

한국인 남성 운동 선수군에서 Calcitonin Receptor 유전자의 *AluI* RFLP 분석

장대호 · 황영철*** · 강병용* · 최성숙** · 강진양*** · 하남주***#

삼육대학교, 생명과학과, *삼육대학교, 생명과학연구소, **삼육의명대학, 식품과학과, ***삼육대학교 약학과

(Received January 23, 2004; Revised February 18, 2004)

AluI RFLP Analysis of the Calcitonin Receptor Gene in the Korean Athletic Men

Dai Ho Jang, Young Chul Hwang***, Byung Yong Kang*, Sung Sook Choi**,
Chin Yang Kang*** and Nam Joo Ha***#

Department of Life Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

**Research Institute for Life Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea*

***Department of Food Science, Sahmyook College, Seoul 139-742, Korea*

****Department of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea*

Abstract — Bone mineral density (BMD) is influenced by genetic and environmental factors. Among genetic study, calcitonin receptor (CTR) gene is a good candidate influencing the inter-individual difference in BMD because CTR is involved in calcium and bone metabolism. Thus, we investigated the distribution of C1377T polymorphism in the CTR gene among male Korean elite athletic and control groups, respectively, and also an association with BMD in lumbar spine and femoral neck. Our results suggested that this polymorphism of CTR gene was not significantly associated with lumbar spine or femoral neck BMDs in the both groups, respectively. However, we found that there was the racial difference in genotype distribution of this polymorphism between Caucasian and Asian populations. Though we could not detect the significant association between C1377T polymorphism of CTR gene and lumbar spine or femoral neck BMDs, further studies using other ethnic groups are necessary to clarify the precise role in BMD of CTR gene.

Keywords □ bone mineral density, calcitonin receptor and Korean

골다공증이란 골의 미세구조 이상이나 골무기질의 감소로 인해 뼈가 약해져서 조그마한 충격에서도 쉽게 뼈가 골절되는 현상이 증가하는 상태를 나타내며, 골무기질의 감소는 골흡수와 골형성의 정상적인 균형에 이상이 생겨 상대적으로 골흡수가 더 높아지게 되면서 생기게 된다.¹⁾ 골다공증은 폐경기에 접어드는 50대부터의 고령의 여성 집단에서 많은 영향력을 미치며, 남성에서는 70대를 넘으면 현저히 증가하는 이 시대의 중요한 성인병 중의 하나로²⁾ 여성의 경우에는 폐경기로 인해 estrogen의 분비가 현저히 저하되어 골무기질의 비율이 낮아지기 때문에 골다공증이 발병하는 것으로 알려져 있다.³⁾

하지만, 골다공증이 여성이 아닌 남성에서도 증가되고 있는 추세로 보아, 남성의 경우에는 estrogen의 분비가 아닌 다른 요인

들이 골밀도에 중요한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 현재까지, 골밀도에 변화를 주는 여러 요인들에 대한 연구 결과들이 보고되었으며, 음주와 흡연, 칼슘 섭취 및 운동 등과 같은 환경적 요인 이외에,²⁾ 유전적 요인이 이에 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 골밀도에 관여하는 유전적 요인들로는 calcitonin (CT), calcitonine receptor(CTR), parathyroid hormone, vitamin D receptor, estrogen receptor, interleukin-6, osteocalcin, glucocorticoid receptor, collagen type I alpha1 및 transforming growth factor-beta 유전자 등⁴⁾이 거론되고 있는데, 이들 유전자들 중 하나인 CTR 유전자가 암호하는 단백질인 CTR은 seven transmembrane receptor family의 일종으로서 파골세포의 표면에서 CT와 결합하여 골흡수를 저하시키는 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다.^{5,6)} 따라서, CTR을 암호하는 CTR 유전자는 골밀도에 대한 유력한 후보 유전자(candidate gene)라고 할 수 있다.

인간의 CTR 유전자는 7번 염색체의 장완에 존재하고 있으

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-3399-3653 (팩스) 02-948-5370
(E-mail) hanj@syu.ac.kr

며,⁷⁾ 이 유전자의 1377번째 염기인 C가 T로 치환된 결과로, 이 유전자에 의해 암호화된 단백질의 463번째 아미노산인 proline 이 leucine으로 치환되는 missense mutation에 의한 다형성이 존재하는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ CTR 유전자에 존재하는 이 다형성은 CTR 유전자와 골밀도와의 관련성을 연구하기 위한 유전자 표지(genetic marker)로 이용되었으며, 서양인 및 일본인을 비롯한 몇몇 집단에서 주로 여성을 대상으로 이 유전자와 골밀도와의 관련성에 관한 연구가 수행된 바 있다.⁹⁻¹³⁾ 그러나, 이러한 연구들은 주로 여성을 중심으로 이루어졌으며, 유전적 요인과 함께 골밀도에 영향을 미치는 환경적인 요인들과의 상호작용에 대해서는 이렇다할 연구 결과가 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 한국인 남성 운동 선수군과 일반인을 대상으로 하여 CTR 유전자에 존재하는 1377번째 염기인 C가 T로 치환되는 다형성이 골밀도에 어떠한 영향을 미치는지를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

연구 대상

본 연구의 대상자는 20세 전후의 남성 운동선수 40명과 유사한 나이의 일반인 남성 41명 중, 이들 대상들로부터, 확장기 혈압, 수축기 혈압, 키, 몸무게, 3번 요추 및 대퇴부의 골밀도와 골무기질 함유량, 기초대사율, 체지방량과 체지방율 등 신체 계측치를 측정하였으며, 이들 연구 대상자의 신체적 특성은 (Table I)과 같다.

실험 설계

본 실험에서는 CTR 유전자에 존재하는 다형성이 남성 운동선수군 및 일반인에서 혈압, 비만도 및 골밀도에 미치는 영향을 분

석하기 위하여 한양대학교 체육학과에 재학중인 20대 대학생들을 대상으로 CRT 유전자의 다형성 분포를 조사하였다. CRT 유전자의 다형성 빈도를 조사하기 위하여 피험자의 상완으로부터 약 3ml의 혈액을 EDTA tube에 채혈하여 백혈구층을 분리한 다음에, 이로부터 genomic DNA를 추출하였다. 그리고, 피험자의 체중, 신장, 체질량 지수, 체지방량, 체지방율, 수축기 혈압 및 확장기 혈압을 측정하였으며, 피험자의 3번 요추와 대퇴부로부터 골밀도와 골무기질량을 측정하였다.

혈압 및 골밀도 측정 - 수축기 혈압 및 확장기 혈압은 피험자를 반듯이 눕게 한 후에 측정하였으며, 수은 혈압계를 이용하여 3회에 걸쳐서 충분한 휴식시간을 준 후에 측정하고, 이로부터 산출된 평균값을 최종적인 혈압치로 결정하였다. 3번 요추 및 대퇴부의 골밀도 및 골무기질 함유량은 DEXA(dual energy X-ray absorptiometer, Lunar Radiation, Madison, WI, USA)를 이용하여 측정하였다.

Total genomic DNA의 분리 - DNA의 분리는 Sambrook 등(1989)의 방법으로 시행하였다.¹⁴⁾ 채혈한 혈액은 2,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 혈장과 적혈구층 사이에 있는 얇은 층인 단핵구층(buffy coat)을 분리하였고, 0.2% NaCl과 5% NaCl로 각각 2회씩 세척하여 적혈구를 제거하였다. 세척된 단핵구층에 핵산용해 완충액(nucleic lysis buffer: 10 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1 M EDTA, pH 8.0; 400 mM NaCl; 0.5% SDS)을 넣어 재현탁(suspension)시키고, proteinase K(100 ug/ml)를 넣고 섞어준 후, 55°C에서 3시간 동안 방치하였다. 여기에 페놀을 동량으로 혼합하여 4,000 rpm에서 원심분리한 후, 상층액(supernatant)을 취하여 다시 페놀/클로로포름(1:1)을 동량으로 혼합하여 원심분리하였다. 분리한 상층액에 2배 농도의 에탄올을 넣고, 여러 번 혼합하여 total genomic DNA를 추출하고, 이를 70% 에탄올에서 세척한 후에, TE 완충액(10 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1 mM EDTA, pH 8.0)으로 용해시켜, 사용할 때까지 -20°C에서 보관하였다.

중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) - PCR은 Saiki 등(1988)의 방법을 약간 변형시켜 시행하였다.¹⁵⁾ PCR 반응에는 100~200 ng의 total genomic DNA, 10 pmol 농도의 primer, 200 uM 농도의 dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 0.01% gelatin, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂를 포함하는 50 u의 반응액을 이용하였다.

CRT 유전자의 C1377T 다형성의 결정 - CRT 유전자의 C1377T 다형성을 검출하기 위한 primer는 Nakamura 등(2001)이 개발한 것을 이용하였고, 그 염기서열은 다음과 같다.⁸⁾

sense primer 5'-CTCAGTGATCACGATACTGTG-3'.

antisense primer 5'-ATTCACTGGAACCCAGCGTTGG-3'.

이렇게 준비된 반응액을 PCR cy클러에서 95°C에서 30초, 57°C

Table I - Basic demographics of study subjects

| Parameters | Mean±SD ^a (Number) | | |
|--|-------------------------------|---------------------|---------------------|
| | Control (41) | Athlete (40) | P-value |
| Age (year) | 21.1±1.3 | 21.0±1.3 | 0.252 |
| SBP (mmHg) ^b | 119.9±9.0 | 118.5±10.2 | 0.499 |
| DBP (mmHg) ^c | 75.2±8.9 | 68.2±10.9 | 0.002** |
| BMI (kg/m ²) ^d | 23.9±2.6 | 23.4±2.2 | 0.387 |
| BMR (kcal) ^e | 2135.2±163.1 | 1989.0±150.0 | <0.001*** |
| Body fat (g/l) | 11.5±3.7 | 10.6±3.3 | 0.232 |
| %Body fat (%) | 14.3±3.5 | 14.3±3.3 | 0.997 |
| Spinal BMC (g) ^f | 23.9±4.0 | 22.2±3.0 | 0.030** |
| Spinal BMD (g/cm ²) ^g | 1.2±0.2 | 1.2±0.1 | 0.225 |
| Femoral BMC (g) | 6.8±0.9 | 6.6±0.8 | 0.214 |
| Femoral BMD (g/cm ²) | 1.1±0.1 | 1.1±0.1 | 0.772* |

Abbreviations: ^astandard deviation, ^bsystolic blood pressure, ^cdiastolic blood pressure, ^dbody mass index, ^ebasic metabolic rate, ^fbone mineral content and ^gbone mineral density. *P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001.

에서 30초, 72°C에서 30초를 1주기로 하여 40주기 동안 PCR을 수행하였다. PCR 반응이 끝나면, 반응산물 중 10 μl를 취하여 제한효소인 *AluI*로 처리하여 37°C에서 18시간 반응시킨 후에, 그 결과를 2% agarose gel에서 전기영동 한 후, ethidium bromide 염색약으로 염색하여, band 형태를 확인하였다.

통계 분석

대립 유전자 빈도는 유전자형 빈도를 이용하였으며, 운동 선수군과 일반인 사이에 CRT 유전자에 존재하는 다형성들의 유전자형 빈도나 대립 유전자 빈도의 차이는 χ^2 -독립성 검정법을 이용하여 유의성을 검정하였다. 각각의 유전자형에 대한 신체 측정치들과 생화학적 측정치들간의 관련성 여부는 독립표본 t검정과 일원 분산 분석법(one-way ANOVA)을 이용하여 판정하였다. 통계적인 유의성은 유의수준 P=0.05 수준에서 판정하였으며, 모든 통계분석은 SPSSWIN version 11.0 program을 이용하여 계산하였다.

결 과

일반인 및 운동 선수군에서 CRT 유전자의 다형성 분포

CTR 유전자의 1377번 위치의 염기 C가 T로 치환되는 다형성이 존재하는데, 이 다형성은 제한효소인 *AluI*을 처리하였을 때

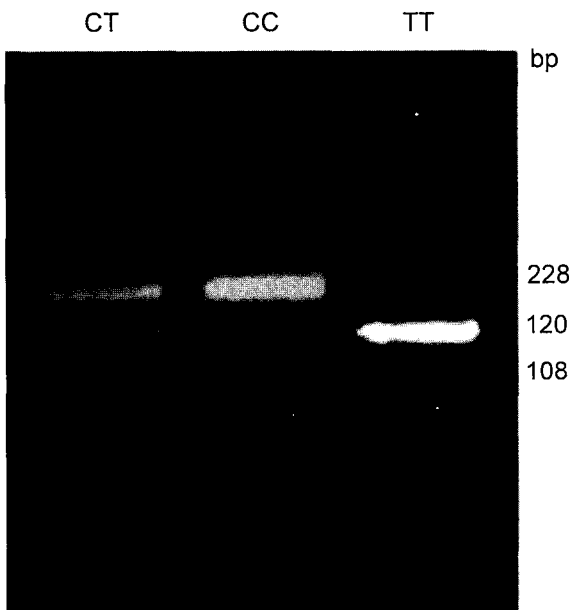


Fig. 1 – Electrophoretic patterns of *AluI* RFLP in the CTR gene. When CC genotype is present, the PCR product is not digested by restriction enzyme, *AluI*, resulting in 228 bp fragment. When TT genotype is present, the PCR product is digested by *AluI* into 120 and 108 bp fragments. In the case of CT heterozygote, half of PCR product is digested, and other half is not digested, resulting in a mixture of 228, 120 and 108 bp fragments.

잘려지지 않은 CC 유전자형과 잘려진 TT 유전자형, 그리고 이형접합자인 CT 유전자형으로 나눌 수 있다(Fig. 1).

이 다형성을 구성하는 유전자형 및 대립 유전자 빈도를 조사한 결과, 대조군에서 유전자형의 분포가 CC 유전자형인 경우에 78% 이었고, CT 유전자형이 20%, 그리고 TT 유전자형이 2%인 것으로 나타났으며, 운동 선수군에서는 CC 유전자형이 80%, CT 유전자형이 17%, TT 유전자형이 3%인 것으로 나타났다. Hardy-Weinberg 평형에 적합하지를 χ^2 의 적합도 검정에 의하여 분석한 결과, 일반인과 운동 선수군은 물론 전체 표본에 대해서 모두 Hardy-Weinberg 평형으로부터 유의하게 벗어나지 않은 양상을 나타내었다. 일반인과 운동 선수를 대상으로 하여 비교했을 때에는 유전자형 및 대립 유전자 빈도에서 두 군간에 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table II).

임상적인 지표들과 CTR 유전자의 다형성과의 관련성

Table III은 본 연구 대상 전체에 대해서 CTR 유전자에 존재

Table II – Genotype and allele frequencies of C1377T polymorphism in the calcitonin receptor gene between controls and athletes

| | Genotype No. (%) | | | Allele No. (%) | |
|--------------------------|------------------|---------|-------|----------------|---------|
| | CC | CT | TT | C | T |
| Control | 32 (78) | 8 (20) | 1 (2) | 72 (88) | 10 (12) |
| Athlete | 32 (80) | 7 (17) | 1 (3) | 71 (89) | 9 (11) |
| Total | 64 (79) | 15 (19) | 2 (2) | 143 (88) | 19 (12) |
| X^2 | 0.0543 | | | 0.0033 | |
| Degree of freedom | 2 | | | 1 | |
| Probability ¹ | 0.9732 | | | 0.9543 | |

¹There were no significant differences in genotype and allele frequencies between controls and athletes, respectively (P>0.05).

Table III – The comparison of the clinical phenotypes according to C1377T polymorphism of calcitonin receptor gene in total samples

| Variable | Mean±SD ^a (Number) | | |
|--|-------------------------------|--------------|--------------|
| | CC (64) | CT (15) | TT (2) |
| Age (year) | 21.2±1.3 | 21.2±1.2 | 20.5±0.7 |
| SBP (mmHg) ^b | 119.5±10.4 | 118.7±6.1 | 115.5±0.7 |
| DBP (mmHg) ^c | 72.1±11.1 | 71.0±7.0 | 64.5±7.8 |
| BMI (kg/m ²) ^d | 23.7±2.5 | 23.5±2.0 | 23.4±1.3 |
| BMR (kcal) ^e | 2066.9±183.2 | 2056.3±125.2 | 1988.6±180.5 |
| Body fat (g) | 11.2±3.7 | 10.3±3.0 | 12.2±0.3 |
| %Body fat (%) | 14.4±3.4 | 13.7±3.4 | 16.6±1.1 |
| Spinal BMC (g) ^f | 22.9±3.4 | 24.5±4.5 | 19.0±2.2 |
| Spinal BMD (g/cm ²) ^g | 1.2±0.1 | 1.3±0.2 | 1.1±0.0 |
| Femoral BMC (g) | 6.6±0.8 | 7.0±1.1 | 5.9±1.0 |
| Femoral BMD (g/cm ²) | 1.1±0.1 | 1.2±0.2 | 1.1±0.0 |

Abbreviations: ^astandard deviation, ^bsystolic blood pressure, ^cdiastolic blood pressure, ^dbody mass index, ^ebasic metabolic rate, ^fbone mineral content and ^gbone mineral density.

하는 C1377T 다형성이 나이, 수축기 혈압, 확장기 혈압, 체질량 지수, 기초대사율, 체지방량, 체지방율, 3년 요추의 골무기질 함유량 및 골밀도, 그리고, 대퇴부의 골무기질 함유량 및 골밀도와 유의한 관련성이 있는 지를 분석한 결과이다.

전체적으로 CTR 유전자의 C1377T 다형성과 연구된 신체 측정치들과 유의한 관련성을 나타내지는 않았다. 그렇지만, CT 이형접합체를 갖는 개체들의 경우에 가장 높은 요추 및 대퇴부의 골밀도 및 골무기질 함유량을 나타내었다. 이러한 결과는 일반인을 대상으로 분석했을 경우에도 역시 유사한 양상을 나타내었으며 (Table IV), 운동 선수군의 경우에도 또한 유사한 양상을 나타내었다(Table V). 그렇지만, 일반인과 운동 선수군을 나누어서 분석했을 경우에도 CTR 유전자의 C1377T 다형성은 어떠한 신체 측정치와도 유의한 관련성을 나타내지 않았다.

Table IV – The comparison of the clinical phenotypes according to C1377T polymorphism of calcitonin receptor gene in controls

| Variable | Mean±SD ^a (Number) | | |
|--|-------------------------------|--------------|------------|
| | CC (32) | CT (8) | TT (1) |
| Age (year) | 21.1±1.3 | 21.0±1.3 | 20.0±0.0 |
| SBP (mmHg) ^b | 120.6±9.8 | 118.0±4.8 | 115.0±0.0 |
| DBP (mmHg) ^c | 75.9±9.7 | 73.0±5.2 | 70.0±0.0 |
| BMI (kg/m ²) ^d | 23.9±2.7 | 23.8±2.3 | 24.7±0.0 |
| BMR (kcal) ^e | 2147.8±173.8 | 2087.4±122.1 | 2116.2±0.0 |
| Body fat (g) | 11.6±3.8 | 11.1±3.5 | 12.4±0.0 |
| %Body fat (%) | 14.2±3.5 | 14.4±4.1 | 15.8±0.0 |
| Spinal BMC (g) ^f | 23.5±3.8 | 26.0±4.7 | 20.6±0.0 |
| Spinal BMD (g/cm ²) ^g | 1.2±0.1 | 1.3±0.2 | 1.1±0.0 |
| Femoral BMC (g) | 6.7±0.9 | 7.3±1.2 | 6.6±0.0 |
| Femoral BMD (g/cm ²) | 1.1±0.1 | 1.2±0.1 | 1.1±0.0 |

Abbreviations: ^astandard deviation, ^bsystolic blood pressure, ^cdiastolic blood pressure, ^dbody mass index, ^ebasic metabolic rate, ^fbone mineral content and ^gbone mineral density.

Table V – The comparison of the clinical phenotypes according to C1377T polymorphism of calcitonin receptor gene in athletes

| Variable | Mean±SD ^a (Number) | | |
|--|-------------------------------|--------------|------------|
| | CC (32) | CT (7) | TT (1) |
| Age (year) | 21.4±1.3 | 21.4±1.0 | 21.0±0.0 |
| SBP (mmHg) ^b | 118.3±11.0 | 119.4±7.8 | 116.0±0.0 |
| DBP (mmHg) ^c | 68.4±11.4 | 68.9±8.5 | 59.0±0.0 |
| BMI (kg/m ²) ^d | 23.5±3.5 | 23.2±1.6 | 22.8±0.0 |
| BMR (kcal) ^e | 1986.1±156.6 | 2020.8±128.2 | 1860.9±0.0 |
| Body fat (g) | 10.8±3.5 | 9.5±2.1 | 12.0±0.0 |
| %Body fat (%) | 14.5±3.4 | 12.9±2.3 | 17.4±0.0 |
| Spinal BMC (g) ^f | 22.2±2.8 | 22.7±3.9 | 17.5±0.0 |
| Spinal BMD (g/cm ²) ^g | 1.2±0.1 | 1.2±0.2 | 1.1±0.0 |
| Femoral BMC (g) | 6.6±0.8 | 7.7±0.9 | 5.2±0.0 |
| Femoral BMD (g/cm ²) | 1.1±0.1 | 1.1±0.2 | 1.1±0.0 |

Abbreviations: ^astandard deviation, ^bsystolic blood pressure, ^cdiastolic blood pressure, ^dbody mass index, ^ebasic metabolic rate, ^fbone mineral content and ^gbone mineral density.

논 의

골다공증 및 골밀도에 대한 유전적 소인에 대한 연구를 수행하는데 있어서 20대의 젊은 연령층을 대상으로 한 연구가 매우 중요한데, 이는 높은 연령층의 경우에는 골밀도에 영향을 미치는 환경적인 요인에 보다 더 많은 노출을 경험하는 관계로 유전적인 영향을 조사하는 데 있어서 다양한 환경과의 복잡한 상호작용에 의한 결과로 연구 결과의 해석에 곤란함을 초래할 뿐 아니라, 골밀도의 변화에 의한 골다공증의 발병은 젊은 시기에서 시작하여 연령이 증가함에 따라 점진적으로 퇴행하는 양상을 나타내기 때문에, 조기에 유전적인 소인을 검출한다면 이는 예방의학적으로도 의의있는 작업이라고 할 수 있다.

이에 본 연구에서는 20대의 남성 일반인 및 운동 선수군을 대상으로 CTR 유전자의 C1377T 다형성이 혈압, 신체조성 및 골밀도와 유의한 관련성이 있는 지를 분석하였다. 그 결과 CTR 유전자의 C1377T 다형성에 대해서 한국인 남성 일반인 및 운동 선수군을 대상으로 유전자형 및 대립 유전자 빈도를 비교한 결과, 두 군간에 유의한 관련성을 나타내지 않았는데, 이러한 결과는 이 다형성이 전문화된 운동 선수군을 특징짓는 유용한 유전자 표지는 아닌 것으로 생각된다. 이 다형성에 대한 다형 정보도 값을 분석한 결과에서 그 값이 0.18로 0.25 미만의 값을 나타내어 이 다형성의 유전자 다양성 정도가 매우 낮기 때문에 설령, 이들 다형성이 어떤 특정한 질환이나 표현형과 유의한 관련성을 나타낸다 할 지라도 집단 수준에서 유전자 표지로 이용하기에는 무리가 따를 것으로 생각된다.

이들 다형성들이 Hardy-Weinberg 평형에 부합한 지를 검사하기 위하여 chi-square의 적합성 검정법을 수행했을 때, 이 다형성은 Hardy-Weinberg 평형으로부터 벗어나지 않는 양상을 나타내었는데, 이러한 결과는 CTR 유전자의 C1377T 다형성이 한국인 집단에 대한 모집단의 특성을 충실히 반영한 결과로 사료되며, 선택편견(selection bias)에 의한 영향은 거의 받지 않은 것으로 생각된다. Hardy-Weinberg 법칙은 하나의 유전자 급원(gene pool)에서 다형성을 나타내는 대립 유전자들의 조합에 의해 형성되는 유전자형의 분포가 돌연변이, 자연선택, 근친교배, 유전자 부동 및 유전자 재조합 등의 영향을 받지 않을 때 일정하게 유지된다는 원리로, 유전역학(genetic epidemiology) 분야에서는 모집단으로부터 추출한 표본이 모집단을 충분히 대표하는 지를 조사하기 위한 방법으로 응용하고 있다. 즉, 어떤 특정한 모집단으로부터 추출한 표본으로부터 조사한 유전자형의 분포가 Hardy-Weinberg 평형으로부터 벗어날 경우에는 선택편견의 가능성을 의심하게 된다. 그러나, 본 연구에서는 연구된 다형성들이 모두 Hardy-Weinberg 법칙으로부터 벗어나지 않았기 때문에 선택 편견의 가능성은 어느정도 배제할 수 있을 것으로 생각된다.

유전자가 골밀도 및 골무기질 함유량에 영향을 미친다는 사실은 비교적 오래전부터 알려졌으며, Nakamura 등(1997)⁸⁾이 CTR 유전자의 C1377T 다형성을 보고한 이래로,⁸⁾ 이 유전자에 대해서도 역시 몇몇 연구에서 이러한 관련성이 보고된 바 있다. Taboulet 등(1998)⁹⁾이 폐경기가 지난 프랑스인 여성을 대상으로 수행한 연구에서 CTR 유전자의 C1377T 다형성 중 CT 이형접합체를 가진 여성들이 CC 유전자형이나 TT 유전자형을 가진 여성들에 비해서 비교적 높은 골밀도를 나타내었을 뿐만 아니라 골절의 위험이 적다는 사실을 보고하였다.⁹⁾ 또한, Masi 등(1998)¹⁰⁾은 역시 폐경기가 지난 이탈리아 여성을 대상으로 한 연구에서 TT 유전자형을 가진 개체들이 CC 유전자형을 가진 개체들에 비해서 낮은 요추의 골밀도 값을 나타냈다고 보고하여 C 대립 유전자에 비해서 T 대립 유전자가 낮은 골밀도에 의한 골다공증의 위험인자일 가능성을 제시하기도 하였다.¹⁰⁾ 그렇지만, Nakamura 등 (2001)¹¹⁾은 16~43세의 다양한 연령층의 여성을 대상으로 한 연구에서 CTR 유전자의 C1377T 다형성이 요추 및 대퇴부의 골밀도와 유의한 관련성을 나타내지 않았음을 보고하였으며,¹¹⁾ 국내에서도 Kang과 Ahn 등(2001)¹²⁾은 폐경기가 지난 한국인 여성을 대상으로 하여 정상인과 골다공증 환자를 비교한 연구에서 이 유전자의 C1377T 다형성의 유전자형 빈도가 두 군간에 유의한 차이를 나타내지 않았음을 보고하였으며, TT 동형접합체를 전혀 검출하지 못하였다.¹²⁾

주로 폐경기 이후의 여성들을 대상으로 한 이러한 연구 결과들을 종합하면, CTR 유전자의 C1377T 다형성은 서양인에서 CT 이형접합체나 CC 동형 접합체를 가진 여성들의 경우에 비교적 높은 골밀도 값을 나타내어 골다공증의 위험이 낮은 가능성이 제기되고 있으며, 반면에 TT 동형 접합체를 가진 여성들의 경우에는 비교적 낮은 골밀도 값을 나타내어 골다공증의 위험을 높일 가능성이 제기되고 있다. 그렇지만, 한국인 및 일본인과 같은 아시아 집단의 경우에는 T 대립 유전자의 빈도가 낮은 관계로 서양인에서 나타나는 이러한 관계를 그대로 적용시킬 수 없음을 보여주고 있다.

남성을 대상으로 한 CTR 유전자의 C1377T 다형성과 골밀도와의 관련성에 대한 연구는 여성을 대상으로 한 연구에 비해서 매우 부족한 실정인데, Braga 등(2002)¹³⁾은 20~83세의 다양한 연령층의 이태리 남성을 대상으로 이러한 연구를 수행하였는데, 이 연구에서 C1377T 다형성 중 CC 동형 접합체를 가진 남성들이 TT 동형 접합체나 CT 이형 접합체인 남성들에 비해서 낮은 골밀도 값을 나타내어 서양인 여성을 대상으로 한 연구 결과와 상반되는 양상을 나타낸 바 있다.¹³⁾ 서양인 집단에서의 이러한 유전자 효과에서 성별의 차이에 대한 이유는 분명하지 않지만, estrogen과 같은 내분비 기능의 차이 등이 관여할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 20대의 운동 선수군 및 일반인을 대상으로 이러한 연구를 수행하였지만 유의한 관련성을 나타내지는 못하

Table VI – Allele frequencies of C1377T polymorphism in the calcitonin receptor gene in different ethnic groups

| Population | Number | C | T | Reference |
|------------------|--------|------|------|--|
| <i>Caucasian</i> | | | | |
| France | 123 | 0.31 | 0.69 | Taboulet <i>et al.</i> , 1998 ⁹⁾ |
| Italian | 141 | 0.45 | 0.55 | Masi <i>et al.</i> , 1998 ¹⁰⁾ |
| Italian | 253 | 0.40 | 0.60 | Braga <i>et al.</i> , 2000 ¹³⁾ |
| <i>Mongolian</i> | | | | |
| Japanese | 117 | 0.90 | 0.10 | Nakamura <i>et al.</i> , 1997 ⁸⁾ |
| Japanese | 64 | 0.87 | 0.13 | Nakamura <i>et al.</i> , 2001 ¹¹⁾ |
| Korean | 200 | 0.89 | 0.11 | Kang and Ahn, 2001 ¹²⁾ |
| Korean | 81 | 0.88 | 0.12 | <i>Present study</i> |

였다. 이는, 한국인 및 일본인 여성을 대상으로 한 연구와 유사한 결과로써, 성별과 관계없이 아시아 집단에서 CTR 유전자의 C1377T 다형성이 요추 및 대퇴부의 골밀도와는 아무런 기능적 연관이 없을 가능성을 추론할 수 있으며, 서양인 집단에서의 유의한 관련성은 CTR 유전자의 C1377T 다형성과 같은 염색체 상의 가까운 위치에 있는 대립 유전자와의 연관 불평형(linkage disequilibrium)의 가능성도 배제할 수 없다. 또 다른 기능성으로는 민족적 차이를 들 수 있는데, 성별과는 관계없이 아시아 집단에서는 TT 동형 접합체의 빈도가 매우 낮은 것으로 나타났다 (Table VI). CTR 유전자의 C 대립 유전자는 돼지,^{16,17)} 토끼,¹⁸⁾ 집쥐,^{19,20)} 생쥐²¹⁾ 및 기니아피프²²⁾과 같은 다른 포유동물에서도 존재하는 반면에 T 대립 유전자는 단지 인간에서만 검출되었다. 이는 T 대립 유전자가 C 대립 유전자에 비해서 보다 최근에 기원했을 가능성을 나타낼 뿐만 아니라, 이러한 T 대립 유전자가 아시아 집단에 비해서 서양인 집단에서 보다 높은 빈도로 존재한다는 사실은 서양인 집단이 아시아 집단보다 최근에 분지되었을 가능성을 시사하고 있다.¹¹⁾ 이는 CTR 유전자의 C1377T 다형성의 분포가 인종 특이적인 경향을 나타내기 때문에, 이러한 유전적 배경의 차이가 요추 및 대퇴부의 골밀도에 미치는 이 다형성의 효과에 있어서 인종간에 차이를 나타내는 하나의 원인이 될 수 있을 것으로 생각된다. 이 외에도, 두 인종간에 지리적 혹은 식습관과 같은 문화적 차이가 유전자의 효과에 있어서 상반된 작용을 나타냈을 가능성도 배제할 수 없다.

여러 연구에서 운동은 골밀도에 영향을 미치고,²³⁾ 이에 본 연구에서는 CTR 유전자에 존재하는 C1377T 다형성이 요추 및 대퇴부의 골밀도에 미치는 효과가 운동과 어떠한 상호작용을 나타내는지를 조사하기 위하여 운동 선수군과 일반인을 나누어서 연구 결과를 비교하였다. 그렇지만, 본 연구 결과에서는 두 군 모두 이 유전자 다형성이 요추 및 대퇴부의 골밀도와 유의한 관련성을 나타내지 않았는데, 이는 20대 남성의 경우에 운동이 CTR 유전자에 존재하는 C1377T 다형성과 유의한 상호작용을 나타내지 않는 것으로 생각되나, 보다 더 정확한 결론을 도출하기 위해서는 다양한 연령층을 대상으로 한 추사가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서 20대의 한국인 남성 운동 선수군과 일반인을 대상으로 CTR 유전자의 C1377T 다형성이 요추와 대퇴부의 골밀도에 미치는 영향을 조사한 결과, 두 군 모두 유의한 관련성을 검출하지 못하였다. 그렇지만, 본 연구에서는 Kang과 Ahn 등 (2001)이 한국인 폐경기 이후의 여성을 대상으로 한 연구에서 검출하지 못하였던¹²⁾ TT 동형 접합체를 적은 빈도이긴 하지만 검출할 수 있었으며, 남성의 경우에도 여성과 유사한 유전자형 분포 및 인종간 차이를 나타낸다는 사실을 발견할 수 있었다.

문 헌

- 1) Kanis, J. A., Melton III, L. J., Christiansen, C., Johnston, C. C. and Khaltaev, N. : The diagnosis of osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.* **9**, 1137 (1994).
- 2) Oh, K. W., Yun, E. J., Oh, E. S., Im, J. A., Lee, W. Y., Baek, K. H., Kang, M. I., Choi, M. K., Yoo, H. J. and Park, S. W. : Factors associated with bone mineral density in Korean middle-aged men. *Korean J. Med.* **65**, 315 (2003).
- 3) Genant, H. K., Cann, C. E., Ettinger, B. and Gordan, G. S. : Quantitative computed topography of vertebral spongiosa: a sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy. *Ann. Intern. Med.* **97**, 699 (1982).
- 4) Liu, Y.-Z., Liu, Y.-J., Pecker, R. R. and Deng, H.-W. : Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J. Endocrinol.* **177**, 147 (2003).
- 5) Chambers, T. J. and Magnus, C. J. : Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J. Pathol.* **136**, 27 (1982).
- 6) Nicholson, G. C., Moseley, J. M., Sexton, P. M., Mendelsohn, F. A. and Martin, T. J. : Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts: biochemical and autoradiographic characterization. *J. Clin. Invest.* **78**, 355 (1986).
- 7) Perez Jurado, L. A., Li, X. and Francke, U. : The human calcitonin receptor gene (CACCR) at 7q12.3 is outside the deletion associated with the Williams syndrome. *Cytogenet. Cell Genet.* **70**, 246 (1995).
- 8) Nakamura, M., Zhang, Z.-Q., Shan, L., Hisa, T., Sasaki, M., Tsukino, R., Yokoi, T., Kaname, A. and Kakudo, K. : Allelic variants of human calcitonin receptor in the Japanese population. *Hum. Genet.* **99**, 38 (1997).
- 9) Taboulet, J., Frenkian, M., Frenko, J. L., Feingold, N., Jullienne, A. and de Vernejoul, M. C. : Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. *Hum. Mol. Genet.* **7**, 2129 (1998).
- 10) Masi, L., Becherini, L., Gennari, L., Coli, E., Mansani, R., Falchetti, A., Cepollaro, C., Gonnelli, S., Tanini, A. and Brandi, M. L. : Allelic variants of human calcitonin receptor: distribution and association with bone mass in postmenopausal Italian Women. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **245**, 622 (1998).
- 11) Nakamura, M., Morimoto, S., Zhang, Z., Utsunomiya, H., Inagami, T., Ogihara, T. and Kakudo, K. : Calcitonin receptor gene polymorphism in Japanese women: correction with body mass and bone mineral density. *Calcif. Tissue Int.* **68**, 211 (2001).
- 12) Kang, H. J. and Ahn, G. S. : RFLP of the calcitonin receptor gene in the Korean population. *Korean J. Genet.* **23**, 177 (2001).
- 13) Braga, V., Sangalli, A., Malerba, G., Mottes, M., Mirandola, S., Gatti, D., Rossini, M., Zamboni, M. and Adami, S. : Relationship among VDR (Bsm I and Fok I), COLIA1, and CTR polymorphisms with bone mass, bone turnover markers, and sex hormones in men. *Calcif. Tissue Int.* **70**, 457 (2002).
- 14) Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. : Molecular cloning - a Laboratory Manual, 2nd edition. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 9.16-9.17.
- 15) Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. and Erlich, H. A. : Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**, 487 (1988).
- 16) Lin, H. Y., Harris, T. L., Flannery, M. S., Aruffo, A., Kaji, E. H., Gorn, A., Kolalowski, L. F. Jr, Lodish, H. F. and Goldring, S. R. : Expression cloning of an adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor. *Science* **254**, 1022 (1991).
- 17) Zolnierowicz, S., Cron, P., Solinas-Toldo, S., Fries, R., Lin, H. Y. and Hemmings, B. : Isolation, characterization, and chromosomal localization of two variants of the receptor generated by alternative splicing. *J. Biol. Chem.* **269**, 19530 (1994).
- 18) Shyu, J. F., Inoue, D., Baron, R. and Home, W. C. : The deletion of 14 amino acids in the seventh transmembrane domain of a naturally occurring calcitonin receptor isoform alters ligand binding and selectively abolishes coupling to phospholipase C. *J. Biol. Chem.* **271**, 31127 (1996).
- 19) Albrandt, K., Mull, E., Brandy, M. E., Herich, J., Moore, C. X. and Beaumont, K. : Molecular cloning of two receptors from rat brain with high affinity for salmon calcitonin. *Febs. Lett.* **325**, 225 (1993).
- 20) Sexton, P. M., Houssami, S., Hilton, J. M., O'Keeffe, L. M., Center, R. J., Gillespie, T., Darcy, P. and Findlay, D. M. : Identification of brain isoforms of the rat calcitonin receptor. *Mol. Endocrinol.* **7**, 815 (1993).
- 21) Yamin, M., Gorn, A. H., Flannery, M. R., Jenkins, N. A., Gilbert, D. J., Copeland, N. G., Tapp, D. R., Krane, S. M. and Goldring, S. R. : Cloning and characterization of a mouse brain

- calcitonin receptor complementary deoxyribonucleic acid and mapping of the calcitonin receptor gene. *Endocrinol.* **135**, 2635 (1994).
- 22) Sarkar, A. and Dickerson, I. M. : Cloning, characterization, and expression of a calcitonin receptor from Guinea pig brain. *J. Neurochem.* **69**, 455 (1997).
- 23) Pocock, N. A., Eisman, J. A., Yeates, M. G., Sambrook, B. M. and Eberl, S. : Physical fitness is a major determinant of femoral neck and lumbar spine bone mineral density. *J. Clin. Invest.* **78**, 618 (1986).