

# 한국인 소아 및 청소년에서 IGF-I 유전자형의 분석과 cytosine-adenine(CA) repeat 유전자 다형성이 혈중 IGF-I 농도에 미치는 영향

인제대학교 의과대학 소아과학교실, 진단검사의학과학교실\*

고명진 · 황태규 · 이정녀\* · 정우영

## Analysis of cytosine adenine(CA) repeat polymorphism of the IGF-I gene and influence on serum IGF-I levels in healthy children and adolescents

Myung Jin Ko, M.D., Tae Gyu Hwang, M.D.  
Jeong Nye Lee, M.D.\* and Woo Yeong Chung, M.D.

*Department of Pediatrics and Laboratory Medicine\*,  
College of Medicine, Inje University, Busan, Korea*

**Purpose :** The aim of the present study was to investigate the role of polymorphic cytosine adenine (CA) repeat of the IGF-I gene in the age-related alterations of serum IGF-I levels in healthy children.

**Methods :** Two hundred and forty three normal healthy children (136 boys; 107 girls) aged between 7 and 15 years were enrolled in the present study. The primers were designed to cover the promoter regions containing the polymorphic CA repeat. Data were analyzed using GeneMapper software, version 3.7. All analyses were performed using MEDCALC software packages.

**Results :** Deletion of 2 bp (G, A) following 3' of CA repeat were observed in all Korean children. The CA repeat sequences ranged from 17 to 23, and 19 CA repeat were the most common with an alleles frequency of 39.3 percent. Considering genotypes, 63.8 percent of subjects were homozygote or heterozygote for 19 CA repeat (192 bp allele), suggesting that this is wild type allele from which all other alleles originated in Korean children. Homozygote for 19 CA repeat were 14.7 percent, heterozygote for 19 CA repeat was 49.1 percent and 19 CA noncarriers totalled 36.2 percent. In 19 CA repeat noncarriers, the mean height, weight and serum IGF-I level were lower compared with those of 19 CA homozygous carriers, but statistically not significant. Correlations between serum IGF-I level and age according to the IGF-I genotypes revealed statistically significant relationships in the all groups, in the 19 CA repeat carrier group and, even in the noncarrier group.

**Conclusions :** There were no significant differences of the mean height, weight and serum IGF-I levels among three different genotype groups. Also, there were no significantly different correlations between 19 CA repeat polymorphisms and serum IGF-I levels, according to genotype. Our results suggest that the IGF-I 19 CA repeat gene polymorphism is not associated with circulating IGF-I levels in healthy children. (*Korean J Pediatr* 2006;49:1340-1347)

**Key Words :** Serum, IGF-I level, 19 CA polymorphism, IGF-I gene, Healthy children

### 서 론

I형 인슐린양 성장인자(Insulin-like growth factor I, IGF-I)는 7649 Da의 분자량을 가지는 70개 아미노산으로 구성된 single-chain polypeptide이다. IGF-I은 태아 및 소아에서 생리적인 성장에 관여할 뿐 아니라 세포 증식, 분화 그리고 프로그램

접수 : 2006년 8월 23일, 승인 : 2006년 9월 13일  
책임저자 : 정우영, 인제의대 부산백병원 소아과  
Correspondence : Woo Yeong Chung, M.D.  
Tel : 051)890-6280 Fax : 051)895-7785  
E-mail : chungwy@chol.com

화 되어 있는 세포의 소멸을 조절하는 중요한 역할을 담당하고 있다<sup>1)</sup>. IGF-I은 내분비 기전에 의한 작용이외에 자가분비 (autocrine) 경로나 방계분비(paracrine) 경로를 통하여 대부분의 세포에 생물학적 효과를 나타낸다. IGF-I 합성은 성장호르몬, 영양상태, 간기능 및 인슐린의 혈중 농도 등에 영향을 받는다. 대부분의 IGF-I은 6종류의 인슐린양 성장인자 결합단백(Insulin-like growth factor binding protein, IGFbps)과 결합된 형태로 혈중에 존재한다. 이 중에서 IGFbp-3는 264개의 아미노산으로 이루어져 있는 당단백으로 가장 풍부하며, 성장호르몬의 조절을 받는 acid labile subunit와 결합하여 150 kDa 복합체를 이룬다. 이 복합체는 대부분의 IGF와 결합한다<sup>2-4)</sup>.

IGF-I 유전자는 12번 염색체에 존재하며, 6개의 엑손과 2개의 프로모터로 구성되어 있으며 약 100 kilobase의 크기이다<sup>5)</sup>. 비록 6개의 엑손으로 이루어져 있지만, 대부분의 IGF-I 전사는 엑손 1에서 시작한다. IGF-I 유전자의 발현은 두개의 프로모터로 부터의 전사, alternative RNA splicing 그리고 differential RNA polyadenylation 등과 같은 복합적인 기전에 의해 조절된다<sup>6, 7)</sup>. 성숙된(mature) IGF-I 펩타이드는 오직 엑손 3과 4에서만 coding된다<sup>8)</sup>. 그리고 엑손 1의 5' untranslated region (UTR)의 개시부위가 프로모터 1의 전사에 중요한 역할을 담당한다는 사실이 증명되었다<sup>9, 10)</sup>. IGF-I 유전자의 5' UTR부위에 cytosine-adenine dinucleotide(CA) repeat가 반복되는 부위가 있으며, CA repeat 반복 횟수에 기인한 길이 차이에 의한 유전자 다형성이 존재하는데, 이 유전자 다형성이 혈중 IGF-I의 농도에 영향을 미칠 수 있다는 주장이 제기되었다<sup>11)</sup>.

IGF-I 프로모터 유전자 다형성에 대한 연구는 골다공증 및 관련 질환<sup>12, 13)</sup>, 유방암<sup>14)</sup> 그리고 2형 당뇨병과 심근경색<sup>11)</sup> 등과 같은 특정 질환의 환자들을 대상으로 시도되었다. 또한 저출생 체중아와 IGF-I 유전자 다형성 사이에 유의한 상관성을 주장하는 결과가 보고되었으나<sup>15, 16)</sup>, 다른 연구자들에 의해서는 이런 사실이 뒷받침되지 못하였다<sup>17, 18)</sup>. IGF-I 프로모터 유전자 다형성이 혈중 IGF-I 농도에 미치는 영향에 대한 현재까지 발표된 연구들은, 연구자에 따라 일치되지 않은 주장들이 보고되어 있으며<sup>11-18)</sup>, 여전히 많은 논란이 있다. 한편 국내에서는 아직 소아를 대상으로 한 연구가 없다.

이에 저자들은 한국인 정상 소아들을 대상으로 1)한국인 고유의 IGF-I 프로모터 유전자 염기서열을 분석하고, 2)이를 바탕으로 IGF-I 유전자 다형성의 종류와 빈도 그리고 유전자형을 조사하며, 3) IGF-I 유전자형이 키, 체중, BMI 그리고 혈청 IGF-I의 농도에 미치는 영향을 분석하고, 4) IGF-I 유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도와 상관을 조사하여, IGF-I 유전자 다형성의 기능적 중요성과 역할을 규명하고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2002년 2월부터 2004년 12월까지 인제의대 부산백병원 소아과에 성장에 관한 평가를 받기 위하여 내원한 소아 및 청소년을 대상으로 하였다. 이들 중 성장호르몬 결핍증을 포함하여 기타 내분비 질환을 동반한 경우, 터너 증후군과 같은 염색체 이상, 만성소모성 질환, 저출생아로 태어난 환자 및 기타 기질적인 병변을 가진 환자는 제외하였다. 또한 신장 계측에 의해 1998년에 제작된 한국소아 표준 신장표에 의거하여 나이에 따른 평균 신장 2표준편차 안에 속하는 소아 및 청소년만을 선별하였다. 본 연구에 포함된 모든 소아 및 청소년을 대상으로 IGF-I 유전자 검사에 대한 인쇄된 서식의 동의서를 받았으며, 부산백병원 기관 윤리위원회(IRB)의 심의를 통과하였다. 최종적으로 연구에 포함된 인원은 243명으로 남아 136명, 여아 107명이었다. 연령의 분포는 7세부터 15세까지였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 신장의 계측

성장클리닉을 방문하여 채혈이 이루어진 날을 기준으로 신장을 측정하였다. 신장의 계측은 Harpenden 신장기(Holtain Ltd., Britain)를 이용하여 측정하였으며 3회를 측정하여 평균값을 구하였다.

#### 2) 혈청 IGF-I의 측정

연구대상자로 채취된 혈액은 즉시 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C로 냉동보관(Ilshin co, Seoul, Korea)하였다. 혈중 IGF-I 농도는 IGF-I-D-RIA-CT kit(Biosource, Nivelles, Belgium)를 사용하여 RIA 방법으로 사용지침서에 따라 측정하였다.

#### 3) 전혈로부터 DNA 분리

대상 환자에서 얻어진 EDTA 첨가된 말초혈액(이하 전혈)에서 QIAamp<sup>®</sup> DNA Blood Mini kit(Quiagen, Germany)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 먼저 1.5 mL 시험관에 20  $\mu$ L QIAGEN Protease를 넣고 200  $\mu$ L 전혈을 넣은 다음 200  $\mu$ L 완충액 AL을 첨가하였다. 15초간 vortex 한 후 56°C에서 10분간 반응시키고 잠깐 원심시킨 다음 동량의 에탄올을 넣고 잘 혼합하였다. 제공된 수집관에 QIAamp spin column을 장착시키고 위의 준비된 검체를 조심스럽게 넣고 8,000 rpm에서 1분간 원심하였다. 500  $\mu$ L 완충액 AW1을 QIAamp spin column에 넣고 다시 8,000 rpm에서 1 분간 원심한 다음 500  $\mu$ L 완충액 AW2를 넣어 14000 rpm에서 3분간 원심시켰다. QIAamp spin column을 1.5 mL 시험관에 옮기고 200  $\mu$ L의 완충액 AE 또는 증류수를 넣고 56°C에서 1분간 반응시킨 다음 8,000 rpm에서 1 분간 원심시켜 DNA를 회수하였다.

**4) IGF-1 유전자의 염기서열분석**

IGF-1 유전자는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭하였다. 시발체의 염기서열은 forward primer가 5'-GCTAGCCAGCTGGTGTATT-3'이고 reverse primer는 5'-ACCACTCTGGGAGAAGGGTA-3'이며 시발체는 유전자 염기서열 947번에서 984번에 위치하는 CA repeats를 포함하는 프로모터 부위를 선택적으로 증폭시키도록 설계하였다. PCR 반응은 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dNTP, 각각 0.4 μM forward primer 및 reverse primer, 5-10 ng의 DNA, Taq polymerase(Promega, USA) 1 unit로 총 용량이 50 μL되게 혼합하여 사용한다. PCR 반응은 94°C, 5분간 초기 변성시킨 후 94°C, 30초간 변성, 63°C, 35초간 반응을 실시하고, 72°C에서 35초간 연장하는 반응을 총 30회 반복한 후 마지막에 72°C 10분간 연장반응을 추가하였다. 반응이 종료된 PCR 산물 5 μL에 6X gel loading buffer(0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 30% glycerol) 1 μL를 첨가하여 6% agarose gel에서 100 V, 30분간 전기영동하여 밴드를 관찰하였다.

IGF-1 유전자의 CA repeats를 결정하기 위하여 ABI Prism 3100 DNA sequencer를 이용하여 DNA의 염기서열을 분석하였다. PCR 증폭을 확인한 다음 나머지 PCR 산물을 전기영동한 다음 DNA 분절이 포함된 gel 조각을 잘라내어 1.5 mL 시험관에 옮겼다. Gel에서 DNA 분리는 QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN, Germany)를 사용하였다. 200 mg agarose gel 조각에 3배 용량의 완충액 QG를 첨가하고 50°C 10분간 또는 gel이 완전히 녹을 때까지 방치하는데 gel이 완전히 녹으면 완충액과 비슷한 노란색으로 변한다. Gel과 동량의 isopropanol을 넣고 혼합한 다음 QIAquick column에 검체를 넣고 진공을 작동시키고 검체가 지나가면 중지하고 0.75 mL의 완충액 PE를 넣고 다시 진공을 반복 조작하였다. QIAquick column을 1.5 mL 시험관에 옮겨 13,000 rpm에서 1분간 원심하여 완충액에 남아있는 에탄올을 제거하였다. QIAquick column을 새 시험관에 옮기고 완충액 EB(10 mM Tris-Cl, pH 8.5) 또는 증류수를 50 μL 첨가하여 13,000 rpm에서 1분간 원심하여 DNA를 추출하였다.

Gel에서 분리된 DNA를 주형으로 하여 ABI PRISM BigDye-Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit(PE Applied Biosystems, USA)를 이용하여 sequencing PCR을 실시하였다. 총 20 μL를 기준으로 하여 5 X sequencing buffer 2 μL, Big Dye™ Terminator 1 μL, 1.6 pM forward primer 1 μL, 6 μL 이내의 적당한 DNA와 나머지를 H<sub>2</sub>O로 채워서 95°C에서 5분간 충분히 변성시킨 후 다시 96°C 10초간 변성, 50°C 5초간 결합, 60°C 4분간 연장하는 과정을 25회 반복한 후 끝으로 72°C 10분간 연장하였다. 이와 같이 얻은 sequencing PCR 산물을 에탄올로 침전하여 건조한 다음 HiDi formamide를 10 μL 첨가하여 잘 녹이고 ABI Prism 3100 DNA sequencer를 이용하여 DNA의 염기서열을 분석하였다. CA repeats가 반복되는 횟수를 확인하였다.

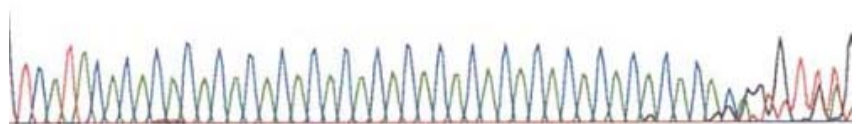
**5) IGF-1 유전자 CA repeat의 heterozygotes 분석**

Forward 시발체에 형광색소 FAM(PE applied Biosystems, USA)을 부착시키는 것을 제외하고는 위의 PCR 방법과 동일하게 PCR을 시행한다. PCR 산물을 전기영동하여 그 밴드를 근거로 증류수에 적당한 배율로 희석한다. 10 μL의 HiDi Formamide와 0.5 μL의 500 LIZ size standard와 희석한 검체를 넣은 다음 95°C, 5분간 변성시키고 얼음에 5분간 방치하였다. Applied Biosystem 3730XL DNA analyzer로 전기영동을 실시하고 GeneMapper Software version 3.7를 이용하여 자료를 분석하여 heterozygotes 여부를 확인하였다.

**3. 통계적 분석**

혈청 IGF-I의 농도는 평균치±표준편차의 형태로 표기하였다. 각각의 유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도의 통계적인 유의성은 student't test나 two factor ANOVA analysis를 사용하여 분석하였다. 나이에 따른 혈청 IGF-I 농도의 변화와 유전자형 사이의 상관성은 Spearman correlation coefficient로 분석하였다. 모든 자료의 분석은 MEDICALC 프로그램을 이용하였으며, 통계적 검정의 유의수준은 P<0.05로 하였다.

901 tcagagaaag aaaacacact ctggcacaca gactccctct gtcatacacacacacacaca  
 961 cacacacaca cacacacaca cacagaggtt tgagttatat ggaaaattcaaacacagga  
 TCATACAGGTTTG



**Fig. 1.** Two base pair deletions following 3' end of CA repeat(nucleotide 985G and 986A) were noted in Korean children.

**결 과**

**1. 대상 환아에서 IGF-I 프로모터 유전자 염기서열분석**

한국인 소아 및 청소년을 대상으로 실시한 IGF-I 프로모터 부위의 염기서열을 Gene Bank의 등록 모델과 비교해 본 결과 985번째 뉴클레오타이드 G와 986번째 뉴클레오타이드 A의 2 bp 크기의 결손이 있음을 확인하였다(Fig. 1).

**2. IGF-I 프로모터 대립유전자의 분포와 유전자형**

IGF-I 유전자는 7가지 대립유전자가 관찰되었다(Table 1). CA repeat의 분포는 17부터 23까지였고, 19 repeat가 39.3%의 빈도로 가장 높았다. 다음으로는 21 repeat가 25.3%를 차지하였으며, 18 repeat는 14.6%였다. 한국인 소아의 유전자형은 63.8%가 19 CA repeat를 하나 혹은 2개를 가지고 있어서, 이 유전자형을 야생형이라고 판단하였다. 이러한 결과를 바탕으로 3가지 유전자형으로 분류하였을 때 36명(14.8%)은 19 CA repeat(192 bp allele) homozygous, 119명(49.0%)은 19 CA repeat heterozygous, 88명은(36.2%) 19 CA repeat noncarrier에 속한다. 유전자형과 대립유전자의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium ( $P=0.6777$ )을 따랐다.

**Table 1.** Allele Distribution of the IGF-I Promoter Gene Polymorphism in Healthy Children and Adolescents

Allele Length	No. of CA repeat	Male (n=136)	Female (n=107)	Total (n=243)
188bp	17	23( 8.5%)	19( 8.9%)	42( 8.7%)
190bp	18	42(15.3%)	29(13.7%)	71(14.6%)
192bp	19	108(39.6%)	83(38.0%)	191(39.3%)
194bp	20	17( 6.2%)	20( 9.4%)	37( 7.6%)
196bp	21	71(26.1%)	52(24.4%)	123(25.3%)
198bp	22	11( 4.0%)	10( 4.7%)	21( 4.3%)
200bp	23	1( 0.3%)	0( 0%)	1( 0.1%)

Abbreviations : IGF-I, insulin-like growth factor-I; CA repeat, cytosine-adenine repeat

**Table 2.** Comparison of the Mean Height, Weight, BMI and Serum IGF-I Levels according to Genotype

	19CA Homozygous (n=36)	19CA Heterozygous (n=119)	Noncarrier (n=88)
Age	11.44±2.48	11.34±2.21	11.14±1.87
Sex	25:11	74:45	52:36
Height(cm)	140.44±14.92	140.35±14.12	138.00±10.71
Weight(kg)	38.9±14.1	38.0±12.5	36.8±10.1
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	16.23±7.73	17.28±5.96	17.49±5.80
IGF-I	570.06±207.91	528.92±196.01	526.7±177.67

Data are shown mean±S.D.  
Abbreviation : BMI, body mass index

**3. 유전자형에 따른 키, 체중, BMI 비교**

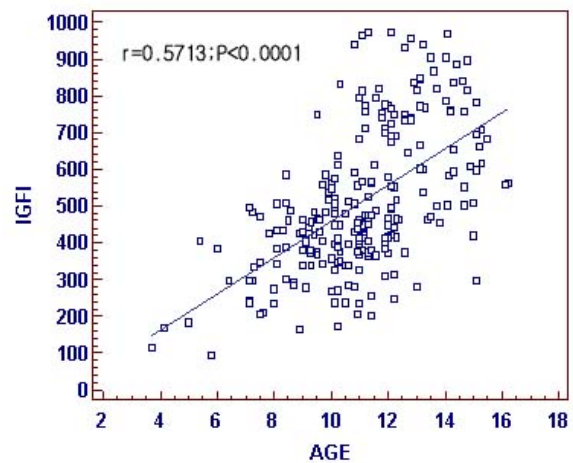
유전자형에 따른 키, 체중, BMI의 비교는 Table 2와 같다. Table 2에서 보는 바와 같이 키는 19 CA homozygous군 140.44±14.92 cm, 19 CA heterozygous군 140.35±14.12 cm 그리고 19 CA noncarrier군에서 138.00±10.71 cm로 세군 사이에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 체중은 19 CA homozygous군 38.9±14.1 kg, 19 CA heterozygous군 38.0±12.5 kg 그리고 19 CA noncarrier군에서 36.8±10.1 kg으로 세군 사이에 유의한 차이가 없었다. BMI는 19 CA homozygous군 16.23±7.73, 19 CA heterozygous군 17.28±5.96 그리고 19 CA noncarrier군에서 17.49±5.80으로 세군 사이에 유의한 차이가 없었다.

**4. 유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도의 비교**

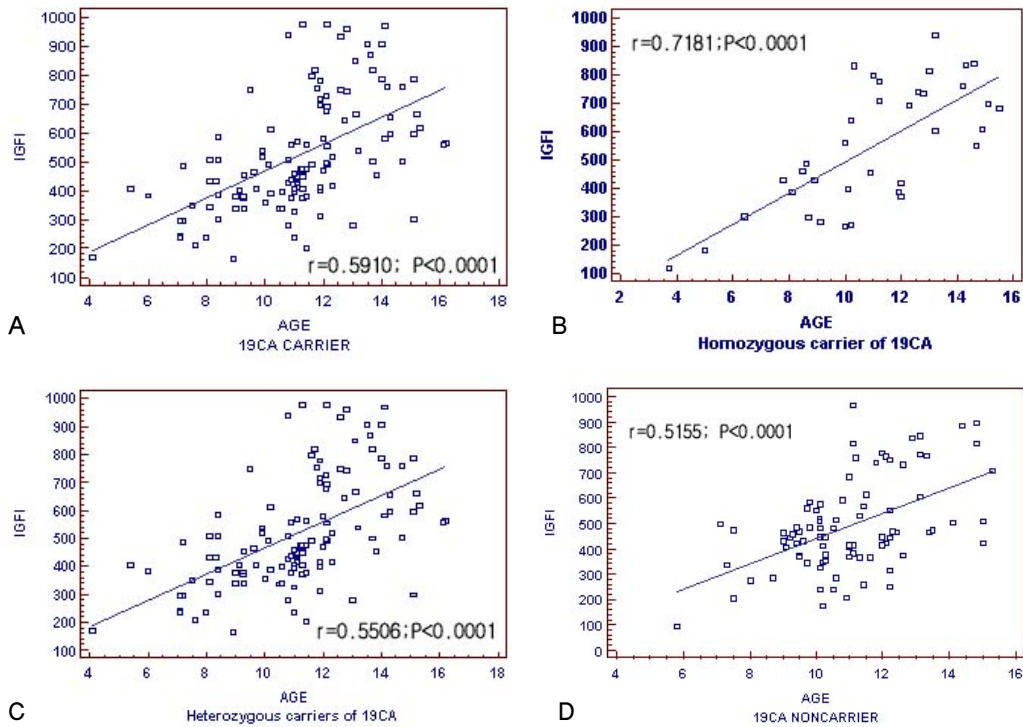
유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도 변화는 Table 2와 같다. Table에서 보는 바와 같이 혈청 IGF-I 농도는 19 CA homozygous군 570.06±207.91 ng/mL, 19 CA heterozygous군 528.92±196.01 ng/mL 그리고 19 CA noncarrier군에서 526.70±177.67 ng/mL로 세군 사이에 유의한 차이가 없었다.

**5. 유전자형과 나이에 따른 혈청 IGF-I 농도와의 상관관계 분석**

전체 환자를 대상으로 분석한 나이에 따른 혈청 IGF-I 농도의 변화는, 성별에 관계없이 나이가 증가함에 따라 IGF-I 농도가 증가하는 유의한 양의 상관관계를 나타내었다( $r=0.5713$ ;  $P<0.0001$ , Fig. 2). 유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도와의 상관관계를 분석해보면, 19 CA repeat carrier 군에서 성별에 관계없이 나이가 증가함에 따라 IGF-I 농도가 증가하는 유의한 양의 상관관계를 나타내었다(Fig. 3A)( $r=0.5910$ ;  $P<0.0001$ ). 이를 다시 19 CA homozygous군( $r=0.7181$ ;  $P<0.0001$ )과 heterozy-



**Fig. 2.** Correlation between serum IGF-I level and age in the whole study group( $r=0.5713$ ,  $P<0.0001$ ).



**Fig. 3.** Correlation between serum IGF-I level and age according to the IGF-I genotype in (A) ( $r=0.5910$ ;  $P<0.0001$ ) 19 CA repeat carrier as a whole, (B) ( $r=0.7181$ ;  $P<0.0001$ ) homozygous carriers of the 19CA repeat, (C) ( $r=0.5506$ ;  $P<0.0001$ ) heterozygous carriers of 19 CA repeat and (D) ( $r=0.5155$ ;  $P<0.0001$ ) 19 CA noncarrier.

gous군( $r=0.5506$ ;  $P<0.0001$ )으로 분류하여 상관관계를 분석한 결과도 양군 모두에서 유의한 상관관계가 관찰되었다(Fig. 3B, 3C). 이러한 유의한 양의 상관관계는 19 CA noncarrier군에서도 동일하게 관찰되었다(Fig. 3D)( $r=0.5155$ ;  $P<0.0001$ ).

### 고 찰

혈청 IGF-I 농도는 민족과 개인에 따라 다양한 차이가 존재하는데, 유전적 요인의 중요성이 보고되어 있다. 쌍생아를 대상으로 한 일련의 연구들에서 비록 관련된 특정 유전자 자리를 밝혀내지는 못하였지만, 혈중 농도 다양성의 50-60%정도는 유전적 요인에 의해 결정된다고 하였다<sup>16, 17</sup>. IGF-I 유전자의 5' UTR 부위에 위치하는 프로모터의 구성요소들은 유전자 전사의 기본적인 활동에 영향을 줄 수 있다<sup>6, 7</sup>. IGF-I 유전자 프로모터 부위에는 CA repeat가 반복되는 부위가 있어서 반복 횟수에 기인한 길이 차이에 의한 유전자 다형성이 존재한다는 사실이 밝혀졌다<sup>11</sup>. IGF-I 전사 개시부위로 부터 1 kb upstream에 위치하고 있어서 프로모터의 전사활동에 영향을 미칠 수 있을 것으로 간주되고 있으며, 이 유전자 다형성이 혈중 IGF-I의 농도에 영향을 미칠 수 있다는 주장이 제기되었다<sup>11</sup>. 그러나 다른 연구자들<sup>13, 30</sup>은 이런 결과를 뒷받침하지 못함으로써 IGF-I 프로모터 유전자 다형성의 기능적 중요성과 역할에 대해서는 여전히

많은 논란이 존재한다.

CA repeat의 수와 빈도는 민족에 따라 다양하게 보고되어 있다. CA repeat의 수는 10부터 24까지의 분포를 가지는데, 백인종의 경우 19 CA repeat(192 bp)가 40-60%정도를 차지하여 가장 높은 빈도를 보였으며<sup>11, 17</sup>, 일본<sup>12</sup>도 19 CA repeat가 41.2%로 가장 높았다. 그러나 중국의 경우<sup>21</sup>는 20 CA repeat(194 bp)가 36.3%로 가장 높은 빈도를 차지하였고, African-American<sup>22</sup>은 18 CA repeat(190 bp)의 빈도가 32.6%로 가장 높았다. 한국의 경우는 Kim 등<sup>23</sup>은 17 CA repeat의 빈도가 26.2%로 가장 높다고 보고하였으며 19 CA repeat는 14.3%로 낮은 빈도를 나타내었다고 하였다.

본 연구에서는 CA repeat는 17부터 23까지의 분포를 보였는데, 19 repeat가 39.3%의 빈도로 가장 높았다. 다음으로는 21 repeat가 25.3%를 차지하였으며, 18 repeat는 14.6%였다. 17 CA repeat는 소수에 불과하였다. 성별로 나누어 분석한 결과도 전체 대상군과 별다른 차이가 없었으며, 이전에 보고된 Kim 등<sup>23</sup>의 보고와의 차이에 대한 명확한 원인을 알 수가 없다. 가장 현저한 차이점은 Kim 등의 연구에서는 폐경기 여성만을 대상으로 하였으나 본 연구에서는 정상 남녀 소아 및 청소년을 대상으로 하였다는 점이다. 그리고 분석방법의 차이에 기인한 기술적인 문제일 가능성도 완전히 배제할 수는 없다. 현재까지 보고된 대부분의 연구결과들<sup>11, 12, 17, 21-23</sup>은 대상 환자군의 종류, 성별, 민족

에 따라 약간의 차이는 있지만 대부분에서 19 혹은 20 CA repeat의 빈도가 높았다. 본 연구결과에서 나타난 CA repeat의 빈도는 일본의 Miyao 등<sup>12)</sup>의 보고와 매우 유사하였다. 또한 IGF-I 프로모터 부위의 염기서열 분석 결과도 985번째 뉴클레오타이드 G와 986번째 뉴클레오타이드 A의 2 bp 결손이 증명되어 일본의 염기 서열의 분석 결과와 일치하였다<sup>12)</sup>.

IGF-I 결핍증이나 IGF-I 무감응증을 가진 환자에서는 자궁내 발육이 심하게 영향을 받지만 성장호르몬 결핍증이나 성장호르몬 저항성 환자의 경우 자궁내 발육이 상대적으로 덜 영향을 받는다는 사실에 근거하여 태아에서의 IGF-I의 생성은 성장호르몬 비의존적이라는 사실이 증명되었다<sup>24-26)</sup>. IGF-I 유전자 다형성이 출생 체중에 미치는 영향에 대한 연구들이 보고되었는데, 일치되지 않은 결과들이 보고되어 있다. Vaessen 등<sup>15)</sup>은 19 CA noncarrier군에서 19 CA homozygous 군에 비해 출생 체중이 215 g 작았다고 보고하면서, IGF-I 유전자 프로모터 부위의 192 CA 존재 여부가 출생 체중과 밀접한 관련이 있다고 주장하였다. 한편 19 CA homozygous군과 heterozygous군 사이에는 별다른 차이가 없었다고 하였다. 그러나 Frayling 등<sup>17)</sup>과 Day 등<sup>18)</sup>은 IGF-I 프로모터 유전자 다형성과 출생 체중과는 아무런 관련이 없다고 반박하였다. Vaessen 등<sup>15)</sup>은 같은 민족을 대상으로 한 Arends 등<sup>16)</sup>의 연구 결과도 IGF-I 프로모터 유전자 다형성이 저출생 체중과 밀접한 관련이 있었음을 예로 들면서, 적어도 Dutch 민족에서는 IGF-I 유전자 다형성이 IGF-I 발현의 표지자로서의 역할을 한다고 주장하였다. te Velde 등<sup>27)</sup>은 Dutch 인구군을 대상으로 하여 19 CA, 20 CA 대립 유전자 모두를 야생형으로 분류하여 비교 분석한 연구에서, noncarrier군에서 야생형군에 비해 출생 체중이 200 g정도 유의하게 작았으며, 이런 현상은 남자에 국한하였음을 보고하면서 성별에 따른 IGF-I 유전자 다형성의 가능성을 언급하였는데, 이런 연구결과가 우연에 의한 것일 수도 있다는 점도 부가하였다.

IGF-I 유전자 다형성이 혈중 IGF-I 농도에 미치는 영향에 대해서도 논란이 있다. Vaessen 등<sup>11)</sup>은 Rotterdam에 거주하는 900명을 대상으로 한 인구대상 연구에서 19 CA noncarrier 군에서 19 CA homozygous군에 비해 혈청 IGF-I 농도는 18%나 낮았으며, 평균 신장도 유의하게 작았다고 주장하였다. Rosen 등<sup>13)</sup>은 건강한 백인종 성인 116명을 대상으로 한 연구에서 19 CA homozygous군에서 noncarrier군에 비해 혈청 IGF-I 농도가 유의하게 낮았으나, 19 CA heterozygous군에서는 noncarrier군과 비교해서 혈청 IGF-I 농도는 별다른 차이가 없었다고 하였다. 이들은 성별과 나이를 보정해서 분석하였을 때도 같은 결과를 얻었다고 보고하였다. Jernstrom 등<sup>14)</sup>은 서로 다른 민족으로 구성된 17세부터 35세 사이의 여성을 대상으로 한 연구에서 전체적인 집단군에서는 19 CA 대립유전자의 존재 여부와 혈청 IGF-I 농도 사이에는 관련성이 없으나, 경구 피임약을 복용하고 있는 여성들만을 대상으로 한 분석에서는 19 CA noncarrier군에서 19 CA 대립유전자를 하나라도 가지고 있는

군에 비해 혈중 IGF-I 농도가 현저하게 높았음을 보고하면서, IGF-I 프로모터 부위 안의 estrogen response element에 기인한 구조(conformational) 변화가 기능적 역할에 변화를 초래할 수 있을 가능성을 제시하였다. Rietveld 등<sup>28)</sup>은 Dutch 노인을 대상으로 한 연구에서, 19 CA homozygous군에서 noncarrier군에 비해 혈청 IGF-I 농도가 매우 유의하게 높았다고 보고하였다. 연구 대상군을 각각 다른 대립유전자의 homozygous군만을 선별하여 분석하였을 때, 19 CA homozygous군에서 혈청 IGF-I 농도가 가장 높았으며, 19 CA나 20 CA homozygous carrier군에서, 19 CA보다 짧거나 20 CA보다 긴 대립유전자 homozygous군에 비해 각각의 혈청 IGF-I 농도가 유의하게 높았다는 사실을 보고하였다. 이 연구에서 19 CA carrier 남자군에서만 19 CA 보다 짧은 대립유전자를 가진 군에 비해 유의하게 키가 크다는 사실을 언급하면서 성별에 따라 IGF-I 유전자 다형성의 역할이 제한을 받을 수도 있음을 제시하였다. 이들은 다른 연구에서 연령이 증가함에 따라 혈중 IGF-I 농도가 감소되는 양상을 보이는데, 이런 양상은 19 CA homozygous군에서만 관찰되었으며, heterozygous군이나 noncarrier군에서는 전혀 관찰되지 않았음을 보고하면서, IGF-I 프로모터 유전자 다형성이 혈청 IGF-I 농도에 직접 혹은 간접적으로 영향을 미친다고 하였다<sup>29)</sup>. Allen 등<sup>30)</sup>은 696명의 성인 남자를 대상으로 한 cross-sectional 연구에서 CA 19 repeat와 혈청 IGF-I 농도 사이에는 전혀 관련성이 없다고 하였다. Yu 등<sup>31)</sup>도 53명의 여자 유방암 환자와 정상 대조군을 대상으로 한 연구에서 19 CA 대립유전자의 존재 여부와 혈청 IGF-I 농도 사이에는 아무런 연관이 없다고 하였다. Frayling 등<sup>14)</sup>도 영국 민족을 대상으로 한 연구에서 19 CA noncarrier 군에서 혈청 IGF-I 농도가 19 CA homozygous군에 비해 오히려 높았다고 주장하면서, IGF-I 프로모터 유전자 다형성의 기능적인 역할에 대해 부정적인 의견을 제시하였다.

위에서 언급한 바와 같이 IGF-I 유전자 다형성의 기능적 역할에 대해서는 연구자들에 따라 논란이 많다. 이런 불일치성에 대한 요인들을 고려해보면, 우선 대상 환자군의 다양성을 들 수 있다. 대상 환자군의 인종과 민족적 구성 요소의 이질성에 따른 19 CA 대립유전자의 분포 및 빈도 차이, 특발성 골다공증 환자나 피임약을 복용하고 있는 여성 등과 같은 특정 환자군, 성별의 차이 등과 같은 연구대상군의 특이성이다. 또한 추구하고자 하는 연구 디자인의 이질성과 대상 연구군의 표본의 크기 등도 중요한 변수로 고려해 볼 수 있다.

본 연구에서는 IGF-I 유전자 다형성이 정상인 소아 및 청소년의 혈청 IGF-I 농도에 영향을 미칠 수 있을 가능성을 발견하지 못하였다. 이런 결과는 적어도 한국인 소아 및 청소년에서는 IGF-I 프로모터 유전자 다형성이 혈청 IGF-I 농도에 영향을 미칠 수 있는 기능적인 역할을 갖지 못한다는 사실을 나타낸다고 생각한다. 비록 연구에 포함된 연구대상군의 숫자가 유전자형에 따른 통계적인 분석에 어떤 제한을 가져오지 않을만큼 충분

한 수를 확보하지 못했다는 제한성을 가질 수 있음을 고려하더라도 일부 연구자들의 보고와 같이 혈청 IGF-I 농도에 영향을 미칠 수 있다는 사실을 뒷받침하지 못하였다.

**요 약**

**목적 :** IGF-I 프로모터 CA repeat 유전자 다형성이 혈청 IGF-I 농도에 미치는 영향에 대해서는 일치되지 않은 결과들이 보고되어 있다. 저자들은 한국인 소아 및 청소년을 대상으로 IGF-I 유전자형의 분석을 실시하였고, CA repeat 유전자 다형성이 혈청 IGF-I 농도에 미치는 영향을 조사하였다.

**방법 :** 신장 계측에 의해 1998년에 제작된 한국소아 표준 신장표에 의거하여 나이에 따른 평균 신장 2표준편차 안에 속하는 소아 및 청소년 243명을 대상으로 하였다. 유전자형의 분석은 유전자 염기서열분석을 실시하였다. CA repeat 회수에 따른 대립유전자의 분포를 조사하였고, 이를 바탕으로 유전자형을 분류하였다.

**결과 :** 한국인 소아 및 청소년에서는 IGF-I 프로모터 CA repeat 3' end 부위에 2 bp 크기의 결손이 있었다. CA repeat의 분포는 17부터 23까지였으며, 19 repeat가 39.3%의 빈도로 가장 높았다. 유전자형을 살펴보면 한국인 소아의 63.8%가 19 CA repeat를 하나 이상 가지고 있어서, 이 유전자형이 야생형으로 생각된다. 유전자형은 36명(14.8%)은 19 CA repeat(192 bp allele) homozygous, 119명(49.0%)은 heterozygous, 88명은 (36.2%) 19 CA repeat noncarrier 였다. 유전자형에 따른 키, 체중, BMI는 세군 모두에서 유의한 차이가 없었다. 유전자형에 따른 혈청 IGF-I 농도도 19 CA noncarrier군에서  $526.70 \pm 177.67$  ng/mL로, 19 CA homozygous군  $570.06 \pm 207.91$  ng/mL에 비해 낮았으나 세군 사이에 유의한 차이가 없었다. 유전자형과 나이에 따른 혈청 IGF-I 농도와 상관을 분석하였을 때 19 CA homozygote 군( $r=0.7181$ ;  $P<0.0001$ ), heterozygote 군( $r=0.5506$ ;  $P<0.0001$ ) 그리고 19 CA noncarrier군 모두에서 유의한 양의 상관관계를 보였다( $r=0.5155$ ;  $P<0.0001$ ).

**결론 :** 한국인 소아 및 청소년에서 19 CA repeat 3' end 부위에 2 bp 크기의 G, A 뉴클레오타이드의 결손이 관찰되었다. IGF-I 유전자의 CA repeat 분포는 17부터 23까지였으며, 19 repeat의 빈도가 39.3%로 가장 높았다. 키, 체중, BMI 그리고 혈청 IGF-I 농도는 유전자형에 따라 유의한 차이가 없었다. 그리고 IGF-I 유전자형과 나이에 따른 혈청 IGF-I 농도 사이에는 유전자형에 관계없이 모든 군에서 유의한 양의 상관관계를 나타내었다. 그러므로 건강한 소아 및 청소년에서는 IGF-I 유전자 다형성이 혈청 IGF-I 농도에 영향을 미치지 않는다.

**참 고 문 헌**

1) Stewart CE, Rotwein P. Growth, differentiation, and sur-

vival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev* 1996;76:1005-26.

2) Juul A, Dalgaard P, Blum WF, Bang P, Hall K, Michaelsen KF, et al. Serum levels of insulin-like factor(IGF)-binding protein-3(IGFBP-3) in healthy infants, children, and adolescents: the relation to IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2, age, sex, body mass index, and pubertal maturation. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2534-42.

3) Jones JL, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16:3-34.

4) Langford KS, Miell JP. The insulin-like growth factor-I/ binding protein axis: physiology, pathophysiology and therapeutic manipulation. *Eur J Clin Invest* 1993;23:503-16.

5) Brissenden JE, Ullrich A, Francke U. Human chromosomal mapping of genes for insulin-like growth factors I and II and epidermal growth factor. *Nature* 1984;310:781-4.

6) Adamo ML. Regulation of insulin-like growth factor I gene expression. Implications for normal and pathological growth. *Diabetes Rev* 1995;3:2-27.

7) Rotwein P. Structure, evolution, expression and regulation of insulin-like growth factors I and II. *Growth factors* 1991;5:3-18.

8) Foyt HL, LeRoith D, Roberts Jr CT. Differential association of insulin-like growth factor I mRNA variants with polyosomes in vivo. *J Biol Chem* 1991;266:7300-5.

9) Yang H, Adamo ML, Koval AP, McGuinness MC, Ben-Hur H, Yang Y, et al. Alternative leader sequences in insulin-like growth factor I mRNAs modulate translational efficiency and encode multiple signal peptides. *Endocrinology* 1995;9:1380-95.

10) Mittanck DW, Kim SW, Rotwein P. Essential promoter elements are located within the 5' untranslated region of human insulin-like growth factor-I exon I. *Mol Cell Endocrinol* 1997;126:153-63.

11) Vaessen N, Heutink P, Janssen JA, Wittman JC, Testers L, Hofman A, et al. A polymorphism in the gene for IGF-I: functional properties and risk for type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes* 2001;50:637-42.

12) Miyao M, Hosoi T, Inoue S, Hoshino S, Shiraki M, Orimo H, et al. Polymorphism of insulin-like growth factor I gene and bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 1998;63:306-11.

13) Rosen CJ, Kurland ES, Vereault D, Adler RA, Rackoff PJ, Craig WY, et al. Association between serum insulin-like growth factor-I(IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: Implications for genetic studies of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2286-90.

14) Jernstrom H, Chu W, Vesprini D, Tao Y, Majeed N, Deal C, et al. Genetic factors related to racial variation in plasma levels of insulin-like growth factor-1: Implications for premenopausal breast cancer risk. *Mol Genet Metabol* 2001;72:144-54.

15) Vaessen N, Janssen JA, Heutink P, Hofman A, Lamberts SW, Oostra BA, et al. Association between genetic variation in the gene for insulin-like growth factor-I and low birth weight. *Lancet* 2002;359:1036-7.

16) Arends N, Hohnston L, Hokken-Koelega A, van Duijn C, de Ridder M, Savage M, et al. Polymorphism in the IGF-I

- gene: Clinical relevance for short children born small for gestational age(SGA). *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2720-4.
- 17) Frayling TM, Hattersley AT, McCarthy A, Holly J, Mitchell SM, Gloyn AL, et al. A putative functional polymorphism in the IGF-I gene: association studies with type 2 diabetes, adult height, glucose tolerance, and fetal growth in U.K. populations. *Diabetes* 2002;51:2313-16.
  - 18) Day INM. Insulin-like growth factor-I genotype and birth weight. *Lancet* 2002;360:945.
  - 19) Harrela M, Koistinen H, Kaprio J, Lehtovirta M, Tuomilehto J, Eriksson J, et al. Genetic and environmental components of interindividual variation in circulating levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 and IGFBP-3. *J Clin Invest* 1996;98:2612-15.
  - 20) Kao PC, Matheny APJ, Lang CA. Insulin-like growth factor-I comparisons in healthy twin children. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:310-2.
  - 21) Jiang DK, Shen H, Li MX, Jiang C, Yang N, Zhu J, et al. No major effect of the insulin-like growth factor I gene on bone mineral density in premenopausal Chinese women. *Bone* 2005;36:694-9.
  - 22) Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Hui SL, Conneally PM, et al. Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4467-71.
  - 23) Kim JG, Roh KR, Lee JY. The relationship among serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-I gene polymorphism, and bone mineral density in postmenopausal women in Korea. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:345-50.
  - 24) Laron Z. Natural history of the classical form of primary growth hormone(GH) resistance(Laron syndrome). *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999;12(Suppl 1):231-49.
  - 25) Rosenfeld RG, Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J. Growth hormone(GH) insensitivity due to primary GH receptor deficiency. *Endocr Rev* 1994;15:369-90.
  - 26) Kofoed EM, Hwa V, Little B, Woods KA, Buckway CK, Tsubaki J, et al. Growth hormone insensitivity associated with a STAT5b mutation. *N Engl J Med* 2003;349:1139-47.
  - 27) te Velde SJ, van Rossum EF, Voorhoeve PG, Twisk JW, van de Waal AD, Stehouwer CD, et al. An IGF-I promoter polymorphism modifies the relationships between birth weight and risk factors for cardiovascular disease and diabetes at age 36. *BMC Endocrine Disorders* 2005;5:5-13.
  - 28) Rietveld I, Janssen JAMJL, van Rossum EFC, Houwing-Duistermaat JJ, Rivadeneira F, Hofman A, et al. A polymorphic CA repeat in the IGF-I gene is associated with gender-specific differences in body height, but has no effect on the secular trend in body height. *Clin Endocrinol* 2004;61:195-203.
  - 29) Rietveld I, Janssen JAMJL, Hofman A, Pols HAP, van Duijn CM, Lamberts SWJ. A polymorphism in the IGF-I gene influences the age-related decline in circulating total IGF-I levels. *Eur J Endocrinol* 2003;148:171-5.
  - 30) Allen NE, Davey GK, Key TJ, Zhang S, Narod SA. Serum insulin-like growth factor I(IGF-I) concentration in men is not associated with cytosine-adenine repeat polymorphism of the IGF-I gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:319-20.
  - 31) Yu H, Li BDL, Smith M, Shi R, Berkel HJ, Kato I. Polymorphic CA repeats in the IGF-I gene and breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2001;70:117-22.