutant type, homozygote), 158 bp, 64 bp, 15 bp는 apoE4형 (mutant type, homozygote)로 판정하고 다음과 같이 apoE 유전자 다형성에 따른 대상자를 분류하였다. apoE2형 =  $2 \times \text{apoE2}/2 + \text{apoE2}/3 + \text{apoE2}/4$ , apoE3형 =  $2 \times \text{apoE3}/3 + \text{apoE2}/3 + \text{apoE3}/4$ , apoE4형 =  $2 \times \text{apoE4}/4 + \text{apoE3}/4 + \text{apoE2}/4$

### 식이조사

24시간 회상법에 의하여 평상시 하루 식사섭취량을 조사하여 Canpro 3.0 (한국영양학회 부설 영양정보센터, 2006) 프로그램을 이용하여 영양소 함량과 식품 섭취량, 영양밀도 조사 (INQ, 에너지 1,000 kcal에 해당하는 식이 내 영양소 함량을 1,000 kcal당 그 영양소의 권장량에 대한 비율)를 분석하였다.

### 통계분석

연구결과는 SPSS/Win (12.0)을 이용하여 분석하였다.

각 집단의 항목에 대한 모든 측정치는 평균 (Mean)  $\pm$  표준오차 (Standard Error; SE)로 산출하였고, 모든 유의수준은 신뢰구간 ( $\alpha$ ) 95%에서 통계적 유의수준을 평가하였다. 유전자 다형성에 따라 혈중생화학적 변수들과 인체계측, 식이섭취량, 식습관의 빈도분포를 확인하기 위해 변수들 간의 chi-square ( $\chi^2$ ) test를 수행하였고 유전자 다형성 간에 따른 변수들의 차이를 분석하기 위해 성별과 연령을 보정한 다변량분석 (GLM, General Liner Model, ANCOVA)과 회귀분석을 수행하였다.

## 결 과

### ApoE 유전자의 상대빈도수

전체 대상자 중에서 apo E 유전자 다형성을 분석한 107명의 표현형은 apo E 3/3형 77명 (72.0%), apo E 2/3형 11명 (10.3%), apo E 3/4형 14명 (13.1%), apo E 4/4형 1명 (0.9%), apo E 2/4형 4명 (3.7%)이었다. Apo E 유전자의 표현형을 대립유전자인 allele형으로 계산하였을 때  $\epsilon$  2형은 15명 (7.0%),  $\epsilon$  3형은 179명 (83.6%),  $\epsilon$  4형은 20명 (9.3%)이었다 (Fig. 1). 지금까지의 국내에서 발표된 논문의 apo E 유전자 다형성 빈도수를 계산하여 타 인종과 비교 검토한 결과 한국인의 apo E 유전자 다형성의 분포는  $\epsilon$  2,  $\epsilon$  3,  $\epsilon$  4형이 각각 5.2%, 86.3%, 8.5%였고 일본의 경우 3.5%, 85.1%, 11.2%, 중국은 8.4%, 85.2%, 6.4% 이었다 (Table 1). 한국과 일본, 중국을 비교하여 보았을 때 세 나라가 유사한 경향을 나타내었으나  $\epsilon$  2형은 중국에서 높은 빈도를 나타내었고,  $\epsilon$  4형은 일본에서 높은 빈도를 나타내었으며 한국에서는  $\epsilon$  3형이 높은 빈도를 나타내었다. 아메리카 인디언의 경우  $\epsilon$  2형은 존재하지 않았고,  $\epsilon$  4형은 1.84%로 높은 빈도를 나타내었다.<sup>14)</sup> 아프리카

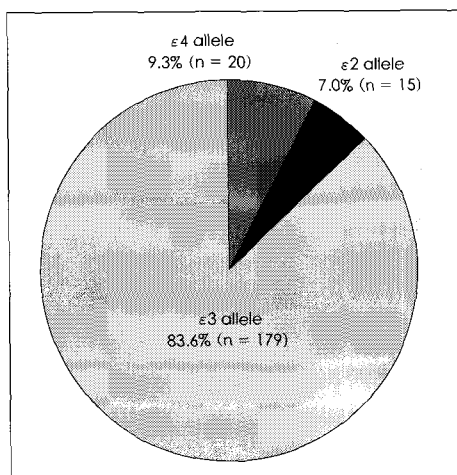


Fig. 1. Frequencies of apo E genotype.

카인의 경우  $\epsilon$  2,  $\epsilon$  3,  $\epsilon$  4형은 각각 0.028, 0.662, 0.310로 동양에 비해  $\epsilon$  4 변이형의 빈도가 높았다.<sup>15)</sup> 다른 연구를 통해서도 아프리카 인의 경우 유럽인과 비교하여  $\epsilon$  4 변이형의 빈도가 높고  $\epsilon$  3의 빈도가 낮음을 볼 수 있다.

### ApoE 유전자 다형성에 따른 인체계측 및 혈중생화학적 인자의 분포

Apo E 변이형의 인체계측지수와 혈중생화학 인자에 대한 결과는 Table 2와 같다. 먼저 인체계측수치의 변화를 살펴보면 변이형에서 weight (kg), BMI (kg/m<sup>2</sup>), waist (cm) 수치에는 유의적인 차이가 없었고 혈압의 경우 수축기혈압에서는 유의적인 차이가 없었으나 확장기혈압이 apo

Table 1. The relative frequencies of common alleles of the gene locus coding apo E of this study comparing the others

Populations	n	$\epsilon$ 2 allele	$\epsilon$ 3 allele	$\epsilon$ 4 allele
<b>Korean<sup>1)</sup></b>	<b>3,286</b>	<b>0.052</b>	<b>0.863</b>	<b>0.085</b>
HH Oh <sup>2)</sup>	107	0.070	0.836	0.093
HH Oh <sup>3)</sup>	132	0.044	0.880	0.076
MS Lee <sup>4)</sup>	105	0.067	0.848	0.087
J.S.Park <sup>5)</sup>				
Stones & Bile	47	0.047	0.860	0.093
Control	1,065	0.043	0.904	0.053
<b>SY Kang<sup>6)</sup></b>				
DM	79	0.063	0.810	0.127
CVA & MI	44	0.057	0.898	0.045
Normal	49	0.031	0.908	0.061
YS Chio	302	0.022	0.922	0.056
JK Kim	100	0.070	0.790	0.140
JC Ryn	257	0.053	0.860	0.087
SY Jen	999	0.051	0.838	0.111
Japanese <sup>7)</sup>	576	0.037	0.84.6	0.117
Chinese <sup>8)</sup>	196	0.084	0.852	0.064
Amerindians <sup>9)</sup>	95	0.000	0.816	0.184
German <sup>10)</sup>	1,557	0.082	0.782	0.136
Finnish <sup>11)</sup>	1,577	0.039	0.767	0.194
African <sup>12)</sup>	176	0.028	0.662	0.310

1) Calculated by the summation of the result of study as total Korean population

2) This study

3) Oh et al. J Kor Geological Asso 9(1): 407-420, 1999

4) Lee. J Kor J of Community Nutrition 29: 642-350,1996

5) Park et al. J Kor Gastroenterol Asso 35: 475-483, 2000

6) Kang et al. J Kor Endocrinology Asso 7(3): 273-279, 1992

7) Accumulated by the sum of total Japanese population's studies

8) Accumulated by the sum of total Chinese population's studies

9) Accumulated by the sum of total Amerindians population's studies

10) Accumulated by the sum of total German population's studies

11) Accumulated by the sum of total Finnish population's studies

12) Accumulated by the sum of total African population's studies

**Table 2.** Comparison of anthropometric and biochemistry characteristics by apo E genotype

	ε 3 allele (n = 177)	ε 2 allele (n = 14)	ε 4 allele (n = 19)	p-value
<b>Anthropometric characteristics<sup>1)</sup></b>				
Weight (kg)	68.4 ± 0.7	68.2 ± 2.5	69.7 ± 2.2	0.857
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.5 ± 0.3	25.7 ± 0.9	26.2 ± 0.8	0.695
Waist (cm)	87.4 ± 0.6	87.1 ± 2.2	89.9 ± 1.8	0.945
Systolic pressure (mmHg)	133.7 ± 1.2	129.3 ± 4.3	126.5 ± 3.7	0.140
Diastolic pressure (mmHg)	84.7 ± 0.8 <sup>ob</sup>	81.6 ± 2.7 <sup>b</sup>	77.9 ± 2.4 <sup>a</sup>	<b>0.023</b>
<b>Insulin resistance related profile<sup>2)</sup></b>				
Fasting glucose (mg/dL)	107.9 ± 2.1 <sup>a</sup>	122.3 ± 7.1 <sup>b</sup>	121.6 ± 6.4 <sup>b</sup>	<b>0.028</b>
Insulin (uIU/mL)	5.4 ± 0.8	6.8 ± 2.7	4.3 ± 2.4	0.874
HOMA-IR	1.5 ± 0.3	2.9 ± 0.9	1.5 ± 0.7	0.293
HbA1c (%)	6.0 ± 0.1	6.1 ± 0.4	6.5 ± 0.4	0.392
<b>Lipid profiles<sup>3)</sup></b>				
T-C (mg/dL)	203.1 ± 3.1	189.4 ± 10.6	195.2 ± 9.7	0.368
TG (mg/dL)	173.7 ± 8.7	195.4 ± 30.1	179.6 ± 26.2	0.777
HDL (mg/dL)	20.4 ± 1.1	48.9 ± 3.8	49.3 ± 3.4	0.894
LDL (mg/dL)	119.4 ± 2.4 <sup>b</sup>	100.4 ± 8.4 <sup>a</sup>	108.3 ± 7.7 <sup>ob</sup>	<b>0.046</b>
<b>Cytokine<sup>1)</sup></b>				
Interleukin-1β (pg/mL)	6.1 ± 0.1	6.4 ± 0.5	5.7 ± 0.4	0.463
Interleukin-6 (pg/mL)	6.3 ± 0.4	6.5 ± 1.2	5.6 ± 1.1	0.825
TNFα (pg/mL)	1.48 ± 0.01	1.43 ± 0.04	1.45 ± 0.04	0.444

Adjusted Mean ± SE

1) Values were for comparison of three groups after adjusting sex and age

2) Values were for comparison of three groups after adjusting sex, age and % carbohydrate of energy intake

3) Values were for comparison of three groups after adjusting sex, age and dietary fiber

**Table 3.** The frequencies of apo E genotype among Normal- and Hyper-waist circumference groups

		ε 2 allele	ε 3 allele	ε 4 allele	p-value
Fasting glucose	<110 mg	10 <sup>1)</sup> ( 6.7%)	132 (88.0%)	8 ( 5.3%)	<b>0.003</b>
	≥110 mg	5 (10.4%)	33 (68.8%)	10 (20.8%)	
	Total	15 ( 7.6%)	165 (83.3%)	18 ( 9.1%)	

1) Number of subjects (n)

E4에서 유의적으로 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 혈중 인슐린 저항성 지표인 인슐린, HOMA-IR, 당화혈색소에서는 차이가 없었으나 공복혈당에서는 apo E4가 다른 형에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.01$ ). 혈중지질에서는 총콜레스테롤과 중성지방 그리고 HDL 콜레스테롤에서 유의적인 차이가 없었다. 그러나 LDL 콜레스테롤의 경우 나이와 성별을 보정해 주었을 때에는 유의적인 차이가 없었으나 나이와 성별과 함께 식이섬유도 보정하여 주었을 때 apo E2에서 유의적으로 낮았다 ( $p < 0.05$ ). 세포의 자극에 의해 분비되는 사이토카인 중 IL-1β, IL-6, TNF-α에서는 apo E 유전자 다형성과 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Table 3은 공복혈당과 apo E 대사와의 관련성 연구결과로 공복혈당이  $\geq 110$  mg/dl일 때의 apo E2와 apo E4 변이형의 분포가 공복혈당이  $< 110$  mg/dl일 때보다 유의적으로 높

게 나와 혈당과 apo E형 간에 유의적인 관련이 있는 것으로 나타났다 ( $p < 0.01$ ).

### ApoE 유전자 다형성에 따른 영양소 섭취량, 영양밀도 및 식습관 변화

Apo E 유전자 다형성에 따라 섭취한 영양소를 비교한 결과는 Table 4에 나타나 있다. Apo E 변이형과 정상형에서는 열량, 단백질, 지질, 콜레스테롤 간에 유의적인 차이는 없으나 E4 군에서 섭취가 전반적으로 높았다. 특히 당질 및 식이섬유 섭취의 경우 apo E4 군에서 E3보다 유의적으로 높았다 ( $p < 0.05$ ). 비타민 A, 비타민 B2, 나이아신, 비타민 C, 비타민 E, 엽산의 섭취 등 apo E4에서 전반적으로 높은 경향이었으나 유의적인 차이가 없으며 비타민 B6의 섭취량만 E4군에서 많이 섭취하였다 ( $p < 0.05$ ). 이 외에 무기질에서도 apo E 군간의 차이가 없었으나 나트륨과 칼

**Table 4.** Comparison of nutrient intake of 24 hr recall by apo E genotype

	$\epsilon$ 3 allele (n = 155)	$\epsilon$ 2 allele (n = 13)	$\epsilon$ 4 allele (n = 18)	p-value
Energy (kcal)	1927 $\pm$ 44	2064 $\pm$ 153	2186 $\pm$ 130	0.137
Energy nutrients				
Total protein (g)	81.0 $\pm$ 2.4	78.9 $\pm$ 8.2	91.5 $\pm$ 7.0	0.349
Carbohydrate (g)	288.2 $\pm$ 7.0 <sup>a</sup>	311.8 $\pm$ 24.3 <sup>ab</sup>	331.9 $\pm$ 20.7 <sup>b</sup>	0.103
Fiber (g)	25.9 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	23.7 $\pm$ 2.9 <sup>a</sup>	33.6 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	<b>0.010</b>
Total fat (g)	49.4 $\pm$ 2.2	52.1 $\pm$ 7.6	53.9 $\pm$ 6.5	0.770
Animal fat (g)	23.9 $\pm$ 1.6	28.5 $\pm$ 5.7	23.5 $\pm$ 4.8	0.708
Cholesterol (mg)	275.6 $\pm$ 13.9	257.1 $\pm$ 48.3	307.5 $\pm$ 41.2	0.698
Vitamins				
Vitamin A (R.E.)	857.3 $\pm$ 35.2	951.5 $\pm$ 122.1	983.9 $\pm$ 104.2	0.420
$\beta$ -Carotene ( $\mu$ g)	4135.7 $\pm$ 195.2	4987.1 $\pm$ 676.6	5049.5 $\pm$ 577.9	0.183
Vitamin B1 (mg)	1.23 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.18 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	1.53 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	0.077
Vitamin B2 (mg)	1.24 $\pm$ 0.04	1.12 $\pm$ 0.15	1.36 $\pm$ 0.13	0.443
Vitamin B6 (mg)	2.29 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.58 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	2.78 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	<b>0.031</b>
Niacin (mg)	17.71 $\pm$ 0.61	19.17 $\pm$ 2.10	20.75 $\pm$ 1.79	0.240
Vitamin C* (mg)	152.6 $\pm$ 8.9	126.9 $\pm$ 31.8	201.5 $\pm$ 26.6	0.146
Vitamin E (mg)	15.8 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 1.9	15.9 $\pm$ 1.6	0.404
Folate ( $\mu$ g)	307.7 $\pm$ 10.8	280.4 $\pm$ 37.5	350.3 $\pm$ 32.0	0.330
Minerals				
Calcium (mg)	679.5 $\pm$ 27.0	632.0 $\pm$ 93.7	741.8 $\pm$ 80.0	0.657
Phosphate (mg)	1182.3 $\pm$ 32.1	1127.7 $\pm$ 111.3	1339.4 $\pm$ 95.0	0.248
Total Iron (mg)	15.8 $\pm$ 0.4	14.7 $\pm$ 1.3	17.3 $\pm$ 1.1	0.320
Sodium (mg)	4631.4 $\pm$ 146.3	4487.6 $\pm$ 506.9	5163.5 $\pm$ 432.9	0.477
Potassium (mg)	3277.5 $\pm$ 91.3 <sup>a</sup>	2984.2 $\pm$ 316.5 <sup>ab</sup>	3855.1 $\pm$ 270.3 <sup>b</sup>	0.077
Zinc (mg)	11.6 $\pm$ 0.9	8.7 $\pm$ 3.1	10.2 $\pm$ 2.6	0.602

Adjusted Mean  $\pm$  SE

Values were for comparison of three groups by covariance analysis, adjusted for sex and age

\*: Value was differences between  $\epsilon$  3 and  $\epsilon$  4 allele at p = 0.084, between  $\epsilon$  2 and  $\epsilon$  4 allele at p = 0.072

를 섭취가 E4가 정상보다 높은 경향을 보였지만 3군 간의 통계적인 유의성은 없었다. 작성된 24시간 회상법을 바탕으로 섭취한 식품에 따라, 조리법에 따라 분류하였을 때 apo E2형은 당질 급원 식품 중 떡류의 섭취빈도와 갈비와 삼겹살 등과 같은 기름이 많은 육류의 섭취가 apo E3형에 비해 유의적으로 높았고, apo E4형은 담황색 채소와 볶음류의 섭취가 다른 유전형에 비해 높았다.

## 고 찰

인종 간 apo E 유전자 다형성 빈도수에 관한 연구들은 다양하나 질병에 따른 apo E 유전자 다형성 빈도수 비교연구는 다양하지 못하다. 코카시안의 경우 당뇨병 환자의 apo E 표현형의 빈도수는  $\epsilon$  3,  $\epsilon$  4,  $\epsilon$  2형의 순서로 알려져 정상형이 많으나 E4 및 E2 allele 자체의 빈도수가 매우 낮은 편이므로 allele 매에서의 발병율은 매우 높을 것으로 예상된다. Lee 등<sup>16)</sup>에 의해 지방간 환자들을 대상으로 apo

E 유전자형에 따른 두 집단 간의 차이를 비교한 결과 지방간 환자들에서 apo E2를 갖는 경우 apo E3에 비해 유의적으로 높은 혈중 중성지방 및 apo B를 보였으며 이에 반해 apo E4를 갖는 경우는 BMI 수치는 낮고 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤, 중성지방의 수치가 높은 경향을 보였다. 특히, apo E4는 치매의 원인 물질인  $\beta$ -아밀로이드와 BMI ( $r = 0.602$ ) 및 체지방 ( $r = 0.547$ )과 유의한 정적 상관을 나타낸다고 보고하였고<sup>17)</sup> 인지능력과 혈당과의 관련이 보고되면서 당뇨병 또한 치매의 위험인자로 보고되고 있다.<sup>18)</sup> 인슐린 저항성과 apo E 유전자 다형성과의 관련성은 다른 연구에서도 많이 연구되었는데 Laederach-Hofmann 등<sup>19)</sup>에 의해서는 특히 비만으로 인한 내분비 이상으로 인슐린 감수성의 감소가 비만인들의 인지기능 저하와 우울증을 유발시키는 하나의 원인으로 보고되었다. 이와 더불어 고혈압이나 당뇨병, 고콜레스테롤혈증 등과 같은 혈관성 위험인자들은 혈관성 치매 뿐만 아니라 알츠하이머성 치매 발병과도 연관성이 있다는 보고가 있다.<sup>20)</sup> ApoE

유전자 다형성과 사이토카인과의 관련성에 대한 보고에 의하면, Peila 등<sup>20)</sup>에 의해 쥐를 대상으로 염증 전구물질인 IL-6, TNF  $\alpha$ 와 apoE 유전자 다형성 간의 관련성을 연구한 결과 정상형의 쥐보다 변이형의 쥐에서 유의적으로 더 큰 범위로 upregulation 되었다. Sciacca 등<sup>22)</sup>의 연구에서는 apoE 유전자 다형성과 IL-1b 간에는 유의성이 없었으나 AD와 IL-1b사이 또는 AD와 apoE4사이를 비교하였을 때에 각각에서 유의적인 관련성을 볼 수 있었다. Erin M Ramos 등<sup>23)</sup>은 백인을 대상으로 사이토카인과 AD의 상관성에 관하여 연구한 결과 TNF  $\alpha$ 가 AD와 유의적으로 상관성이 있었으나 TNF  $\alpha$ 와 apoE와는 유의성이 없다고 보고하였다.

최근, 우리나라 노인을 대상으로 한 영양문제에 관하여 연구결과를 보면 에너지 부족, 결식률 증가, 체중 증가 또는 저체중 인구 비율이 높고 고탄수화물, 저지방식이, 고나트륨 섭취 형태와 아울러 비타민 A, 비타민 B2 및 칼슘의 부족 등을 심각히 보고하고 있다.<sup>24,25)</sup> 그러나 이번 연구에 대상자들에게서는 대체적으로 열량 및 단백질은 부족하지 않았고 탄수화물, 콜레스테롤 및 나트륨은 과잉 섭취하고 있는 반면 folate 및 Ca 섭취가 부족한 문제점을 보여 주었다. Morris 등<sup>26)</sup>에 의한 연구에 의하면, apo E4 유전자 변이를 가진 경우 치매 발병률이 20~90%이지만 생선을 일주일에 한 번 먹으려 60%까지 낮출 수 있다고 밝힘으로써 apo E 유전자 다형성과 생선 섭취 (오메가-3 지방산)의 관계에 있는 것으로 나타났다. 더 나아가 apo E와 식이지방, 비만도 그리고 혈청 콜레스테롤 농도와의 상관관계를 조사한 결과, 열량과 myristic acid의 섭취가 높을수록, 혈청 내 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 농도가 높아지고 PUFA와 MCT의 섭취가 높을수록 혈청내 콜레스테롤의 농도가 낮아지는 경향을 보이고 apo E4 형을 가진 사람은 식이지방 섭취나 비만도에 무관하게 혈청 내 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 농도가 높은 경향을 나타내었다고 보고한 연구도 있다.<sup>27)</sup> Apo E 유전자 다형성과 식이패턴에 따라 혈중 LDL 콜레스테롤의 변화를 본 결과 apo E3/2형에서 고당질식으로 인한 LDL 콜레스테롤이 가장 많이 감소하였고 E3/4, E3/3순이었다. High-MUFA 식사에서는 유전자 다형성에 따라 차이가 없었으나 고당질 식사에 비해 high-MUFA 식사에서 E2/4와 E3/4형에 LDL 콜레스테롤이 감소하였다. 또한 식이 콜레스테롤이 증가할수록,  $\omega$ -6계 식이 지방산 섭취 보다  $\omega$ -3계 지방산 섭취가 증가할수록, PUFA (옥수수유)보다 SFA (코코넛유) 섭취가 증가할수록, apo E 및 apo B-100 mRNA가 증가되고 LDL (B/E) 수용체 수가 정의 상관관계를 보였다.<sup>28)</sup>

## 요약 및 결론

본 연구의 apo E 유전자 다형성의 상대 빈도수는 apo E2형, apo E3형, apo E4형이 각각 7.0%, 83.6%, 9.3%으로 기존 연구결과와 유사하였다. 인체계측치에서는 apo E4형에서 BMI와 허리둘레는 다른 형에 비해 약간 높은 경향을 보였다. 나이, 성별 및 식이섬유섭취를 보정하였을 때 E2형에서 LDL이 낮았고 총콜레스테롤은 높았으며 E4형에서는 중성지질이 높았으며 HDL은 다른 형에 비해 낮은 경향을 나타냈다. 또한, 공복혈당이  $\geq 110$  mg/dl일 때 apo E2와 apo E4의 변이형의 분포가  $< 110$  mg/dl일 때보다 유의적으로 높게 나타나서 인슐린저항성 지표인 공복혈당과 apo E형과 관련이 있었다. 세포의 화학물질인 사이토카인 중 IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ 과 apo E 유전자 다형성 간의 관련성에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 또한 apo E 유전자 다형성에 따라 섭취한 영양소를 비교한 결과에서 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 치매유발 인자인 apo E4를 가진 노인들에게는 공복혈당과 LDL 콜레스테롤을 낮추기 위하여 열량, 당질, 식이지방의 과다섭취를 제한하고 비타민 및 무기질이 풍부한 야채와 과일 섭취를 권장하는 것이 바람직하겠다. 특히 50세 이상의 노년층에서 당질 섭취 증가로 인한 단순당질이나 단순 복합당질의 섭취가 증가할 경우 E2형과 4형에서 공복혈당과 LDL 콜레스테롤을 증가시키는 중요한 요인이 될 수 있으므로 apo E 유전자 다형성에 의한 치매 예방 및 치료를 위한 영양관리로써 당질 위주의 식사패턴을 지양하는 것이 바람직하겠다. 차후 연구로는 apo E4 다형성을 가진 노인의 치매 발현률을 계속해서 cohort할 예정이다.

## Literature cited

- 1) Nam KK, Lee HS, Yoo KJ. Diagnosis and Treatment of Dementia. *Korea J Gerontological Society* 1993; 13(2): 168-177
- 2) Azad NA, Al Buqami M. Gender differences in dementia risk factors. *Gen Med* 2007; 4(2): 120-129
- 3) Kim SY. Factors affecting on the QOL of the demented elderly caregivers. *Social Welfare Policy* 2003; 17: 77-105
- 4) Lee EH. Impact of family function in the burden of caregiving elderly dementia patients. *Journal of Welfare for the Aged* 2003; 19: 173-197
- 5) Huang Y. Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Neurology* 2006; 66: 79-85
- 6) Hu CJ, Sung SM, Liu HC, Hsu WC, Lee LS, Lee CC, Tsai CH, Chang JO. Genetic risk factors of sporadic Alzheimer's disease among Chinese in Taiwan. *Journal of the Neurological Sciences*

- 2000; 181: 127-131
- 7) Cedazo-Minquez A, Popescu BO, Blanco-Millan JM, Akterin S, Pei JJ, Winblad B, Cowburn RF. Apolipoprotein E and beta-amyloid regulation of glycogen synthase kinase-3beta. *J Neurochem* 2003; 87(5): 1152-1164
  - 8) Prince JA, Zetterberg H, Andreasen N, Marcusson J, Blennow K. ApoE epsilon4 allele is associated with reduced cerebrospinal fluid levels of Abeta42. *Neurology* 2004; 62(11): 2116-2118
  - 9) Paula G. LRP in Alzheimer's disease: friend or foe? *J Clin Invest* 2000; 106(9): 1077-1079
  - 10) Changen YU, Howard Seltman, Elaine R Peskind, Nichole Galloway, et al. Comprehensive analysis of APOE and selected proximate markers for late-onset Alzheimer's disease: Patterns of linkage disequilibrium and disease/marker association. *J Genomics* 2007; 89: 655-665
  - 11) Yiqing Song, JoAnn EM, Lesley Tinker, Barbara VH, Lewis HK, Lauren Nathan, Nader Rifai, Simin Liu. Inulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment (HOMA) and risk of diabetes in a Multiethnic cohort of women: the women's health initiative observational study. *Diabetes Care* 2007; 30(7): 1747-1752
  - 12) Kang SM, Woo JT, Kim SW, Yang IM, Kim JW, Kim YS, Kim KW, Choi YK, Paeng JY. Apolipoprotein E genotypes in patients with diabetes, cerebrovascular accident, and acute myocardial infarction. *Korean J Endocrine Society* 1992; 7(3): 273-279
  - 13) Kim IJ, Hong BK, Lee BW, Kwon HM, Kim DS, Choi ET, Byun KH, Kim JH, Song KS, Kim HS. Apolipoprotein E polymorphism in Non-diabetic patients with acute coronary syndrome. *J Yonsei Medical* 1999; 40(4): 377-382
  - 14) Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, Zuniqa J, Masso F, Montano LF, Ramos-Kuri M, Estrada J, Granados J, Vargas-Alarcon G. Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Hum Biol* 2000; 72: 975-981
  - 15) Mendes-Lana A, Pena GG, Freitas SN, Lima AA, Nicolato RLC, Nascimento-Neto RM, Machado-Coelho GLL, Freitas RN. Apolipoprotein E polymorphism in Brazilian dyslipidemic individuals: Ouro Preto study. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2007; 40: 49-56
  - 16) Lee DM, Lee SO, Mun BS, Ahn HS, Park HY, Lee HS, Kim DG. Relation of apolipoprotein E polymorphism to clinically diagnosed fatty liver disease. *Korean J Association for the Study of the Liver* 2000; 8(4): 355-362
  - 17) Balakrishnan K, Verdile G, Mehta PD, Beilby J, Nolan D, Galvao DA, Newton R, Gandy SE, Martins RN. Plasma Abeta42 correlates positively with increased body fat in healthy individuals. *J Alzheimers Dis* 2005; 8(3): 269-282
  - 18) van den Berg E, Kessels RP, Kappelle LJ, de Haan EH, Biessels GJ. Type 2 diabetes, cognitive function and dementia: Vascular and metabolic determinants. *Drugs Today (Barc)* 2006; 42(11): 741-754
  - 19) Laederach-Hofmann K, Kupferschmid S, Mussgay L. Links between body mass index, total body fat, cholesterol, high-density lipoprotein, and insulin sensitivity in patients with obesity related to depression, anger and anxiety. *Int J Eat Disord* 2002; 32(1): 58-71
  - 20) Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, Apo E gene and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes* 2002; 51(4): 1256-1262
  - 21) Ali K, Middleton M, Pure E, Rader DJ. Apolipoprotein E suppresses the type I inflammatory response in vivo. *Circ Res* 2005; 97(9): 922-927
  - 22) Sciacca FL, Ferri C, Licastro F, Veglia F, Binno I, Gavazzi A, Calabrese E, Martinelli Boneschi F, Sorbi S, Mariani C, Franceschi M, Grimaldi LME. Interleukin-1b polymorphism is associated with age at onset of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2003; 24: 927-931
  - 23) Erin M Ramos, Ming-Tesh Lin, Eric B Larson, Izumi Maezawa, Li-Hui Tseng, Karen L Edwards, Gerard D Schellenberg, John A Hansen, Walter A Kukull, Lee-Way Jin. Tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin 10 promoter region polymorphisms and risk of late-onset alzheimer disease. *Arch Neurol* 2006; 63: 1165-1169
  - 24) Park MY, Kim GR, Lee DJ, Kim JM, Park PS. A survey of food and nutrient intakes of the aged people in rural area, Gyeongbuk Yecheon. *Korea J Nutrition Society* 2006; 39(1): 58-73
  - 25) Uh SB, Kim HS, Back K, Kang KW, Yuk JY, Kim BS. A study on risk factors of nutrition in a rural aged people. *Korea Sport Research* 2005; 16(6): 237-250
  - 26) Morris MC, Evans DA, Baienias JL, Tanqney CC, Bennett DA, Wilson RS, Aqurwal N, Schneider J. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003; 60(7): 923-924
  - 27) Syrah Khan, Anne-marie Minihane, Philippa J Talmud, John W Wright, Margaret C Murphy, Christine M Williams, Bruce A Griffin. Dietary long-chain n-3 PUFAs increase LPL gene expression in adipose tissue of subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *J Lipid Res* 2002; 43: 979-985
  - 28) Lee MS, Kim JQ, Kim JW. Studies on the distribution of plasma lipid profiles in Korean hyperlipidemia according to hyperlipoproteinemia (HLP) and apo E polymorphism. *Korea J Nutr Society* 2000; 33(6): 639-646