

고밀도 지단백 콜레스테롤과 베타 3-아드레날린성 수용체 유전자 변이와의 관련성

유병철 · 전만중 · 이용환*

고신대학교 의과대학 예방의학교실 및 건강증진천연물연구소

Received April 7, 2009 / Accepted April 30, 2009

Association of β_3 -Adrenergic Receptor Polymorphisms and High-Density Lipoprotein Cholesterol.

Byeng Chul Yu, Man Joong Jeon and Yong Hwan Lee*. *Department of Preventive Medicine and Institute of Natural Products for Health Promotion, Kosin University, Busan, 602-702 Korea* - The β_3 -adrenergic receptor (ADRB3) is expressed mainly in visceral adipose tissue and is thought to contribute to lipolysis and the delivery of free fatty acids to the portal vein. This study was aimed at evaluating the association between high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and ADRB3 genetic polymorphisms. A total of 991 healthy examinees who were examined in a university hospital, located in Busan City, between May and December 2006 were enrolled in this study. Height, weight, body mass index, waist circumference, and systolic and diastolic blood pressures of the subjects were examined. Intravenous concentrations of fasting blood glucose, total cholesterol, HDL-C, low-density lipoprotein cholesterol, and triglyceride were also measured. After extracting DNA from the subjects, mutations of the +188T>C (Trp64Arg) of exon 1 and +3893T>C of intron 2 on the ADRB3 gene were genotyped using the single base extension method. We have identified a novel mutation of ADRB3 that is located in intron 2. The frequency of its minor allele was 0.164. Both the +188T>C mutation of exon 1 and +3893T>C mutation of intron 2 were significantly associated with HDL-C. The mean concentration of serum HDL-C was significantly lower in the presence of their minor allele 'C'. These results suggest that both mutations of +188T>C of exon 1 and +3895T>C of intron 2 have significant associations with HDL-C in the Korean population.

Key words : ADRB3 gene, high-density lipoprotein cholesterol, polymorphism

서 론

비만은 에너지 섭취와 소비간의 불균형으로 인해 발생하지만 환경적인 요인과 유전적 요인도 일부 작용하게 된다. 갈색 지방조직은 열생산의 주된 조직으로서 설치류에서는 장애가 있으면 비만과 인슐린 저항성, 인슐린 비의존성 당뇨병이 발생되었다고 한다[8,15]. 베타 3-아드레날린성 수용체(β_3 adrenergic receptor, ADRB3)는 7개의 막통과 부위를 가지며 G 단백질과 결합하는 수용체로서 인간의 지방조직, 특히 내장 지방조직에 주로 분포되어 있으며, 그 외에도 췌장, 담낭, 전립선, 심방, 골격근 등에 분포하고 있다[1,19]. 이 수용체는 교감 신경 작용물질과 결합하여 cyclic AMP의 세포내 농도를 증가시키는 adenylate cyclase를 활성화시켜 지방분해와 열발생을 증가시키게 된다[5].

Pima 인디언 642명을 대상으로 한 연구에서 ADRB3 유전자의 64번째 아미노산인 tryptophan이 arginine으로 치환되는 missense 변이(Trp64Arg 다형성)가 처음으로 확인되었으며 열성 동형접합(minor homozygote)을 가진 사람들이 우성 동형접합(major homozygote)이나 이형접합(heterozygote)인 사람보다 비인슐린 의존성 당뇨병의 발생 연령이 더 낮았으므로

Trp64Arg (exon1 +188T>C) 변이가 당뇨병의 조기 발생과 관련 있음이 보고되었다[26]. 그 이후로 많은 연구자들이 ADRB3 유전자의 exon1 +188T>C 변이와 비만, 당뇨병, 등의 대사증후군 구성요소들과의 관련성에 대하여 조사를 하였으나 그 결과들은 일치하지 않고 있다[2,14,20,25,27]. 최근에는 exon1 +188T>C 변이 이외 다른 부위에서의 다형성을 찾고자 하는 연구가 진행되고 있다. Lehman 등[13]은 멕시코 출신의 미국인을 대상으로 한 San Antonio Family Diabetes/Gallbladder Study에서 ADRB3 유전자의 exon1 +188T>C 변이 이외 다른 새로운 유전자 다형성인 Ile62Met 변이가 제2형 당뇨병과 관련이 있음을 밝혀내기도 하였다.

연구자에 따라 결과가 일치되지는 않지만 ADRB3 유전자의 exon1 +188T>C 변이는 비만과 대사증후군과 관련이 있다는 보고도 있으므로 본 연구에서는 ADRB3 유전자의 염기서열 분석을 통하여 한국인에서 호발하는 유전자 다형성 부위를 먼저 확인한 후 이 유전자 다형성들과 고밀도 지단백 콜레스테롤(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)과의 연관성에 대하여 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

***Corresponding author**

Tel : +82-51-990-6459, Fax : +82-51-246-7201
E-mail : yhlee@kosin.ac.kr

연구대상

부산시에 위치하는 일개 대학병원에서 2006년 5월에서

2006년 12월 사이에 건강진단을 받은 수진자 가운데 본 연구에 참여하기를 동의하였던 1,120명 중 자료가 불충분하거나 고혈압, 당뇨, 고지혈증 등으로 약제를 복용중인 사람을 제외한 991명을 대상으로 하였다. 이 가운데 남자는 374명 이었고, 여자는 617명이었다. 대상자들의 임상적 특성은 Table 1과 같았다. 본 연구는 고신대학교 복음병원 임상시험심사위원회 (IRB) 승인을 완료하였다(연구과제번호 09-01).

신체계측 및 혈액검사

대상자들의 신체계측은 신장, 체중, 체질량지수, 허리둘레와 수축기와 이완기 혈압을 측정하였다. 키, 체중은 자동측정기를 이용하고, 복부둘레는 직립자세에서 제대부위를 측정하였다. 혈압측정 후 정맥혈을 채혈하여 혈청내 공복 혈당, 총콜레스테롤, HDL-C, 저밀도 지단백 콜레스테롤(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)과 중성지방 농도를 측정하였다. 공복 혈당, 총콜레스테롤, HDL-C, 중성지방의 농도는 Hitachi 7600-210 및 Hitachi 7180 (Hitachi, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 공복 혈당은 헥소카이네즈법, 총콜레스테롤과 중성지방은 enzymatic colorimetric법, HDL-C는 selective inhibition 방법으로 측정하였으며, LDL-C는 Friedwald 공식을 이용하여 산출하였다[6].

DNA 추출

혈액으로부터 DNA를 추출하기 위해 Wizard genomic DNA purification kit (Promega Co, Madison, WI)를 사용하였다. 혈액 300 μ l를 1.5 ml 튜브에 분주한 후 세포 용해액 900 μ l를 첨가하였다. 위의 용액을 잘 섞은 후 실온에서 10분간 방치하였다. 13,000 rpm에서 20초간 원심 분리하여 상층액의 잔여물이 약 20~30 μ l 남도록 한 후 10~20초간 강하게 섞었다. 핵 용해액을 300 μ l 첨가하고 세포가 완전히 용해될 수 있도록 5~6회 섞었다. 그 후 1.5 μ l의 RNase를 첨가하여 2~5회 섞은 뒤 37°C에서 15분 방치하였다. 단백질을 침전 용액을 100 μ l 첨가한 후 10~20초간 강하게 섞어

13,000 rpm에서 3분간 원심 분리하였다. 상층액을 새로운 튜브로 옮긴 뒤 300 μ l의 isopropanol을 첨가하여 2~5회 섞었다. 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상층액을 제거한 후 DNA 침전물을 확인하였다. 70% 에탄올 900 μ l를 첨가하여 DNA를 세척한 후 13,000 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상층액을 완전히 제거하여 세포를 건조시켰다. DNA rehydration 용액을 100 μ l 첨가하여 65°C에서 1시간 방치하였다. 그 후 4°C에서 24시간 방치한 후 -20°C에서 DNA를 보관하였다.

ADRB3 유전자의 염기서열분석

ADRB3 유전자에서의 단일염기서열다형성을 확인하기 위하여 연구대상자들 가운데 임의로 24명을 추출하여 ADRB3 유전자 전체에 대한 염기서열 분석을 시행하였으며 이때 promoter 부위 약 -1 kb가 포함되도록 하였다. 염기서열 분석을 위해 GenBank sequences (Genome sequence: NT_007995 released on 29, Aug. 2006)에 근거하여 고안한 11개의 primer를 사용하였다. 각 primer 1.25 pmol, genomic DNA 30 ng, 250 μ M dNTPs, 그리고 0.15 U Taq DNA polymerase 혼합물 (Applied Biosystems, Foster City, CA)로 PCR을 하였다. 증폭은 GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler (Applied Biosystems)를 사용하여 touch-down 조건으로 수행하였다 [3]. Nucleotide sequencing은 Big Dye Terminator version 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems)와 ABI 3730 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)로 DNA 염기서열을 분석하였으며, 염기서열의 변이는 DNA star software를 사용하여 chromatogram으로 확인하였다.

염기서열분석 결과 exon1의 +188T>C (Trp64Arg), intron1의 +1219G>T, intron2의 +3558A>T, +3893T>C의 4개의 유전자 변이가 확인되었으나 +188T>C와 +1219G>T, +3558A>T와 +3893T>C는 밀접하게 연관되어(tightly linked) 있었으므로 최종 분석에는 exon1의 +188T>C와 intron2의 +3893T>C를 사용하였다.

Table 1. Clinical characteristics of study subjects

Variable	All (n=991)	Male (n=374)	Female (n=617)
Age (years)	53.1±8.5	53.5±8.6	52.8±8.4
BMI (kg/m ²)	24.8±3.2	24.9±2.7	24.7±3.4
Waist circumference (cm)	82.6±8.5	86.9±7.2	80.0±8.1
Systolic blood pressure (mmHg)	130.5±16.4	133.3±14.9	128.8±17.0
Diastolic blood pressure (mmHg)	77.5±10.5	78.9±10.3	76.7±10.6
Fasting glucose (mg/dl)	103.1±26.3	108.6±31.9	99.7±21.6
Total cholesterol (mg/dl)	196.4±36.1	192.4±35.3	198.9±36.3
LDL-cholesterol (mg/dl)	116.2±32.8	108.6±31.9	119.9±32.9
HDL-cholesterol (mg/dl)	53.8±12.9	51.4±13.4	55.2±12.3
Triglyceride (mg/dl)	136.3±93.5	158.8±102.9	122.7±84.6

Data are mean±S.D.

Single base extension에 의한 유전형 분석

각 PCR primer 1.25 pmol과 genomic DNA 20 ng, 250 mM dNTPs, 0.15 U Taq DNA polymerase 혼합물(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 PCR을 하였다. 증폭은 GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler (Applied Biosystem)를 사용하여 touch-down 조건으로 시행하였다[3]. Primer extension 반응을 보기 위해 1 U SAP (Amersham Life Science)를 PCR 산물에 첨가하여 PCR을 깨끗이 하였다. 이 혼합물은 37°C에서 1시간동안 배양 후 72°C에서 15분간 배양하여 효소를 불활성화 시켰다. Primer extension 반응은 SNaPshot ddNTP primer extension kit (Applied Biosystems)를 사용하여 수행하였다. 1 U SAP를 반응 혼합물에 첨가하여 37°C에서 1시간, 72°C에서 15분간 배양하였다. DNA 표본과 extension 산물, 그리고 Genescan 120 Liz size-standard 용액을 Hi-Di formamide (Applied Biosystems)에 첨가하였다. 이 혼합물을 95°C에서 5분간 배양 후 5분간 열음에 담았다가 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer에서 전기영동하였다. ABI Prism GeneScan and Genotyper (Applied Biosystems) 프로그램 사용하여 결과를 분석하였다.

자료 분석

염기서열분석을 통해 확인된 유전자 다형성의 대립형질에 대한 linkage disequilibrium을 알아보기 위하여 Lewontin's D' (D')과 r²를 구하였다[9]. Hardy-Weinberg equilibrium의 deviation 정도에 대한 유의성을 추정하기 위하여 χ^2 검정을 하였으며, 이형접합율은 대립형질의 빈도인 p와 q=1-p에서 H=1-p²-q²=2p(1-p)의 공식으로 구하였다. HDL-C, 허리둘레, 체질량지수, 중성지방, 공복혈당에 대하여 평균과 표준편차를 구하였으며, 연령을 통제하여 다중 회귀분석을 실시하였다. 통계적 유의수준은 p<0.05인 경우로 하였으며, 사용된 통계프로그램은 SPSS 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)이었다.

결과 및 고찰

ADRB3 유전자 다형성 발현빈도

ADRB3 유전자 다형성인 exon1의 +188T>C의 경우 열성 대립형질인 C의 발현빈도가 0.158 이었으며, intron2의 +3893T>C에서는 열성 대립형질 C의 빈도가 0.164이었다

(Table 2). ADRB3유전자 염기서열 분석을 통해 밝혀낸 intron2의 +3893T>C의 경우 한국인을 대상으로 한 최초의 결과일 뿐만 아니라 다른 인종을 대상으로 한 타 연구자의 결과도 없으므로 다른 인구집단과의 비교가 불가능하였다. 그러나 한국인에서 exon1의 +188T>C와 비슷한 빈도로 유전자 변이가 나타났으므로 앞으로 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다. ADRB3 유전자의 또 다른 유전자 다형성인 exon1의 188T>C의 경우는 많은 연구가 이루어져 있다. 한국인을 대상으로 한 Rho 등[21]의 연구에서 열성 대립형질인 C의 발현 빈도가 0.160으로 보고하여 본 연구와 유사한 빈도를 보였다. 핀란드인을 대상으로 한 Widen 등[27]의 연구에서는 0.115의 빈도를 나타내어 한국인 보다는 낮았으며, 일본인에서의 exon1의 +188T>C 변이의 열성 대립형질 C형 발현 빈도는 0.188 - 0.21로서 한국인보다 높았다[11,17,29]. 홍콩 중국인의 경우에는 열성 대립형질 C형 빈도가 0.127로서 한국인에서의 결과보다는 더 낮았다[24]. Lehman 등[13]이 멕시코 출신의 미국인을 대상으로 하여 발견한 ADRB3 유전자의 Ile62Met 변이는 본 연구에서는 발견하지 못하였다.

ADRB3 유전자 다형성과 HDL-C와의 연관성

HDL-C와 ADRB3 유전자 다형성과의 관련성을 확인하기 위하여 연령을 통제한 후 다중회귀 분석을 실시하였다. 남녀 구분없이 분석하였을 때와 남자에서는 유의한 관련성이 없었으나 여자의 경우 유전자 변이가 일어났던 두 곳 모두에서 HDL-C와 관련성이 있었다. exon1의 +188T>C의 우성 동형접합일 경우 평균 HDL-C 농도가 56.05±12.55 mg/dl, 이형접합인 경우는 53.02±11.27 mg/dl, 열성 동형접합인 경우는 52.29±12.84 mg/dl로서 열성 대립형질인 C가 있을 경우 HDL-C가 유의하게 낮았다(p<0.05). intron2의 +3893T>C에서는 우성 동형접합일 경우 평균 HDL-C 농도가 56.05±12.61 mg/dl, 이형접합인 경우는 53.11±11.14 mg/dl, 열성 동형접합인 경우는 52.28±12.46 mg/dl로서 역시 열성 대립형질인 C가 있을 경우 HDL-C가 유의하게 낮았다(p<0.05, Table 3). 일본인을 대상으로 한 Shiwaku 등[22]의 연구와 폴란드인을 대상으로 한 Dunajska 등[4]의 연구에서도 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C의 변이가 있을 경우 HDL-C의 농도가 낮았음을 보고하였다. 즉, 일본인을 대상으로 한 연구에서는 식이와 활동량을 조절하고 3개월 뒤에 ADRB3 유전자의 변이가 체중감소

Table 2. Frequencies of ADRB3 polymorphisms in Korean subjects (n=991)

Loci	Region	AA change	Genotype			Frequency ¹⁾	Heterozygosity	HWE ²⁾
+188T>C	Exon1	Trp64Arg	T	CT	C	0.158	0.267	0.222
			707	254	30			
+3893T>C	Intron2	-	T	CT	C	0.164	0.275	0.461
			695	266	30			

¹⁾Frequencies of rare alleles. ²⁾p value for Hardy-Weinberg equilibrium.

Table 3. Regression analyses of ADRB3 polymorphisms with HDL cholesterol in Korean subjects (n=991)

Subgroup	Loci	C/C*	C/R*	R/R*	p
All (n=991)	+188T>C	707(54.36±13.00)	254(52.34±11.92)	30(52.07±16.17)	0.08
	+3893T>C	695(54.40±13.08)	266(52.32±11.73)	30(52.23±16.14)	0.07
Male (n=374)	+188T>C	250(51.28±13.27)	111(51.47±12.70)	13(51.77±20.29)	0.85
	+3893T>C	243(51.32±13.41)	119(51.34±12.40)	12(52.17±21.14)	0.92
Female (n=617)	+188T>C	457(56.05±12.55)	143(53.02±11.27)	17(52.29±12.84)	0.01
	+3893T>C	452(56.05±12.61)	147(53.11±11.14)	18(52.28±12.46)	0.01

*C/C, C/R, and R/R represent homozygotes for the common allele, heterozygotes and homozygotes for the rare allele, respectively. Genotype distributions, means and standard deviations (SD) of each value, and *p*-values of co-dominant model for regression analyses are shown. Bold values indicate the case of *p*<0.05.

에 영향을 미치는지를 관찰한 결과 체질량지수, 체중, 체지방, 허리둘레, 엉덩이둘레, 혈당 등에 있어서는 관련이 없었으나 HDL-C는 유의하게 감소하였음을 보고하였다. 폴란드의 폐경기 여성을 대상으로 한 ADRB3 유전자 다형성과 대사증후군 간의 관련성에 대한 연구에서도 체질량지수, 허리둘레, 중성지방, 공복 혈당 등과는 관련이 없었으나 HDL-C만 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C에 변이가 있을 경우 유의하게 감소하였음을 보고하였다. 그러나 일본인을 대상으로 한 Matsushita 등[17]의 연구에서는 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C 변이와 HDL-C 농도사이에는 아무런 연관성이 없었다고 보고하였다. 본 연구에서 발견한 ADRB3 유전자 intron2의 +3893T>C와 HDL-C의 관련성에 대해서는 비교할 타 연구가 없었다. ADRB3 유전자 다형성과 HDL-C와의 관련성에 대하여 연구 결과가 이렇게 일치되지 않는 이유는 대상 인구집단의 차이에 기인한 면도 있겠지만 ADRB3 유전자가 HDL-C에 대하여 미치는 영향이 적기 때문일 가능성도 있을 것으로 생각된다.

ADRB3 유전자 다형성과 대사증후군 구성요소들 간의 연관성

ADRB3 유전자 다형성과 대사성 장애와 관련된 표현형(허리둘레, 체질량지수, 중성지방, 공복혈당)과의 관련성에 대하여 연령을 통제한 후 다중회귀 분석을 실시하였다. 분석 결과 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C와 intron2의 +3893T>C 다형성과 유의한 관련이 있는 대사성 장애의 표현형은 없었다 (Table 4). Walston 등[26]은 Pima 인디언들을 대상으로 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C 변이가 내장 지방조직의 에너지 대사 균형을 변화시킴으로써 인슐린 비의존성 당뇨병의 조기 발생에 영향을 미친다는 보고를 하였으며, Widen 등[27]은 핀란드인을 대상으로 한 연구에서 exon1의 +188T>C 변이가 복부비만과 인슐린 저항성에 영향을 미침으로써 비인슐린 의존성 당뇨병의 조기 발견과 관련이 있다고 하였다. Clement 등[2]은 프랑스인을 대상으로 한 연구에서 exon1의 +188T>C 변이가 체중증가와 관련이 있다고 하였다. 동양인을 대상으로

한 연구로는 Kadowaki 등[29]과 Yoshida 등[28]이 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C 변이가 일본인에서 비만이나 당뇨병에 병리적으로 유의한 영향을 미친다고 보고하였으며 Masuo 등[16]은 exon1의 +188T>C의 우성 대립형질인 T가 혈압 증가와 관련이 있다고 보고한 바 있다. 그러나 캐나다 원주민을 대상으로 한 연구에서는 exon1의 +188T>C 변이와 비만과 비인슐린 의존성 당뇨병간에는 아무런 연관성이 없었다고 하였으며[10], 일본인을 대상으로 한 Yuan 등[29]의 연구에서도 ADRB3 유전자의 exon1의 +188T>C 변이와 비만과는 관련이 없다고 보고하였고, 역시 일본인을 대상으로 한 Matsushita 등[17]의 연구에서도 exon1의 +188T>C 변이와 체중증가 또는 체질량 지수와는 관련성이 없었다고 하였다. Tamaki 등[23]도 역시 일본인들을 대상으로 한 연구에서 exon1의 +188T>C 변이와 대사증후군 간에는 아무런 연관성이 없는 것으로 보고하였다. 홍콩 중국인을 대상으로 한 연구에서는 exon1의 +188T>C 변이가 당뇨병, 고혈압, 지질이상과는 관련성이 없었으나 비만과는 관련이 있었다고 하였다[24]. Miyaki 등[18]은 ADRB3 유전자 단독으로는 비만과 관련이 없으며 고에너지 식이를 섭취하는 것과 같은 환경적 요인이 ADRB3 유전자 다형성과 상호작용하여 비만의 위험도를 증가시킨다고 하였다. 본 연구 결과와 타 연구자들의 결과를 볼 때 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C 변이가 직접적으로 비만 또는 당뇨와 관련이 있다고 판단하기는 어려울 것으로 생각된다. ADRB3 유전자 intron2의 +3893T>C 변이와의 관련성에 대해서는 역시 비교할 수 있는 연구가 없었다.

이렇게 연구자들마다 결과에 있어서 차이가 나는 이유는 대사증후군같은 다요인의 질환에서는 임상적 표현형에 영향을 미칠 수 있는 유전형간의 상호작용이 있을 수 있다는 점이다. 이는 본 연구의 제한점으로서 대사증후군과 관련 있을 것으로 추정되는 후보 유전자가 현재 많이 밝혀져 있으므로 유전자-유전자 상호작용에 대해서도 고려를 할 필요가 있을 것으로 판단된다. Kissebah 등[12]은 3번과 17번 염색체의 유전자가 대사증후군의 표현형에 영향을 미칠 것으로 보고한 바 있으므로 앞으로 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

Table 4. Regression analyses of ADRB3 polymorphisms with metabolic phenotypes in Korean subjects (n=991)

Component	Gender	Loci	C/C*	C/R*	R/R*	p
Waist circumference	All	+188T>C	707(82.29±8.44)	254(83.54±8.35)	30(82.19±9.37)	0.65
		+3893T>C	695(82.31±8.46)	266(83.46±8.37)	30(81.91±8.98)	0.82
	Male	+188T>C	250(86.65±7.00)	111(87.24±7.35)	13(87.50±9.31)	0.44
		+3893T>C	243(86.71±7.02)	119(87.17±7.34)	12(86.58±9.09)	0.66
	Female	+188T>C	457(79.91±8.21)	143(80.66±7.96)	17(78.13±7.33)	0.89
		+3893T>C	452(79.95±8.22)	147(80.45±7.95)	18(78.79±7.64)	0.86
Body mass index	All	+188T>C	707(24.67±2.90)	254(25.06±3.79)	30(24.71±2.92)	0.22
		+3893T>C	695(24.68±2.92)	266(25.00±3.72)	30(24.68±2.88)	0.33
	Male	+188T>C	250(24.83±2.74)	111(24.89±2.68)	13(25.82±3.33)	0.40
		+3893T>C	243(24.83±2.77)	119(24.92±2.65)	12(25.47±3.26)	0.53
	Female	+188T>C	457(24.58±2.98)	143(25.20±4.48)	17(23.93±2.40)	0.43
		+3893T>C	452(24.61±3.00)	147(25.07±4.41)	18(24.20±2.59)	0.55
Triglyceride	All	+188T>C	707(134.30±93.94)	254(140.19±92.27)	30(150.93±94.60)	0.46
		+3893T>C	695(134.08±94.35)	266(141.14±91.57)	30(145.40±92.04)	0.49
	Male	+188T>C	250(159.84±103.44)	111(156.95±103.07)	13(154.46±96.94)	0.78
		+3893T>C	243(160.35±104.46)	119(157.06±101.05)	12(144.58±94.17)	0.60
	Female	+188T>C	457(120.33±85.26)	143(127.19±80.92)	17(148.24±95.68)	0.21
		+3893T>C	452(119.96±85.27)	147(128.24±81.20)	18(145.94±93.34)	0.16
Fasting glucose	All	+188T>C	707(103.19±27.63)	254(102.75±22.92)	30(103.00±22.00)	0.48
		+3893T>C	695(103.24±27.81)	266(102.66±22.59)	30(102.80±21.99)	0.43
	Male	+188T>C	250(108.66±34.15)	111(107.59±26.88)	13(115.85±26.81)	0.82
		+3893T>C	243(108.91±34.52)	119(107.13±26.24)	12(116.58±27.87)	0.95
	Female	+188T>C	457(100.19±22.81)	143(99.00±18.54)	17(93.18±10.08)	0.14
		+3893T>C	452(100.19±22.89)	147(99.03±18.45)	18(93.61±9.95)	0.16

*C/C, C/R, and R/R represent homozygotes for the common allele, heterozygotes and homozygotes for the rare allele, respectively. Genotype distributions, means and standard deviations (SD) of each value, and p-values of co-dominant model for regression analyses are shown.

결론적으로 한국인을 대상으로 ADRB3 유전자의 염기서열 분석을 통하여 intron2의 +3893T>C 변이를 새로이 발견하였으며, 그 열성 대립형질의 발현빈도는 0.164이었다. 그리고 ADRB3 유전자 exon1의 +188T>C와 intron2의 +3893 T>C 변이가 HDL-C와 관련이 있음을 확인하였다.

요 약

지방분해와 열생산에 관여한다고 알려진 ADRB3 유전자의 염기서열 분석을 통하여 한국인에서 호발하는 유전자 다형성 부위를 먼저 확인한 후 이 유전자 다형성들과 HDL-C와의 연관성에 대하여 조사하고자 2006년 5월에서 12월 사이에 부산 지역의 일개 대학병원에서 건강진단을 받은 991명을 대상으로 신장, 체중, 체질량지수, 허리둘레, 고밀도 지단백 콜레스테롤, 중성지방, 공복 혈당을 측정하였으며, 대상자들의 혈액에서 DNA를 분리하여 ADRB3 유전자에서 흔히 발생하는 유전자다형성 부위를 확인하였다. 연구결과 한국인에서 ADRB3 유전자의 intron2 +3893T>C의 변이를 처음으로 발견하였으며 열성 대립형질의 발현빈도는 0.164이었다. Exon1의 +188T>C와 intron2의 +3893T>C의 열성 대립형질인 C형이 있

을 경우 HDL-C의 농도가 낮았다. 따라서 ADRB 유전자 다형성은 HDL-C과 관련이 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2007학년도 고신대학교 의과대학 학술연구비의 지원에 의해 수행되었음.

References

1. Chamberlain, P. D., K. H. Jennings, F. Paul, J. Cordell, A. Berry, S. D. Holmes, J. Park, J. Chambers, M. V. Sennitt, M. J. Stock, M. A. Cawthorne, P. W. Young, and G. J. Murphy. 1999. The tissue distribution of the human beta3-adrenoceptor studied using a monoclonal antibody: direct evidence of the beta3-adrenoceptor in human adipose tissue, atrium and skeletal muscle. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **23**, 1057-1065.
2. Clement, K., C. Vaisse, B. S. Manning, A. Basdevant, B. Guy-Grand, J. Ruiz, K. D. Silver, A. R. Shuldiner, P. Froguel, and A. D. Strosberg. 1995. Genetic variation in the beta3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight

- in patients with morbid obesity. *N. Engl. J. Med.* **333**, 352-354.
3. Don, R. H., P. T. Cox, B. J. Wainwright, K. Baker, and J. S. Mattick. 1991. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res.* **19**, 4008.
 4. Dunajska, K., F. Lwow, A. Milewicz, D. Jedrzejuk, L. Laczanski, K. Belowska-Bien, J. Urban, and A. Szuba. 2008. beta(3)-adrenergic receptor polymorphism and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Gynecol. Endocrinol.* **24**, 133-138.
 5. Emorine, L. J., S. Marullo, M. M. Briand-Sutren, G. Patey, K. Tate, C. Delavier-Klutchko, and A. D. Strosberg. 1989. Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science* **245**, 1118-1121.
 6. Friedewald, W. T., R. I. Levy, and D. S. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**, 499-502.
 7. Garcia-Rubi, E. and J. Calles-Escandon. 1999. Insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: its relationship with the beta 3-adrenergic receptor. *Arch. Med. Res.* **30**, 459-464.
 8. Hamann, A., H. Benecke, Y. Le Marchand-Brustel, V. S. Susulic, B. B. Lowell, and J. S. Flier. 1995. Characterization of insulin resistance and NIDDM in transgenic mice with reduced brown fat. *Diabetes* **44**, 1266-1273.
 9. Hedrick, P. W. 1987. Genetic disequilibrium measures: proceed with caution. *Genetics* **117**, 331-341.
 10. Hegele, R. A., S. Harris, A. J. G. Hanley, H. Azouz, P. W. Connelly, and B. Zimman. Absence of association between genetic variation of the β 3-adrenergic receptor and metabolic phenotypes in Oji-Cree. *Diabetes Care* **21**, 851-854.
 11. Kadowaki, H., K. Yasuda, K. Iwamoto, S. Otabe, K. Shimokawa, K. Silver, J. Walston, H. Yoshinaga, K. Kosaka, N. Yamada, Y. Saito, R. Hagura, Y. Akanuma, A. Shuldiner, Y. Yazaki, and T. Kadowaki. 1995. A mutation in the beta 3-adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **215**, 555-560.
 12. Kissebah, A. H., G. E. Sonnenberg, J. Myklebust, M. Goldstein, K. Broman, R. G. James, J. A. Marks, G. R. Krakower, H. J. Jacob, J. Weber, L. Martin, J. Blangero, and A. G. Comuzzie. 2000. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **97**, 14478-14483.
 13. Lehman, D. M., J. Hamlington, K. J. Hunt, R. J. Leach, R. Arya, H. Abboud, R. Duggirala, J. Blangero, H. H. Goring, and M. P. Stern. 2006. A novel missense mutation in ADRB3 increases risk for type 2 diabetes in a Mexican American family. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **22**, 331-336.
 14. Li, L. S., F. Lonnqvist, H. Luthman, and P. Arner. 1996. Phenotypic characterization of the Trp64Arg polymorphism in the beta 3-adrenergic receptor gene in normal weight and obese subjects. *Diabetologia* **39**, 857-860.
 15. Lowell, B. B., V. S. Susulic, A. Hamann, J. A. Lawitts, J. Himms-Hagen, B. B. Boyer, L. P. Kozak, and J. S. Flier. 1993. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* **366**, 740-742.
 16. Masuo, K., T. Katsuya, Y. Fu, H. Rakugi, T. Ogihara, and M. L. Tuck. 2005. Beta2- and beta3-adrenergic receptor polymorphisms are related to the onset of weight gain and blood pressure elevation over 5 years. *Circulation* **28**, 3429-3434.
 17. Matsushita, Y., T. Yokoyama, N. Yoshiike, Y. Matsumura, C. Date, K. Kawahara, and H. Tanaka. 2003. The Trp64Arg polymorphism of the β 3-adrenergic receptor gene is not associated with body weight or body mass index in Japanese: A longitudinal analysis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 5914-5920.
 18. Miyaki, K., S. Sutani, H. Kikuchi, I. Takei, M. Murata, K. Watanabe, and K. Omae. 2005. Increased risk of obesity resulting from the interaction between high energy intake and the Trp64Arg polymorphism of the β 3-adrenergic receptor gene in healthy Japanese men. *J. Epidemiol.* **15**, 203-210.
 19. Perfetti, R., H. Hui, K. Chamie, S. Binder, M. Seibert, J. McLenithan, K. Silver, and J. D. Walston. 2001. Pancreatic beta-cells expressing the Arg64 variant of the beta(3)-adrenergic receptor exhibit abnormal insulin secretory activity. *J. Mol. Endocrinol.* **27**, 133-144.
 20. Rissanen, J., J. Kuopusjarvi, J. Pihlajamaki, R. Sipilainen, S. Heikkinen, M. Vanhala, P. Kekalainen, J. Kuusisto, and M. Laakso. 1997. The Trp64Arg polymorphism of the beta3-Adrenergic receptor gene. Lack of association with NIDDM and features of insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* **20**, 1319-1323.
 21. Rho, Y. H., S. J. Choi, Y. H. Lee, J. D. Ji, and G. G. Song. 2007. The association between hyperuricemia and the Trp64Arg polymorphism of the beta-3 adrenergic receptor. *Rheumatol. Int.* **27**, 835-839.
 22. Shiwaku, K., A. Nogi, E. Anuurad, K. Kitajima, B. Enkhmaa, K. Shimono, and Y. Yamane. 2003. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **27**, 1028-1036.
 23. Tamaki, S., Y. Nakamura, Y. Tabara, T. Okamura, Y. Kita, T. Kadowaki, Y. Tsujita, M. Horie, T. Miki, and H. Ueshima. 2006. Relationship between metabolic syndrome and Trp64Arg polymorphism of the β 3-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki Study. *Hypertens Res.* **29**, 891-896.
 24. Thomas, G. N., B. Tomlinson, J. C. N. Chan, R. P. Young, and J. A. J. H. Critchley. 2000. The Trp64Arg polymorphism of the β 3-adrenergic receptor gene and obesity in Chinese subjects with components of the metabolic syndrome. *Int. J. Obes.* **24**, 545-551.
 25. Urhammer, S. A., J. O. Clausen, T. Hansen, and O. Pedersen. 1996. Insulin sensitivity and body weight changes in young white carriers of the codon 64 amino acid polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene. *Diabetes* **45**, 1115-1120.
 26. Walston, J., K. Silver, C. Bogardus, W. C. Knowler, F. S. Celi, S. Austin, B. Manning, A. D. Strosberg, M. P. Stern,

- N. Raben, J. D. Sorkin, J. Roth, and A. R. Shuldiner. 1995. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta₃-adrenergic-receptor gene. *N. Engl. J. Med.* **333**, 343-347.
27. Widen, E., M. Lehto, T. Kanninen, J. Walston, A. R. Shuldiner, and L. C. Groop. 1995. Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N. Engl. J. Med.* **333**, 348-351.
28. Yoshida, T., N. Sakane, T. Umekawa, M. Sakai, T. Takahashi, and M. Kondo. 1995. Mutation of β 3 adrenergic receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet* 1433-1434.
29. Yuan, X., K. Yamada, K. Koyama, F. Ichikawa, S. Ishiyama, A. Koyanagi, W. Koyama, and K. Nonaka. 1997. Beta 3-adrenergic receptor gene polymorphism is not a major genetic determinant of obesity and diabetes in Japanese general population. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **37**, 1-7.