

## Association of UCP2 Polymorphisms with Type 2 Diabetes in Korean Subjects

Su-Won Kim and Min Yoo<sup>†</sup>

Department of Biology, College of Natural Sciences, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

Obesity results from a combination of genetic, environmental, and behavioral factors. Uncoupling proteins (UCP) are members of the larger family of mitochondrial anion carrier proteins (MACP). UCP separates oxidative phosphorylation from ATP synthesis with energy dissipated as heat, also referred to as the mitochondrial proton leak. UCP facilitates the transfer of anions from the inner to the outer mitochondrial membrane and the return transfer of protons from the outer to the inner mitochondrial membrane. Therefore, we investigated the genotype for the G>A polymorphism at the position -866 of UCP2 gene in Koreans and compared genotype of patients with control group. 50 patients (Male 22, Female 28), who previously underwent type 2 diabetes (T2DM) and 30 controls (Male 14, Female 16) participated in this study. There was a weak significant association between -866 G>A polymorphism in UCP2 gene and T2DM. The present study shows that UCP2 -866 G>A polymorphism may not be associated with the pathogenesis of T2DM as opposed to the previous reports in other countries. Further studies with larger population may be needed for the development of diagnostic methods at genetic level such as DNA chip.

**Key Words:** UCP2 gene, Polymorphism, Type 2 Diabetes, Obesity, Korean genome

### 서 론

비만은 인슐린 기능 저하를 유발하기 때문에 고지혈증, 고혈압 그리고 관상동맥 질환 같은 대사증후군 발생과 관련이 있다고 알려져 있다. 따라서 이를 장기간 방치할 경우 궁극적으로 제2형 당뇨병과 같은 각종 질환을 유발하는 것으로 보고되어 있다 (Aviva et al., 1999; Tremblay et al., 2004; Nararetani et al., 2001). 비만은 과도한 열량 섭취 및 운동부족과 같은 환경적 인자 뿐만 아니라 체내 에너지 이용률을 조절하는 유전적 인자의 복합적인 상호작용에 의해 발생된다고 알려져 있다. 비만이 유전적인 소인과 관련이 있다는 것은 일란성 쌍생아 및 입양한 아동들을 대상으로 한 연구들을 보면 잘 알 수 있다. 즉 비만은 30~50%가 유전에 의하여 결정되며, 가족 단위로 집중 발생하는 것이 보통이다 (Bray et al., 2004). 아직 비만을 유발하는 단일 유전자는 밝혀지지 않았으나, 체내 에너

지를 저장하고 조절하는 역할을 하는 지방조직이 비만의 candidate gene을 밝히는 중요한 단서로 인식받았고, 지방 조직에서의 에너지 소모를 조절하는 유전자가 비만 발생에 관련이 있을 가능성에 대해 활발한 연구가 이루어지고 있다. 또한 에너지 대사는 측면에서 볼 때 비만에 의한 인슐린 저항성과 체내 열생산 기전을 수행하는 uncoupling protein (UCP)에 대한 관심이 날로 증가되고 있다. 에너지 대사에 관여하는 것으로 알려진 UCP는  $\beta$ -AR 및 PPAR $\gamma$  등과 더불어 비만 관련 후보 유전자로서 국외에서는 많은 연구의 대상이 되고 있다 (Klannenmark et al., 1998; Walder et al., 1998). UCP의 기능은 전자전달계 과정에서 proton 수송에 작용하여 ATP를 생산하지 않으면서도 지방산의 산화를 진행시키고, 그때에 발생하는 자유 에너지를 열로 방출시키는 것이다. UCP는 미토콘드리아 내막에 위치한 단백질로서 UCP1, UCP2, UCP3 등의 3가지 아형으로 존재한다. 이 중 UCP1은 갈색지방조직에 분포하는데 비하여, UCP2는 백색지방조직을 포함한 대부분의 조직에 존재하며 UCP3는 주로 골격근에 위치한다 (Baladan, 1990). 연구에 의하면 Pima Indian의 경우 UCP2 유전자 다형성이 기초 대사량과 상관관계가 있다고 보고되는 등 UCP2와 대사증후군 사이의 관련성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 국내에서는

\*논문 접수: 2008년 12월 1일

수정재접수: 2008년 12월 15일

<sup>†</sup>교신저자: 유민, (우) 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000, 계명대학교 자연과학대학 생물학과

Tel: +82-53-580-5537, Fax: +82-53-580-5537

e-mail: ymin@kmu.ac.kr

그 연구가 미흡한 것으로 알려져 있다 (Walder et al., 1998). 이에 본 연구는 한국인에게서 UCP2 유전자 다형성 (polymorphism)의 발현과 제2형 당뇨병 여부와와의 연관성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상

본 연구는 대조군 30명, 제2형 당뇨병 환자군 50명을 대상으로 하였고, 성비는 전체적으로 남자 36명, 여자 44명이었다. 평균 연령은 제2형 당뇨병 환자군 60.3세, 대조군 62.6세였다. 대조군은 60세 이상, 공복혈당 110 mg/dL 이하, 당화혈색소 5.8% 이하인 30명으로 고혈압, 심근경색, 협심증, 고지혈증, 뇌졸중, 갑상선, 결핵, 간질환, 천식, 관절염, 우울증, 파킨슨병, 골다공증, 전립선 비대증, 암 등의 질병이 없는 사람으로 정하였으며, 남자 14명, 여자 16명이었다. 제2형 당뇨병 환자군은 2006년 4월부터 2006년 8월까지 계명대학교 동산의료원과 경북대학교 병원 내분비내과를 내원하였던 환자 50명으로 제2형 당뇨병의 과거 병력이 있거나 내원 후 제2형 당뇨병 진단을 받은 환자를 대상 환자군으로 정하였으며 남자 22명, 여자 28명이었다. 대상자에게 시행된 모든 검사들은 임상시험 심사위원회 (Institutional Review Board, IRB)의 기준에 맞게 환자들의 자발적인 서면 동의하에 이루어졌다.

### 2. 임상검사

혈액은 전날 밤부터 최소한 10시간 이상 금식한 공복 상태에서 채혈한 후, 당화혈색소, 공복 혈장 포도당, 중성지방, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤의 수치를 측정하였다 (Kim et al., 2008). 당화혈색소, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤, 중성지방은 Histachi Modular D2400 기계 (Roche, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였고, 공복혈당은 Modular Analytics SWA (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 측정하였다.

### 3. 설문조사 및 신체계측

사회 인구학적 특성, 현재의 병력, 과거력, 흡연력, 음주력은 설문지를 이용하여 자기 기입식 방법으로 작성되었다. 조사에 사용된 설문지는 한국인 만성병 역학조사 및 유전체 연구사업의 설문지를 참고하였다. 대상자는 검

사 전날 밤부터 최소한 10시간 이상 금식한 공복 상태에서 가벼운 의복을 착용하게 하였고, 자동신장계측계를 이용하여 신장과 체중을 동시에 측정하였다. 체질량지수 (body mass index, BMI = kg/m<sup>2</sup>)는 측정된 기본 신체 계측 기로부터 산출하였다.

### 4. 채혈 및 DNA 분리

채혈된 혈액의 일부는 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 처리된 시험관에 넣어 냉장 보관하였다가 실험실로 운반하여 DNA를 분리하였다. DNA 분리는 "Genomic DNA isolation kit (Gentra)"를 이용하였다. 6 ml의 RBC lysis solution을 혈액 2 ml에 넣은 후 5분간 흔들어 섞어 주었고, 4°C에서 3,500 rpm의 속도로 5분간 원심분리한 후, 상등액과 분리하였다. Vortex mixer로 잘 풀어준 후 cell lysis solution 2 ml를 넣고 다시 vortex mixer로 10초간 섞어준 후 10분 이상 실온에서 방치하였다. Protein precipitation 용액 0.7 ml를 넣고 충분히 vortex한 후 4°C에서 3,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 단백질을 포함한 모든 불순물을 가라앉혔다. 상등액을 조심스럽게 100% isopropyl alcohol 2 ml에 옮겨 DNA가 보일 때까지 섞었다. 2,500 rpm으로 5분 동안 원심분리한 후 상등액은 버리고, 70% ethanol로 탈수시켰다. DNA 수용액 150 µl를 넣어 2~3시간 정도 65°C에서 방치한 후 -20°C에서 보관한 후 사용하였다.

### 5. 유전자 분석 및 유전자 다형성 검사

유전자 분석을 위해서 Applied Biosystems 7300 Real Time PCR (Applied Biosystems)을 사용하였다. PCR 반응 조건은 pre-denaturation 반응을 94°C에서 10분, denaturation 반응을 94°C에서 30초, annealing 반응을 62°C에서 30초, extension 반응을 72°C에서 30초로 설정하여 35 cycle 반복해 DNA를 증폭시킨 후 마지막으로 extension 반응을 72°C에서 10분간 유지하였다.

### 6. 통계학적 분석

제2형 당뇨병 환자군과 대조군 사이의 대립형질 (allele)의 빈도와 유전자형 (genotype) 빈도의 차이에 대한 통계 분석은 SPSS version 15.0 프로그램을 사용하였다. 변수는 평균 ± 표준편차로 나타내었고 각각의 단일 염기 다형성이 Hardy-Weinberg 평형을 따르는지 알아보았다 (Kim et al., 2008). 로지스틱 회귀분석을 이용하여 Odds Ratio (OR)과 신뢰구간 (95% Confidence Interval: CI)을 구하였

**Table 1.** Clinical Data of Patients and Controls

Variable	Controls (n=30)	Cases (n=50)
Age (year)	62.61±4.71	60.33±8.27
BMI <sup>a</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	23.38±2.03	23.81±5.33
Sex		
Male	14	22
Female	16	28
Total cholesterol (mmol/l)	188.761±32.88	179.05±41.28
HDL-cholesterol <sup>b</sup> (mmol/l)	46.76±11.57	42.80±8.21
LDL-cholesterol <sup>c</sup> (mmol/l)	123.52±29.27	117.31±36.13
Triglyceride (mmol/l)	113.83±36.61	139.32±47.55
Diabetes (%)	2.0	33.9
Hypertension (%)	17	51
FBS (mmol/l)	89.09±5.89	125.08±50.36
Smoking (%)	24	58
HbA1C	5.70±0.86	7.02±1.31
hsCRP <sup>d</sup>	1.05±2.70	0.47±1.95

Data are shown as means ± the standard deviation.

<sup>a</sup>Body mass index.

<sup>b</sup>High density lipoprotein cholesterol.

<sup>c</sup>Low density lipoprotein cholesterol.

<sup>d</sup>High-sensitivity C-reactive protein

고, 연령, 성별, 허리둘레 등의 교란변수들을 보정하였다. 통계적 유의수준은  $P<0.005$ 로 하였다.

## 결 과

### 1. 대상자의 일반적 특성 및 건강행태

본 연구에 참여한 제2형 당뇨병이 없는 대조군 30명과 제2형 당뇨병 환자군 50명의 임상적 특징은 Table 1에 나타내었다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 대상자의 평균 연령은 각각 62.6과 60.3세로 대조군에서 유의하게 높게 나타났으며 남녀 비율은 대조군, 제2형 당뇨병 환자군 모두에서 여성이 유의하게 많았다. BMI, 중성지방, 고밀도 콜레스테롤은 제2형 당뇨병 환자군에서 의미있게 높았으나, 저밀도 콜레스테롤의 경우에는 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에 의미있는 차이는 없었다. 흡연 상태는 제2형 당뇨병 환자군이 대조군에 비해 유의하게 많았다.

### 2. UCP2 유전자 다형성과 Type 2 Diabetes의 연관성

전체 대상군에서 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium을 따르는 것으로 확인되었다. UCP2 -866 G>A의 유전자형 (genotype)은 대조군 30명에서 GG 동형접합체 70%, GA 이형접합체 20%, AA 동형접합체 10%였으

**Table 2.** Genotype Frequencies of UCP2 Gene in position -866

Genotype	Control (n=30)	Case (n=50)
GA	6	13
GG	21	26
AA	3	11

**Table 3.** Genotype Frequencies of UCP2 Gene by sex

Genotype	Male		Female	
	Control (n=14)	Case (n=22)	Control (n=16)	Case (n=28)
GA	4	5	2	8
GG	9	15	12	11
AA	1	2	2	9

며, 제2형 당뇨병 환자군 50명에서 GG 동형접합체 52%, GA 이형접합체 26%, AA 동형접합체 22%였다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서 유전자형의 분포는 유의한 차이를 보이지 않았으나 A 대립형질의 빈도가 높음을 알 수 있었다 (Table 2). 성별을 보정한 상태에서 UCP2 -866 G>A의 유전자형 (genotype)은 남자의 경우, 대조군 14명에서 GG 동형접합체 9명, GA 이형접합체 4명, TT 이형접합체는 한 명으로 나타났으며, 제2형 당뇨병 환자군 22명에서 GG 동형접합체 15명, GA 이형접합체 5명, AA 동형접합체 2명이었으나, 여자의 경우는 대조군 16명에서 GG 동형접합체 12명, GA 이형접합체 2명, AA 동형접합체 2명이었다. 제2형 당뇨병 환자군 28명에서 GG 동형접합체가 11명, GA 이형접합체가 8명, AA 동형접합체가 9명으로 나타났다. 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 사이에서는 남녀간 의미있는 차이를 보이지 않았다 (Table 3). 대조군과 제2형 당뇨병 환자군 각각에서 유전자형에 따른 혈압, 총 콜레스테롤, 중성지방, 체질량지수, 허리둘레, 허리엉덩이 둘레비 등의 유의한 차이는 없었다.

## 고 찰

현대에 들어 비만은 단순히 체중이 증가하는 것이 아니라 체지방의 과다한 증가로 정의되고 있다. 체지방의 증가는 인슐린 저항성을 유발하게 되고, 당뇨병, 고지혈증, 고혈압 등의 유발과 관련이 있다고 보고되어 있다 (Hubert et al., 1983). 비만 관련 후보 유전자로 잘 알려진 UCP는 에너지 대사에 관여하는 것으로 알려져 있어  $\beta$ -AR 및 PPAR $\gamma$  등과 더불어 국외에서는 많은 연구의 대상이 되고 있다 (Klannenmark et al., 1998; Walder et al.,

1998). UCP2 유전자의 염색체상 위치는 11q13으로 8개 exon들로 구성되어 있다. 이에 본 연구에서는 여러 가지 UCP2 유전자 다형성 중에서 대사와 관련이 있을 것으로 알려진 UCP2 -866G/A 다형성과 제2형 당뇨병 사이에 어떠한 연관성이 한국인에서도 있는지 알아보았다. 그 결과 정상대조군에 비해 제2형 당뇨병 환자군에서 A 대립형질의 빈도가 높음을 확인할 수 있었다. 일본의 경우에서도 비만 관련 유전자인 UCP2 -866G/A 다형성에서 A 대립형질의 빈도가 당뇨병 환자 혹은 일반인에 비하여 고혈압 환자와 고혈압을 동반하는 당뇨병 환자들에게서 유의하게 높았으며, 이 유전자형은 비만과의 관련성 보다는 고혈압과 관련성이 있는 것으로 나타났다 (Quihe et al., 2004). 연구결과의 임상적인 의의를 보다 확실하게 확인하기 위하여서 향후 대상 환자 수와 대조군을 더욱 늘리고 다양한 UCP2 유전자 다형성을 후보로 하여 지속적인 연구를 수행할 필요가 있을 것으로 생각된다.

---

#### 감사의 글

본 연구는 산업자원부와 한국산업기술재단의 지역혁신 인력양성사업으로 수행된 연구결과임.

### REFERENCES

- Aviva M, Jenniger S, Eugenie H. The Disease Burden Associated With Overweight and Obesity. *JAMA*. 1990. 282: 1523-1529.
- Baladan RS. Regulation of oxidative phosphorylation in the mammalian cell, *Am J Physiol*. 1990. 258: 377-389.
- Bray GA, Bouchard C, Handbook of Obesity: clinical applications. Second ed. New York: Marcel Dekker, Inc, 2004. p131-146.
- Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as independent risk factor cardiovascular disease; a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart study. *Circulation* 1983. 67: 968-977.
- Kim JY, Kim SW, Lee IK, Yoo M. Association of Clusterin Polymorphisms with Coronary Heart Disease in Koreans. *J Exp Biomed Sci*. 2008. 14: 55-58.
- Kim SJ, Yoo M. Analysis of Tandem Repeats in the Promoter Region of iNOS Gene in Korean Genome. *J Exp Biomed Sci*. 2008. 14: 127-130.
- Klannenamark M, Orho M, Groop L. No relationship between identified variants in the uncoupling protein 2 gene and energy expenditure. *Eur J Endocrinol*. 1998. 139: 217-223.
- Nararetani H, Nakamura T, Funahashi T, Kotani K, Miyanaga M, Tokunaga K. Visceral fat is a major contributor for multiple risk factor clustering in Japanese men with impaired glucose tolerance. *Diab Care* 2001. 24: 2127-2133.
- Quihe J, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, Ohishi M, Katsuya T, Rakugi H, Ogihara T. A common polymorphism of uncoupling protein 2 gene is associated with hypertension. *J Hypert*. 2004. 22: 97-102.
- Tremblay AJ, Despres JP, Piche ME, Nadeau A, Bergeron J, Almeras N. Associations between the fatty acid content of triglyceride, visceral adipose tissue accumulation, and components of the insulin resistance syndrome. *Metabolism* 2004. 53: 310-317.
- Walder K, Norman RA, Hanson RI, Schrauwen P, Neverova M, Jenkins CP. Association between uncoupling protein polymorphisms (YCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet*. 1998. 7: 1431-1435.