사상의학회지
J. of. Const. Med.
Vol.9. No.2. 1997.

Amp-FLP을 利用한 四象體質의 遺傳的 分析 硏究

조동욱*·안선경*·김도균*·김대원*·지상은*·이의주**·홍석철**·고병희**·조황성*

Genetic Analysis of Sasang Constitution by Amp-FLP Method

Dong-Wuk Cho, Sun-Kyung Ahn, Do-Kyun Ki, Dae-Won Kim, Sang-En Ji, Eui-Ju Lee, Seok-Chull Hong, Byung-Hee Koh, Whang-Sung Cho

Korea Instiute of Oriental Medicine

Amp-FLP is a one of the most frequently used human genetic analysis methods which adopts STR and VNTR typings. In this study, 100 genomic DNA samples of Taeum, Soyang and Soum constitution group were analysed by Amp-FLP method. The allele distribution of three STR loci(THO1, vWA and CSF1PO) and one VNTR locus(MCT118) of each different constitution group were investigated and the allele distribution was statistically evaluated. It was found out that the allele distribution of MCT118 and THO1 loci was not significantly different among different constitutions. However, the allele distribution of vWA showed p-value of 0.02056(Soyang group) and 2.41×10^{-10}(Soum group) which is much lower than significant level of p-value 0.05. Also, p-value of CSF1PO in Soum group was found out to be 4.65×10^{-17}. Therefore, it is expected that vWA and CSF1PO loci can be used as an indicator for gnenetic difference of different constiturion if the same result is obtained with sufficient number of samples.

요 약

본 연구는 사상의학의 객관화 및 그 임상활동에 관한 유용한 자료를 제공함을 목적으로, 사상체질진단법

* 한국한의학연구원
** 경희대학교 한의과대학 사상의학과

에 의해서 분류된 태음인, 소양인, 소음인 그룹에 대하여 현재 유전적 분석 연구에 많이 사용되는 Amp-FLP법을 이용하여 VNTR인 MCT118(D1S80)과 STR 중 3종의 locus (THO1, vWA, CSF1PO)를 대상으로 allele distribution을 조사·작성하였다. 그리고 이러한 결과들은 Chi-square test를 통하여 통계학적인 유의성이 검토되었다. MCT118과 THO1은 각 체질별 집단의 특이성을 대변할 만한 유의적인 요소가 없는 것으로 나타났으나, vWA의 경우는 각 체질집단 중 소양인(0.002056)과 소음인(2.41×10^{-10})집단이 유의수준인 0.05보다 현저히 낮은 p-value를 나타내었다. 또한, CSF1PO에서도 소음인 집단이 4.65×10^{-17}의 매우 낮은 p-value를 나타내었다. 따라서, 유의성 있는 차이를 보여준 vWA와 CSF1PO의 경우, 충분한 크기의 표본을 가지고 유전자 분석을 실시하여 위와 동일한 결과를 얻는다면 체질간 유전적 차이를 보여주는 지표로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

Ⅰ. 서 론

사상의학은 동무 이제마 선생이 19세기 말경 그의 저서 『동의수세보원』과 『격치고』에서 제시한 새롭고 독창적인 체질의학으로, 사람의 체질적인 유형을 태양인, 소양인, 태음인, 소음인으로 구분하고 각 체질에 대한 생리와 병리, 진단감별법, 그리고 치료와 약물에 이르기까지 서로 연계를 갖고 이를 임상에 응용할 수 있는 새로운 방향을 제시하고 있으나[1], 사상의학에서 사용되는 체질진단의 방법은 거시적인 방법들로서 다소 객관성과 정확성이 떨어진다고 볼 수 있다. 한편 사람의 모든 형질은 유전자의 정보에 따라 나타나는 것이며 사상의학에서 제시하는 체질적 속성 역시 유전자가 지닌 형질에 내재되어 있는 속성이라 할 수 있으므로, 본 연구는 현재 유전적 분석 연구에 많이 사용되는 유전자지문(DNA fingerprinting)법[2] 등을 이용하여 각 체질을 인체유전학적인 면에서 검토·조사함으로써, 체질별 상이성 및 상관성을 찾아보고 체질분류의 객관적인 기준을 마련하고자 시도되었다.

DNA fingerprinting법은 1985년 영국의 Jeffreys에 의해 처음 실시되었으며, 초기에는 RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphisms)법[3]을 이용하여 인체 염색체상에 존재하는 minisatellites의 다형성을 분석함으로써 법의학(forensic science)에 적용되어져 왔다. 그 후, DNA typing에 PCR(Polymerase Chain Reaction) 기법을 적용한 Amp-FLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)법이 등장하였는데, Amp-FLP법은 인체 유전자의 intervening sequence내에 존재하는 tandem repeat의 길이 다형성을 분석하는 기법으로, 중합효소연쇄반응법인 PCR 기법을 이용하여 염색체상의 특정 tandem repeat region(VNTR, STR)을 증폭시킬 수 있는 primer로 DNA를 증폭시켜 유전적 다형성을 검출하는 방법이다.

VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)은 16~70 bp의 repaeting unit를 갖는 유전자이며, STR(Short Tandem Repeats)은 일반적으로 core sequence가 2~6 bp repeat이며 인간 염색체에 자주 나타나는 것으로 알려져 있다. 특히, trinucleotide repeat나 tetranucleotide repeat의 STR은 전체 염색체에 걸쳐 매 300 kb에서 500 kb마다 분포되어 있는 것으로 추정된다.

본 연구에서는 각 체질을 유전학적인 면에서 검

토하기 위해서 사상체질진단법에 의하여 분류된 태음인, 소양인, 소음인 그룹에 대해서 Amp-FLP 법을 이용하여, allele가 많아 높은 변별력을 지니는 VNTR인 MCT118과 알려져 있는 tetranucleotide repeat의 STR 중 3종의 locus(THO1, vWA, CSF1PO)를 대상으로 allele distribution을 조사·작성하고 Hardy-Weinberg Equilibrium 및 Chi-square test를 실시하여 통계학적인 유의성을 검토하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 사상체질의 판별 및 혈액 샘플의 채취

사상체질의 판별은 경희의료원 동서종합건강진단센터에 1996년 4월부터 7월과 1997년 7월부터 9월까지 내원한 남녀를 대상으로 한국한의학연구소 임상연구부와 경희대학교 한의과대학의 사상의학교실이 공동으로 수행하였다. 유전적 분석 연구에 사용된 혈액시료는 한국한의학연구소의 임상연구부와 경희대학교 한의과대학의 사상의학교실에서 실시한 체질 판별이 일치한 경우의 개인들로부터 각 2㎖씩 채취하여 사용하였다.

2. 혈액으로부터 제놈 DNA의 분리

혈액 2㎖에 4㎖의 RBCL 완충용액(Red blood cell lysis buffer; 10 mM Tris-Cl(pH 8.0), 10 mM NaCl, 10 mM $MgCl_2$)을 넣고 잘 섞은 다음, 3,000 rpm에서 10 초간 원심분리하여 적혈구를 제거하고 침전물인 백혈구층을 분리하였다. 위의 과정을 한 차례 반복한 후, RBCL 대신에 3차 증류수를 넣어 백혈구층을 세척하였다. 백혈구 침전물에 lysis buffer(10 mM Tris-Cl(pH 8.0), 1 mM EDTA, 100 mM NaCl, 1% SDS, 200㎍/㎖ proteinase K) 1㎖를 넣고, 56℃에서 30~40rpm으로 흔들어 주면서 3 시간동안 방치하였다. 4㎖의 phenol/water/ chloroform 혼합물을 첨가하여 잘 섞어 준 다음, 4,000rpm에서 30초간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 새로운 tube에 옮기고 여기에 2배부피의 cold absolute ethanol을 넣어 잘 섞은 후, DNA의 침전이 생기는 것을 확인하였다. DNA 침전물을 유리 막대로 잘 걷어 eppendorf tube에 옮긴 다음 건조시켰다. 건조가 끝난 후 100~200㎕의 3차 증류수에 DNA 침전물을 용해시켰다. 추출된 DNA는 Fluorometer (Hoefer Inc., DyNA Quant 200 model)를 사용하여 정량하였고 PCR 반응에 적합한 농도로 맞추기 위해, 일부를 희석하여 10 ng/㎕의 농도로 맞추어 PCR 반응의 template DNA로 사용하였다.

3. VNTR typing

본 연구에서는 MCT118(D1S80)을 genetic marker로 이용하여 태음인 소양인, 소음인의 유전적 다형성을 분석하였다.

1) PCR 반응

MCT118의 증폭을 위하여 사용된 primer의 서열은 다음과 같다.

5′-GAA ACT GGC CTC CAA ACA CTG CCC GCC G-3′ (forward)

5′-GTC TTG TTG GAG ATG CAC GTG CCC CTT GC-3′ (reverse)

Reaction mixture는 20 ng의 blood DNA를 template로 사용하고 총 20㎕의 reaction

volume으로 다음과 같이 만들었다.

10 mM Tris-Cl(pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTP, 0.3μM each primer, 1 unit Recombinant Taq DNA polymerase(TAKARA SHUZO CO.)

PCR 조건은 다음과 같다.

사용기기 : Thermalcycler(Perkin Elmer model 2400)

Cycle condition : 95℃ 10 sec, 67℃ 10 sec, 70℃ 30 sec, 27 cycles

Genotype 결정에 표지 DNA로 쓰이는 allelic ladder는 Perkin Elmer의 MCT118 Allelic ladder를 구입하여 사용하였다.

2) 전기영동 및 염색

전기영동은 다음과 같이 discontinuous vertical gel system을 사용하였다.

Gel : 7% T, 2% C, 60 mM Tris-formate polyacrylamide gel, 0.8 mm thick

Running Buffer : Tris-Borate buffer

Gel Apparatus : GIBCO BRL, Model SA32(32㎝ long)

Running condition : 8 mA

전기영동이 끝난 gel은 silver staining으로 염색하여 DNA band를 관찰하였다. 즉, gel을 증류수로 세척한 후 1% 질산용액에서 5분간동안 산화시켰다. 증류수로 간단히 세척한 후, silver nitrate 용액(2g/ℓ)에서 20분간 흔들어 주면서 염색을 하였다. 다시 증류수로 1 분간 세척한 후, 환원시약인 anhydrous sodium carbonate-formalin 용액(30g/ℓ-0.5㎖/ℓ)에서 DNA band가 보일 때까지 흔들어 주었다. Band의 양상에 따라 10% acetic acid로 반응을 멈추고 증류수로 세척하였다. 반응이 끝난 gel은 3MM chromatography paper에 붙여 gel dryer로 말려 보관하였다.

4. STR typing

본 연구에서는 STR 분석을 위하여 THO1(TC11)과 vWA(vWF), 그리고 CSF1PO locus의 allele를 조사하였다.

1) PCR 반응

(1) THO1(TC11)

THO1의 증폭을 위하여 사용된 primer의 서열은 다음과 같다.

5′-GTG GGC TGA AAA GCT CCC GAT TAT-3′ (forward)

5′-AAT CAA AGG GAT TCT GGG CTC TGG-3′ (reverse)

Reaction mixture는 10 ng의 blood DNA를 template로 사용하고 상업적으로 시판되는 STR typing kit(Promega Co.)를 사용하여 총 20㎕의 reaction volume으로 다음과 같이 만들었다.

10X buffer 2㎕, 10X primer pair 2㎕, 0.5 unit Recombinant Taq DNA polymerase (TAKARA SHUZO CO.)

PCR 조건은 다음과 같다.

사용기기 : Thermalcycler (Perkin Elmer model 2400)

Cycle condition : 96℃ 2 min preheating then,

94℃ 1 min, 60℃ 1 min, 70℃ 1.5 min, 10 cycles

linked to 90℃ 1 min, 60℃ 1 min, 70℃ 1.5 min, 20 cycles

(2) vWA(vWF)

vWA의 증폭을 위하여 사용된 primer의 서열은 다음과 같다.

5′-CCC TAG TGG ATG ATA AGA ATA ATC-3′ (forward)

5′-GGA CAG ATG ATA AAT ACA TAG GAT GGA TGG-3′ (reverse)

Reaction mixture은 상업적으로 시판되는 STR typing kit(Promega Co.)를 사용하였으며, 제조 및 PCR 조건은 THO1과 동일하였다.

(3) CSF1PO

CSF1PO의 증폭을 위하여는 상업적으로 시판되는 STR typing kit(Promega Co.)를 사용하였다.

Reaction mixture는 10 ng의 blood DNA를 template로 사용하여 총 20㎕의 reaction volume으로 다음과 같이 만들었다.

10X buffer 2㎕, 10X primer pair 2㎕, 0.5 unit Recombinant Taq DNA polymerase (TAKARA SHUZO CO.)

PCR 조건은 다음과 같다.

사용기기 : Thermalcycler (Perkin Elmer model 2400)

Cycle condition : 96℃ 2 min preheating then,

94℃ 1 min, 64℃ 1 min, 70℃ 1.5 min, 10 cycles

linked to 90℃ 1 min, 64℃ 1 min, 70℃ 1.5 min, 20 cycles

2) 전기영동 및 염색

(1) THO1(TC11)과 vWA(vWF)

THO1과 vWA(vWF)의 전기영동은 다음과 같이 discontinuous vertical gel system을 사용하였다.

Gel : 8% T, 5% C, 60 mM Tris-formate polyacrylamide gel, 0.8mm thick

Running Buffer : Tris-Borate buffer

Gel Apparatus : GIBCO BRL, Model SA32(32㎝ long)

Running condition : 8 mA

전기영동이 끝난 gel은 VNTR의 경우와 동일하게 silver staining법에 의해 염색하여 DNA band를 관찰하였다.

(2) CSF1PO

CSF1PO의 전기영동은 다음과 같이 denaturing gel system을 사용하였다.

Gel : 5% T, 5% C, 7M Urea, Tris-borate denaturing polyacrylamide gel, 0.8mm thick

Running Buffer : 1X Tris-Borate buffer

Gel Apparatus : GIBCO BRL, Model SA32(32㎝ long)

Running condition : 35 W

증폭이 끝난 시료에 동량의 2X loading dye(Promega Co.)를 가하고 95℃에서 2 분간 heating 한 후, 3㎕를 loading 하였다.

전기영동이 끝난 후, gel은 VNTR의 경우와 동일하게 silver staining법으로 염색하여 DNA band를 관찰하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. MCT118(D1S80)

MCT118 locus는 1987년 처음으로

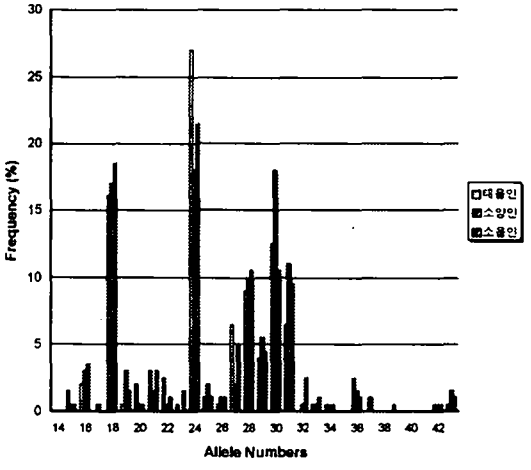
Nakamura등[4]에 의해 존재가 밝혀진 이후 많은 사람들을 대상으로 법의학적인 측면에서 연구가 이루어져 왔다. MCT118 locus는 1번 염색체에 위치하며 5′ GAAGA CCACC GGAAA G 3′의 16 bp(염기)를 기본 repeating unit로 하는 대표적인 VNTR locus이다. 일반적으로 16 bp의 core repeating unit가 14번 반복하는 것과 16번부터 41번 반복하는 것을 합쳐 총 27종의 allele가 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인으로 분류된 각 그룹별 100인을 대상으로 MCT118에 대한 VNTR typing을 실시하여 체질 그룹별 유전적 상관성을 조사하였다.

Table 1에서 observed No.는 태음, 소양, 소음 각 체질별 조사 대상인 100명에서 관찰된 MCT118 locus의 repeat number의 분포를 나타낸 것이고, 빈도를 나타내는 frequency는 소수 셋째 자리에서 반올림한 % 값으로 나타내었다. 이 후 모든 Table은 체질별로 조사된 각 locus에 대해서 위와 같은 방식으로 작성되었다. Fig. 1에서는 각 체질별 allele 분포의 빈도수를 막대그래프(histogram)로 나타내었다. 태음인의 경우 allele의 분포는 한국인에게서 많이 나타나는 allele No. 18에서 그 빈도가 비교적 높은 것(16%)으로 나타났지만 소양인은 allele No. 30(18%), 18(17%)의 순으로, 소음인의 경우는 allele No. 24(21.5%), 18(18.5%)의 순으로 나타났으며, 그 이외의 allele에서는 각 체질별로 유의성있게 다른 분포 양상을 보이지 않는 것으로 나타났다(Table 1).

위의 통계가 random population에 적용되는 Hardy-Weinberg Equilibrium을 만족하는지 검정하기 위하여 Hardy-Weinberg Law에 따라 expected genotype frequency를 계산하고 observed genotype frequency와 Chi-square test을 통하여 유의성을 알아보았다. 그 결과, 전체

〈Table 1〉 MCT118 allele distribution of *Taeum*, *Soyang*, *Soum* group. H means larger allele than allele 42.

allele	태음(1-100)		소양(1-100)		소음(1-100)	
	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)
14						
15	3	1.50	1	0.50	1	0.50
16	4	2.00	6	3.00	7	3.50
17			1	0.50		
18	32	16.00	34	17.00	37	18.50
19	1	0.50	6	3.00	3	1.50
20	4	2.00	1	0.50	1	0.50
21	6	3.00	3	1.50	6	3.00
22	5	2.50	1	0.50	2	1.00
23	1	0.50			3	1.50
24	54	27.00	36	18.00	43	21.50
25	2	1.00	4	2.00	2	1.00
26	1	0.50	2	1.00	2	1.00
27	13	6.50	4	2.00	10	5.00
28	18	9.00	20	10.00	21	10.50
29	8	4.00	11	5.50	9	4.50
30	25	12.50	36	18.00	21	10.50
31	13	6.50	22	11.00	19	9.50
32			1	0.50	5	2.50
33	1	0.50	1	0.50	2	1.00
34	1	0.50	1	0.50	1	0.50
35						
36	5	2.50	3	1.50	2	1.00
37			2	1		
38						
39	1	0.50				
40						
41						
42	1	0.50	1	0.50	1	0.50
H	1	0.50	3	1.50	2	1.00
total	200	100.00	200	100.00	200	100.00



〈Fig. 1〉 Relative allele frequency distributions of MCT118 locus in *Taeum, Soyang, Soum* group.

집단의 p-value는 0.0492로 낮게 나타났으나 세분화된 각 체질집단의 p-value(태음인: 0.92445, 소양인: 0.95036, 소음인: 0.68776)는 모두 Hardy-Weinberg Equilibrium을 만족하는 것으로 나타났다. 이 경우는 MCT118이 allele의 종류가 많기 때문에 체질 결정의 유전형질과 연관되어 있을 가능성보다는 충분한 숫자의 표본으로 실험이 이루어지지 않은 결과일 가능성이 높다고 볼 수 있다. 실제로 MCT118의 경우는 allele의 종류가 27종이나 되며 그로부터 조합되는 유전자형의 종류가 수백 가지에 이르므로, 본 연구에서 처럼 300 명의 표본으로는 전체집단을 대변하는 random한 표본집단을 만드는 것이 매우 어렵다고 사료되어진다. 그러므로 대부분의 VNTR loci의 경우와 같이 MCT118의 경우, 사상체질 그룹간의 유전적 동질성 및 그룹간 유전적 상이성을 유추해 내기위해서는 더욱 많은 표본을 통한 조사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

2. THO1 (TC11)

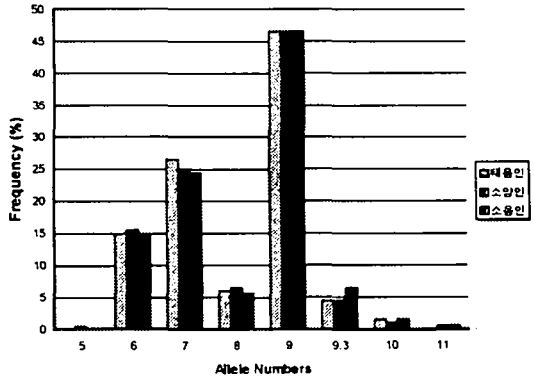
THO1 locus는 인체의 11번 염색체 Human tyrosine hydroxylase gene에 위치하는 것으로 밝혀졌으며, Puers등(5)을 포함한 많은 사람들에 의해서 연구되어 왔다. THO1 locus는 5′ AATG 3′의 4bp(염기)를 기본 repeating unit로 하는 대표적인 STR의 locus로서, 일반적으로 4bp의 core repeating unit가 5번 반복부터 11번 반복까지인 7종의 allele가 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인으로 분류된 각 그룹별 100인을 대상으로 THO1에 대한 STR typing을 실시하여 체질 그룹별 유전적 상관성을 조사하였다.

Table 2에는 태음인, 소양인, 소음인의 allele No.의 분포와 그 빈도를 표시하였고, Fig. 2에서는 각 체질별 allele 분포의 빈도수를 막대그래프로 나타내었다. Figure 및 Table에 나타난 바와 같이 태음인, 소양인, 소음인의 allele의 분포는 allele No. 9에서 공통적으로 그 빈도가 아주 높은 것으로 나타났으며, 그 이외의 allele에서도 각 체질별로 유의성 있게 다른 분포 양상을 보이지 않은 것으로 나타났다.

위의 통계가 random population에 적용되는 Hardy-Weinberg 평형을 만족하는지 검정하기 위하여 Chi-square test을 통하여 유의성을 알아본 결과, 태음인, 소양인, 소음인을 합한 전체 300 명의 표본집단에 대한 p-value는 0.96836으로 아주 훌륭히 Hardy-Weinberg 평형을 만족하고 있음을 나타내었으며, 이러한 결과로부터 본 연구에서 추출된 300 명의 표본집단은 random한 집단이고 random mating이 일어나는 집단임을 알 수 있다. 각 체질집단에 대한 p-value를 조사한 경우에도 태음인: 0.88193, 소양인: 0.99023, 소음인:

〈Table 2〉 THO1 allele distribution of *Taeum, Soyang, Soum* group.

allele	태음(1-100)		소양(1-100)		소음(1-100)	
	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)
5			1	0.50		
6	30	15.00	31	15.50	30	15.00
7	53	26.50	50	25.00	49	24.50
8	12	6.00	13	6.50	11	5.50
9	93	46.50	93	46.50	93	46.50
9.3	9	4.50	9	4.50	13	6.50
10	3	1.50	2	1.00	3	1.50
11			1	0.50	1	0.50
total	200	100.00	200	100.00	200	100.00



〈Fig. 2〉 Relative allele frequency distributions of THO1 locus in *Taeum, Soyang, Soum* group.

0.40682로써 각 체질집단 모두에서 상당히 높은 p-value를 나타내었다. 이러한 결과로 보아 THO1의 경우는 각 체질별 집단의 특이성을 대변할 만한 유의적인 요소가 없다고 사료되었다.

3. vWA (vWF)

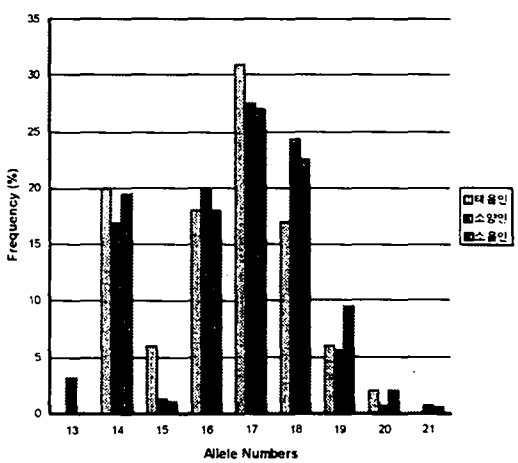
vWA locus는 12번 염색체 Human von Willebrand factor gene의 intron에 위치하는 것으로 밝혀졌으며, Kimpton등[6]을 포함한 많은 사람들에 의해서 유전적 다형성이 연구되어 왔다. vWA locus는 5′ ATCT 3′의 4bp(염기)를 기본 repeating unit로 하는 STR locus이며, 일반적으로 vWA는 4bp의 core repeating unit가 13번 반복부터 20번 반복까지인 8종의 allele가 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인으로 분류된 각 그룹별 100인에 대해서 vWA에 대한 STR typing을 실시하여 체질 그룹별 유전적 상관성을 조사하였다.

Table 3에는 태음인, 소양인, 소음인에 대한 vWA allele의 분포와 그 빈도를 표시하였고 Fig. 3에서는 각 체질별 allele 분포의 빈도수를 막대그래프로 나타내었다. Table 3에 나타난 바와 같이 vWA의 경우는 태음인, 소양인, 소음인의 allele 분포가 공통적으로 allele No. 17에서 빈도가 가장 높은 것으로 나타났으며, 이외의 allele No.의 분포 양상이 각 체질별로 비교적 다른 분포 양상을 보였다.

위의 통계가 Hardy-Weinberg Equilibrium을 만족하는지 검정하기 위하여 observed genotype frequency와 Chi-square test을 통하여 유의성을 알아본 결과, 전체집단의 p-value가 0.000619로 유의수준인0.05보다 현저하게 작은 것으로 나타났으며, 각 체질집단에서의 p-value는 태음인: 0.759964, 소양인: 0.002056, 소음인: 2.41×10^{-10} 으로써 소양인과 소음인 집단이 현저히 낮은 p-value를 나타내었다. 그리고 전체집단과 각 체질별 집단과의 비교에 따른 p-value는 태음인: 0.72028, 소양인: 5.11×10^{-22}, 소음인:

〈Table 3〉 vWA allele distribution of *Taeum, Soyang, Soum* group.

allele	태음(1-100)		소양(1-100)		소음(1-100)	
	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)
13			5	3.13		
14	40	20.00	33	16.88	39	19.50
15	12	6.00	4	1.25	2	1.00
16	36	18.00	39	20.00	36	18.00
17	62	31.00	57	27.50	54	27.00
18	34	17.00	49	24.37	45	22.50
19	12	6.00	10	5.63	19	9.50
20	4	2.00	2	0.62	4	2.00
21			1	0.62	1	0.50
total	200	100.00	200	100.00	200	100.00



〈Fig. 3〉 Relative allele frequency distributions of vWA locus in *Taeum, Soyang, Soum* group.

0.801233 으로 소양인 집단이 매우 낮은 p-value를 보여 전체집단에 비하여 가장 많은 차이를 보인다고 볼 수 있다. 따라서 vWA locus는 위의 통계자료로 보아 충분한 표본수를 가지고도 동일한 p-value를 얻는다면 vWA는 태음인, 소양인, 소음인의 체질을 결정짓는 유전형질 중의 하나와 연관되어 있을 개연성이 있으리라고 사료된다.

4. CSF1PO

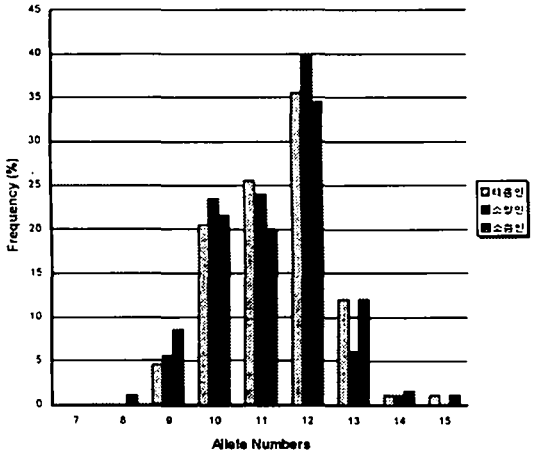
CSF1PO locus는 5번 염색체의 human c-fms proto oncogene의 intron에 위치하며 기본적으로 5′ AGAT 3′의 tetranucleotide repeat로 이루어져 있다. 일반적으로 CSF1PO는 allele의 크기가 299~323 bp에 걸쳐 존재하고 4bp의 core repeating unit가 7번 반복부터 15번 반복까지인 9종의 allele가 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 태음인, 소양인, 소음인으로 분류된 각 그룹별 100인에 대해서 CSF1PO에 대한 STR typing을 실시하여 체질 그룹별 유전적 상관성을 조사하였다.

Table 4에는 태음인, 소양인, 소음인에 대한 CSF1PO allele의 분포와 그 빈도를 표시하였으며, Fig. 4에서는 각 체질별 allele 분포의 빈도수를 막대그래프로 나타내었다. Table 4에 나타난 바와 같이 소양인의 allele 분포는 태음인과 소음인에 대하여 allele No. 12와 13에서 약간 다른 분포 양상을 나타냈으며, 공통적으로 태음인, 소양인, 소음인 모두 allele No. 12가 그 빈도가 가장 높은 것으로 나타났다.

위의 통계가 Hardy-Weinberg Equilibrium을 만족하는지 검정하기 위하여 Chi-square test을 통하여 유의성을 알아본 결과, 전체집단의 p-value는 3.07×10^{-9} 으로 낮게 나타났으며, 각 체질집단의 p-value는 태음인: 0.913609, 소양인: 0.898419, 소음인: 4.65×10^{-17} 으로써 vWA의 경우와는 달리 소음인 집단에서 p-value가 매우 낮게 나타났다. 또한 전체집단과 각 체질집단을 비교한 경우의 p-value에서도 태음인: 0.962654,

〈Table 4〉 CSF1PO allele distribution of *Taeum, Soyang, Soum* group.

allele	태음(1-100)		소양(1-100)		소음(1-100)	
	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)	observed No.	frequency (%)
7						
8					2	1.00
9	9	4.50	11	5.50	17	8.50
10	41	20.50	47	23.50	43	21.50
11	51	25.50	48	24.00	40	20.00
12	71	35.50	80	40.00	69	34.50
13	24	12.00	12	6.00	24	12.00
14	2	1.00	2	1.00	3	1.50
15	2	1.00			2	1.00
total	200	100.00	200	100.00	200	100.00



〈Fig. 4〉 Relative allele frequency distributions of CSF1PO locus in *Taeum, Soyang, Soum* group.

소양인: 0.99927, 소음인: 1.41×10^{-45} 으로써 소음인 집단이 전체집단에 비하여 가장 큰 차이를 나타내고 있다. CSF1PO에서도 vWA의 경우와 마찬가지로, 충분한 숫자의 표본을 통하여서도 위와 동일한 결과를 얻는다면 CSF1PO가 사상체질 결정 유전형질 중의 하나와 연관되어 있을 가능성이 있다고 사료되었다.

본 연구에서 쓰인 4가지 locus(MCT118, THO1, vWA, CSF1PO)들은 실제로 유전정보를 가지고 있는 gene 부분이 아니고 intron 부분의 repetitive sequence이므로 이들 부분이 직접적으로 체질을 결정하는 유전형질과 관련이 있을 가능성은 전혀 없다. 하지만 많은 종류의 genetic disease에 대한 염색체 지도를 작성할 때 STR locus들이 좋은 marker로 사용되듯이, 체질을 결정짓는 유전형질의 염색체상의 위치를 밝히는데 있어서 STR locus들을 marker로 사용하는 것은 가능하다고 사료된다. 그러므로 통계학적인 검정 결과 각 체질집단간에 유의성 있는 차이를 보여준 vWA와 CSF1PO의 경우, 충분한 크기의 표본을 가지고 유전자 분석을 실시하여 위와 동일한 결과를 얻는다면 체질간 유전적 차이를 조사할 수 있을 것으로 기대된다.

또한 사상의학은 인간의 정신과 육체, 언행과 성격, 체형 등에 이르기까지 심신 양면에 있어서 다각도로 연구된 학문이므로, 더 많은 수의 STR locus와 기능성 유전자들에 대한 분석을 실시하고 이들 중 각 체질그룹간의 유전적 동질성 및 상이성을 제시할 수 있는 locus 및 gene을 찾아내어 그들을 연계지어 조합·분석한다면 사상체질판별에 유전적 기준을 마련할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. 조황성 : 동양의학의 새로운 가능성, 한국의 사상체질의학 연구. 제 1 차 한의학과 중의학 학술 세미나 초록집., pp 1~40 (1996)
2. Kuhnlein D., Y. Dawe, D. Zadworny

and J.S. Gavora. : DNA fingerprinting: a tool for determning genetic distances between strains of poultry. *Ther. Appl. Genet.*, 77, 669 (1992)

3. James L.W. and E.M. Paula. : Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, 44, 388 (1989)
4. Nakamura Y., M. Leppert, P. O' Connell, R. Wolff, T. Holm, M. Culver, C. Martin, E. Fujimoto, M. Hoff, E. Kumlin and R. White. : Variable number of tandemn repeat(VNTR) markers for human gene mapping. *Science.*, 235, 616 (1987)
5. Puers C., A.H. Holly, J. Li, C.T. Caskey and W.S. James. : Identification of repeat sequence heterogeneity at the polymorphic short tandem repeat locus HUMTH01[AATG]n and reassignment of alleles in population analysis by using a locus —specific allelic ladder. *Am. J. Hum. Genet.*, 53, 953 (1993)
6. Kimpton C., A. Walton and P. Gill. : A further tetranucleotide repeat polymorphism in the vWF gene. *Hum. Mol. Genet.*, 1, 287 (1992)