

## 한국인 남성 운동선수군에서 Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성의 분포와 골밀도와의 관계

정인근 · 강병용\* · 김지영\*\* · 오상덕 · 하남주\*\*\*, #

한양대학교 체육학과, \*삼육대학교 생명과학연구소, \*\*삼육대학교 생명과학과, \*\*\*삼육대학교 약학과  
(Received October 19, 2005; Revised December 27, 2005)

### The Distribution of C298T Polymorphism in the Osteocalcin Gene from Korean Male Athletes and its Association with Bone Mineral Density

In Geun Jung, Byung Yong Kang\*, Ji Young Kim\*\*, Sang Duk Oh and Nam Joo Ha\*\*\*, #

College of Physical Education, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

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

\*\*Dept. of Life Science, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

\*\*\*Dept. of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul 139-742, Korea

**Abstract** — Osteocalcin is a vitamin K dependent and bone specific protein which plays an important role in the regulation of bone and calcium metabolism. In this study, we evaluated the relationship between the C298T polymorphism in the osteocalcin gene and bone mineral density (BMD) in Korean young men and their interaction with physical activity. BMDs of the femoral neck and lumbar spine were measured using dual energy X-ray absorptiometry, and the C298T polymorphism in the osteocalcin gene determined using polymerase chain reaction (PCR)-HindIII restriction fragment length polymorphism (RFLP) method. We did not observe any significant differences in the femoral neck and lumbar spine BMDs across genotypes of this polymorphism in controls, athletes or combined groups, respectively ( $P > 0.05$ ). Therefore, our data suggest that the C298T polymorphism in the osteocalcin gene is not a suitable genetic marker for the susceptibility to BMD.

**Keywords** □ athletes, osteocalcin and polymorphism

골다공증(osteoporosis)은 골밀도의 저하와 골격의 미세구조의 이상 등에 의해 골절의 위험성이 증가되는 질환으로 흔히 나타나는 성인병 중의 하나이다.<sup>1)</sup> 특히, 골밀도는 골다공증의 가장 중요한 위험인자의 하나로 출생한 직후부터 20~30대의 청년기까지는 증가하는 양상을 보이다가 그 이후에는 점차 감소하는 양상을 나타내는데, 이는 그 시기에 골생성보다는 골소실률의 증가에 기인한다.<sup>2)</sup> 골밀도는 다양한 유전적 요인과 환경적 요인이 상호작용하여 나타나는 다인자성인 특징을 나타내는데, 음주와 흡연, 칼슘 섭취, 운동 및 에스트로겐 호르몬과 같은 약물복용 여부 등이 골밀도에 중요한 영향을 미치는 것으로 거론되고 있다.<sup>3)</sup> 또한, 골밀도는 강한 유전적 소인을 나타내는 것으로도 알려졌는데, 이는 쌍생아 연구와 가계분석에 의한 결과에서 골밀도의

유전력이 약 0.5~0.9의 범위에 있는 것에 비추어 유전적 요인의 중요성을 미루어 짐작할 수 있다.<sup>4,9)</sup>

현재까지, 골밀도와 관련된 유전적 요인으로는 비타민 D 수용체 유전자와 에스트로겐 수용체 유전자를 비롯한 수십 종류의 유전자들이 유력한 후보 유전자로 거론되고 있기는 하지만, 연구마다 상반된 결과를 보여주고 있기 때문에, 어떤 유전자가 골밀도에 중요하게 영향을 미치는가에 대해서는 현재까지 일치된 견해가 없는 실정이다.<sup>10)</sup>

Osteocalcin은 bone Gla protein(BGP)라고도 불리우며, 골에 존재하는 단백질 중에서 교원질(collagen) 다음으로 풍부한 단백질 성분이다.<sup>11)</sup> 이 단백질은 전적으로 골아세포(osteocalcin)에 의해 합성되기 때문에 임상에서 골형성 표지자로 사용될 뿐 아니라,<sup>11)</sup> 파골세포(osteoclast)의 부착, 확산 및 이 세포에 대한 화학유인물질(chemoattractant)로 작용하는 것으로도 알려졌다.<sup>12,13)</sup>

Osteocalcin 단백질을 암호하는 유전자는 인간의 6번 염색체의 장완(1q25-1q31)에 위치하고 있으며,<sup>14)</sup> 3개의 intron에 의해

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

나누어진 4개의 exon으로 이루어져 있다.<sup>15)</sup> 또한, 이 유전자의 promoter 부위에는 제한효소인 *HindIII*에 의해 검출되는 다형성이 존재하는 것으로 확인되었으며, 이 다형성은 다양한 임상적인 표현형들과 osteocalcin 유전자와의 관련성을 연구하기 위한 유전자 표지(genetic marker)로 널리 이용되었다.<sup>16)</sup>

현재까지, 이 수용체 유전자에 존재하는 다형성은 여러 연구 집단들에서 골밀도<sup>16)</sup>를 비롯하여 요로결석<sup>17)</sup> 및 유방암(breast cancer)<sup>18)</sup>과 같은 질환들과 관련되어 있는 것으로 알려졌으나 현재까지 연구 결과마다 차이가 있을 뿐만 아니라 명확한 결론이 내려지지 않은 상태에 있다.

연구 결과에서 나타나는 이러한 차이의 원인으로는 연구 대상자의 수, 민족적 차이 및 상이한 연구 설계 등을 들 수 있겠으나, 무엇보다도 골밀도가 다인자성인 특징을 나타내는 관계로 환경적 요인의 차이가 결과에 가장 중요한 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 따라서, 이러한 환경적인 요인들 중에서 운동은 성장에 의한 골형성의 촉진과 골 소실의 억제에 통하여 골밀도의 유지에 중요한 영향을 미치는 환경 요인들 중 하나로 알려져 있다.

이에 본 연구에서는 민족적으로 순수한 한국인 집단을 대상으로 하여 이들로부터 성별 및 연령의 효과를 최소화하기 위해서 20대의 유사한 연령층의 남성 집단을 표본으로 선정하고, 환경적인 요인으로서 운동의 효과를 분석하기 위하여 연구 대상자들을 운동 선수군과 일반인으로 나눈 후에 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 골밀도와 유의한 관련성을 나타내는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 연구 대상

20세 전후의 남성 운동선수 40명(축구선수 22명, 아이스하키 선수 18명)과 역시 20대의 일반인 남성 41명을 포함하는 총 81명의 연구 대상자들을 선정하고, 이들에 대해서 연령, 수축기 혈압, 확장기 혈압, 신장, 체중, 기초대사율, 체지방량, 체지방율, 3번 요추 및 대퇴골의 골밀도 및 골무기질 함유량을 측정하였다. 운동 선수군과 일반인에 대한 신체 계측치를 비교한 결과는 Table I에 나타내었다.

모든 연구 대상자들은 자발적인 동의에 의해 연구에 참여하였으며, 한양대학교 체육과학연구소의 윤리위원회 심의를 거쳐 연구에 착수하였다.

### 신체 계측치 측정

수축기 혈압 및 확장기 혈압은 피험자를 반듯이 눕힌 후에 수은 혈압계를 이용하여 세 차례에 걸쳐 측정하였으며, 혈압 값은 세 차례에 걸쳐 측정된 값의 평균치를 이용하여 산정하였다. 신장과 체중을 비롯한 신체 계측치들은 피험자들을 가벼운 옷차림으로 준비시킨 후에 전자동 방식으로 HELMAS에 의해

Table I – Basic demographics of study subjects

Variables	Mean±SD <sup>a</sup> (Number)		P-value
	Control(41)	Athlete(40)	
Age (year)	21.1±1.3	21.0±1.3	0.252
SBP (mmHg) <sup>b</sup>	119.9±9.0	118.5±10.2	0.499
DBP (mmHg) <sup>c</sup>	75.2±8.9	68.2±10.9	0.002**
Height (cm)	182.2±4.7	176.2±5.0	<0.001***
Weight (kg)	78.0±8.2	72.6±8.0	<0.001***
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>d</sup>	23.9±2.6	23.4±2.2	0.387
BMR (kcal) <sup>e</sup>	2135.2±163.1	1989.0±150.0	<0.001***
Body fat (g)	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) <sup>f</sup>	23.9±4.0	22.2±3.0	0.030**
Spinal BMD (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>g</sup>	1.2±0.2	1.2±0.1	0.225
RF BMC (g) <sup>h</sup>	6.6±0.8	6.4±0.8	0.124
RF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	0.338
LF BMC (g) <sup>i</sup>	6.8±0.9	6.6±0.8	0.214
LF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	0.772

Abbreviations: <sup>a</sup>standard deviation, <sup>b</sup>systolic blood pressure, <sup>c</sup>diastolic blood pressure, <sup>d</sup>body mass index, <sup>e</sup>basic metabolic rate, <sup>f</sup>bone mineral content, <sup>g</sup>bone mineral density, <sup>h</sup>right femoral neck and <sup>i</sup>left femoral neck.

\*P<0.05, \*\*P<0.01 and \*\*\*P<0.001.

측정하였으며, 3번 요추 및 좌측 대퇴부의 골밀도와 골 무기질 함유량 값은 DEXA(dual energy X-ray absorptiometer, Lunar Radiation, Madison, WI, USA)를 이용하여 측정하였다.

### Total genomic DNA의 분리

Genomic DNA를 분리하기 위하여 연구 대상자들의 혈액을 EDTA tube에 채혈한 후에, 이를 2,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 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 µg/ml)를 넣고 섞어준 후, 55°C에서 3시간 동안 방치하였다. 여기에 phenol을 동량으로 혼합하여 4,000 rpm에서 원심분리 한 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

분리한 genomic DNA로부터 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성 부위를 포함하는 promoter 지역을 증폭시키기 위하여 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 수행하였다.

PCR 반응에는 100~200 ng의 total genomic DNA, 10 pmol 농도의 primer, 200  $\mu$ M 농도의 dNTP, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 0.01% gelatin, 50 mM KCl, 1.5 mM  $MgCl_2$ 를 포함하는 50 ml의 반응액을 이용하였다.

Osteocalcin 유전자의 promoter 부위에 위치하는 C298T 다형성을 결정하기 위한 primer 쌍은 Gustavsson *et al.*(2000)이 사용한 것을 채택하였고, 그 염기서열은 다음과 같다.<sup>19)</sup>

Sense primer 5'-CCGCAGCTCCCAACCACAATAAGCT-3'.

Antisense primer 5'-CAATAGGGCGAGGAGT-3'.

이렇게 준비된 반응액을 PCR cycler에서 94°C의 조건으로 5분간 가열하였고, 그 이후에 94°C에서 30초, 59°C에서 30초, 72°C에서 30초를 1주기로 하여 35주기 동안 PCR을 수행하였다. PCR 반응이 끝나면, 반응산물 중 10  $\mu$ l를 취하여 제한 효소인 *Hind*III로 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 이용하여 계산하였으며, osteocalcin 유전자에 존재하는 C298T 다형성의 유전자형 빈도나 대립 유전자 빈도가 두 군간에 차이가 있는지를 조사하기 위하여  $\chi^2$ -독립성 검정법을 이용하였다. 범주형 자료들에 대한 신체 계측치들과의 관련성 여부는 독립표본 t-검정(independent t-test)과 일원 분산 분석법(one-way ANOVA)을 이용하여 분석하였다. 모든 통계적 유의 수준은  $P=0.05$ 로 하였으며, 자료처리는 Statistical Package for Social Science(SPSSWIN) version 11.0 프로그램을 이용하여 수행하였다.

## 결 과

#### 연구 대상자의 신체계측치 비교

Table I는 총 81명의 연구 대상자들 중에서 40명의 운동 선수군과 41명의 일반인의 신체계측치에 대한 자료를 비교한 것이다. 통계 분석 결과, 본 연구 집단에서 운동 선수군과 일반인 사이에 확장기 혈압, 신장, 체중, 기초 대사율 및 3번 요추의 골무기질 함유량에서 통계적으로 유의한 차이가 검출되었다( $P<0.05$ ). 그렇지만, 신장과 체중을 공변량으로 하여 공분산 분석(ANCOVA test)을 수행한 결과, 확장기 혈압, 기초 대사율 및 3번 요추의 골무기질 함유량에서 두 군간에 유의한 차이를 나타내지 않은 양상을 나타내었다( $P>0.05$ ). 이는, 확장기 혈압, 기초 대사율 및 3번 요추의 골무기질 함유량에서 일반인과 운동 선수군간의 유의한 차이는 교란 인자로서 신장과 체중의 영향이 반영된 결과인 것으로 나타났다.

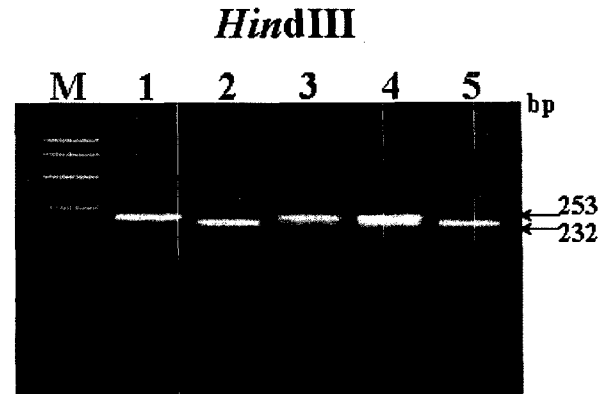


Fig. 1 - Electrophoretic patterns of the C298T polymorphism in the osteocalcin gene. Lane M, molecular size marker; lane 1, CC genotype; lane 2~5, TT genotypes; lane 3~4, CT genotypes.

#### Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성의 분포

Osteocalcin 유전자의 promoter 부위에 존재하는 C298T 다형성은 PCR 증폭과 제한효소인 *Hind*III에 의하여 절단되지 않는 253bp의 C 대립유전자와, 이 제한효소에 의하여 232bp와 21bp로 제한 절단되는 T 대립 유전자로 이루어져 있다(Fig. 1).

전체 연구 대상자들에 대한 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성의 유전자형 분포를 살펴보면, CC, CT 및 TT 유전자형의 빈도가 각각 5%, 48% 및 47%로 CT 유전자형이 집단 내에서 가장 높은 빈도를 나타내었다. 본 연구 대상자들에 대해서 관찰된 유전자형 분포가 Hardy-Weinberg 평형에 적합한지를 분석하기 위하여  $\chi^2$ 의 적합성 검정을 수행한 결과 Hardy-Weinberg 평형으로부터 유의하게 벗어나지 않은 양상을 나타내었다( $\chi^2=2.3110$ ,  $df=1$ ,  $P=0.1284$ ) (Table II).

운동 선수군과 일반인에 대해서 이 다형성에 대한 유전자형 빈도를 조사한 결과, 운동 선수군에서는 CC, CT 및 TT 유전자형의 빈도가 각각 10%, 43% 및 19%로 관찰된 반면에 일반인 집단에서는 그 분포가 0%, 54% 및 46%로 나타나 두 군 모두 CT 이형접합체의 빈도가 가장 높은 것으로 나타났다. 또한, 운동 선수군에서 관찰되었던 CC 동형 접합체가 일반인 집단에서

Table II - Genotype and allele frequencies of the C298T polymorphism in the osteocalcin gene between controls and athletes

	Genotype No. (%)			Allele No. (%)	
	CC	CT	TT	C	T
Control	0(0)	22(54)	19(46)	22(27)	60(73)
Athlete	4(10)	17(43)	19(47)	25(31)	55(69)
Total	4(5)	39(48)	38(47)	47(29)	115(71)
$\chi^2$		4.6294		0.3842	
Degree of freedom		2		1	
Probability <sup>1</sup>		0.0988		0.5354	

는 관찰되지 않았다. 그렇지만, 두 군간에 유전자형 분포에 있어서 통계적으로 유의한 차이가 검출되지는 않았다( $\chi^2=4.6294$ ,  $df=2$ ,  $P=0.0988$ ).

**신체 계측치와 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성의 관계**

Table III는 81명의 총 연구 대상자들에 대해서 osteocalcin 유

**Table III** – The comparison of the clinical phenotypes according to the C298T polymorphism in the osteocalcin gene in total samples

Variable	Mean±SD <sup>a</sup> (Number)		
	CC(4)	CT(39)	TT(38)
Age (year)	21.0±0.8	21.1±1.1	21.4±1.5
SBP (mmHg) <sup>b</sup>	111.5±7.7	120.8±9.3	118.4±0.7
DBP (mmHg) <sup>c</sup>	72.1±11.1	71.0±7.0	64.5±9.8
Height (cm)	174.3±6.9	179.6±5.5	179.4±5.6
Weight (kg)	71.8±9.4	76.4±8.0	74.5±8.9
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>d</sup>	23.7±1.6	24.1±2.6	23.2±2.2
BMR (kcal) <sup>e</sup>	1975.1±191.8	2085.6±158.0	2049.2±184.7
Body fat (g)	10.7±2.5	11.8±3.8	10.3±3.1
%Body fat (%)	14.7±1.9	15.0±3.7	13.6±3.1
Spinal BMC (g) <sup>f</sup>	20.6±3.1	23.5±3.6	22.9±3.7
Spinal BMD (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>g</sup>	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
RF BMC (g) <sup>h</sup>	6.3±0.7	6.6±0.7	6.5±0.9
RF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1
LF BMC (g) <sup>i</sup>	6.3±0.5	6.8±0.8	6.7±1.0
LF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1

Abbreviations: <sup>a</sup>standard deviation, <sup>b</sup>systolic blood pressure, <sup>c</sup>diastolic blood pressure, <sup>d</sup>body mass index, <sup>e</sup>basic metabolic rate, <sup>f</sup>bone mineral content, <sup>g</sup>bone mineral density, <sup>h</sup>right femoral neck and <sup>i</sup>left femoral neck.

**Table IV** – The comparison of the clinical phenotypes according to the C298T polymorphism in the osteocalcin gene in controls

Variable	Mean±SD <sup>a</sup> (Number)	
	CT(22)	TT(19)
Age (year)	21.1±1.2	21.1±1.4
SBP (mmHg) <sup>b</sup>	121.7±8.6	117.8±9.2
DBP (mmHg) <sup>c</sup>	76.8±8.1	73.3±9.6
Height (cm)	182.2±4.6	182.1±4.9
Weight (kg)	79.5±6.8	76.1±9.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>d</sup>	24.5±2.5	23.1±2.5
BMR (kcal) <sup>e</sup>	2162.8±140.6	2103.3±184.6
Body fat (g)	12.5±3.7	10.4±3.4
%Body fat (%)	15.2±3.6	13.3±3.2
Spinal BMC (g) <sup>f</sup>	23.8±3.9	24.0±4.3
Spinal BMD (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>g</sup>	1.2±0.2	1.2±0.2
RF BMC (g) <sup>h</sup>	6.7±0.7	6.6±1.0
RF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.2
LF BMC (g) <sup>i</sup>	6.9±0.8	6.8±1.1
LF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1

Abbreviations: <sup>a</sup>standard deviation, <sup>b</sup>systolic blood pressure, <sup>c</sup>diastolic blood pressure, <sup>d</sup>body mass index, <sup>e</sup>basic metabolic rate, <sup>f</sup>bone mineral content, <sup>g</sup>bone mineral density, <sup>h</sup>right femoral neck and <sup>i</sup>left femoral neck.

**Table V** – The comparison of the clinical phenotypes according to the C298T polymorphism in the osteocalcin gene in athletes

Variable	Mean±SD <sup>a</sup> (Number)		
	CC(4)	CT(17)	TT(19)
Age (year)	21.0±0.8	21.1±1.0	21.7±1.5
SBP (mmHg) <sup>b</sup>	111.5±7.7	119.6±10.3	118.9±10.5
DBP (mmHg) <sup>c</sup>	66.5±6.8	68.5±12.0	68.3±10.8
Height (cm)	174.3±6.9	176.1±4.6	176.6±5.0
Weight (kg)	71.8±9.4	72.4±7.7	72.9±8.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>d</sup>	23.7±1.6	23.4±2.7	23.4±1.8
BMR (kcal) <sup>e</sup>	1975.1±191.8	1985.6±120.5	1995.1±172.9
Body fat (g)	10.7±2.5	10.9±3.9	10.2±2.9
%Body fat (%)	14.7±1.9	14.7±3.8	13.9±3.1
Spinal BMC (g) <sup>f</sup>	20.6±3.1	23.1±3.1	21.7±2.8
Spinal BMD (g/cm <sup>2</sup> ) <sup>g</sup>	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
RF BMC (g) <sup>h</sup>	6.3±0.7	6.4±0.7	6.3±0.8
RF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1
LF BMC (g) <sup>i</sup>	6.3±0.5	6.6±0.8	6.6±0.9
LF BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.1±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1

Abbreviations: <sup>a</sup>standard deviation, <sup>b</sup>systolic blood pressure, <sup>c</sup>diastolic blood pressure, <sup>d</sup>body mass index, <sup>e</sup>basic metabolic rate, <sup>f</sup>bone mineral content, <sup>g</sup>bone mineral density, <sup>h</sup>right femoral neck and <sup>i</sup>left femoral neck.

전자에 존재하는 C298T 다형성이 연령, 수축기 혈압, 확장기 혈압, 신장, 체중, 기초대사율, 체지방량, 체지방율, 3번 요추 및 대퇴골의 골밀도 및 골무기질 함유량과 유의한 관련성이 있는지를 분석한 결과이다. 분석 결과, CC, CT 및 TT 유전자형을 갖는 3 집단에 속하는 연구 대상자들간에 전술한 신체 계측치들의 평균값에서 통계적으로 유의한 차이가 검출되지 않았으며(one-way ANOVA test,  $P>0.05$ ), 교란 요인을 통제하기 위하여 신장과 체중을 공변량으로 한 공분산 분석(ANCOVA test)을 수행했을 경우에도 역시, 유의한 차이가 검출되지 않았다.

본 연구 대상자들을 구성하는 운동 선수군 및 일반인 사이에 신체계측치의 양상에 차이가 있기 때문에, 이들 두 군을 나누어서 신체계측치들과 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성간의 관련성을 조사하였지만, 일원 분산분석 및 신장과 체중을 공변량으로 한 공분산 분석에서 일반인 집단(Table IV) 및 운동 선수군(Table V) 모두에서 유전자형의 분포에 따른 신체계측치들의 평균값에서 통계적으로 유의한 차이가 검출되지 않았다.

**고 찰**

본 연구는 20대의 한국인 남성 집단을 대상으로 osteocalcin 유전자에 존재하는 C298T 다형성의 분포를 조사하고, 이 다형성이 3번 요추 및 대퇴부의 골밀도와 유의한 관련성이 있는지를 분석함과 아울러 운동과의 상호작용이 존재하는지를 분석하기 위하여 수행하였다.

Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성은 Dohi *et al.*(1998)<sup>16)</sup>에

의해 최초로 보고되었으며, 이 다형성이 골밀도와 유의한 관련성을 나타내는 지에 대한 연구는 주로 폐경기 이후의 여성들을 대상으로 이루어졌다. 현재까지 수행된 연구 결과를 종합하면, osteocalcin 유전자의 C298T 다형성은 일본<sup>16)</sup>과 대만<sup>20)</sup>의 폐경기가 지난 여성을 대상으로 한 연구와 스웨덴<sup>19)</sup>의 10대 여성을 대상으로 수행한 연구에서는 골밀도와 유의한 관련성을 나타낸 것으로 보고되었지만, 중국<sup>21)</sup>에서 수행된 폐경기 이전의 여성과 폐경기가 지난 여성을 대상으로 한 연구에서는 이 다형성이 골밀도와 유의한 관련성을 나타내지 않았다.

Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 남성의 골밀도와 관련성이 존재하는 지에 대해서는 많은 연구가 이루어져 있지 않은데, 이는 남성의 경우에는 여성에 비해 평균적으로 골밀도가 높고, 골다공증의 유병률이 낮기 때문인 것으로 생각된다.<sup>22,23)</sup> 그러나, 골다공증은 남성의 경우에도 역시 흔한 질병일 뿐 아니라 최근에는 남성에서도 이 질환의 유병률이 증가하고 있는 추세에 있기 때문에 남성을 대상으로 골밀도에 영향을 미치는 유전자를 탐색하는 작업도 역시 소홀히 할 수 없다.<sup>24,25)</sup> 남성을 대상으로 한 연구 결과를 살펴보면, *Willing et al.*(2003)<sup>26)</sup>은 10세 이전의 미국의 백인 소년들을 대상으로 한 연구에서 이 다형성이 대퇴골 골밀도와 유의한 관련성이 있는 것으로 보고하였지만, *Yamada et al.*(2003)<sup>27)</sup>이 50대의 일본인 중년 남성을 대상으로 한 연구에서는 이와 같은 유의한 관련성을 나타내지 않았다.

본 연구에서 수행된 20대의 남성을 대상으로 한 연구에서 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 3번 요추 및 대퇴골의 골밀도와 유의한 관련성을 나타내지 않았다. 비록, 연령의 차이로 인해서 직접 비교하기는 어렵지만, 본 연구 결과는 *Yamada et al.*(2003)<sup>27)</sup>이 수행했던 일본인 집단을 대상으로 한 연구 결과와 유사한 양상을 나타내었다. 그러나, 골밀도는 성별 및 연령과 같은 다양한 요인이 관여하며, 민족간 유전적 배경의 차이도 상반된 결과에 중요한 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서 수행된 osteocalcin 유전자의 C298T 대립 유전자 빈도를 살펴보면 C 대립 유전자의 빈도가 0.29이며, T 대립 유전자 빈도가 0.71로 C 대립 유전자의 빈도가 높은 양상을 나타내었다(Table VI). 이러

한 경향은 현재까지 수행된 다른 민족집단의 경우에도 역시 유사한 경향을 나타내었는데, 이 다형성의 경우에는 서양인 및 아시아 집단을 막론하고 유사한 대립 유전자 분포를 나타내었다. 이러한 대립 유전자 분포의 유사성은 osteocalcin 유전자의 C298T 다형성과 골밀도와의 관련성에서 유전적 배경이 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

따라서, osteocalcin 유전자의 C298T 다형성과 골밀도와의 관련성에서 나타나는 연구 결과에서의 차이는 연구 대상자의 수, 성별 및 연령과 같은 연구 설계에서의 차이 및 각각의 연구 집단의 유전적 구성에 영향을 미치는 환경적 요인의 차이가 보다 더 큰 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

골밀도에 영향을 미치는 환경 요인들 중에서 운동은 골밀도에 중요한 효과를 나타내는 것으로 알려졌으며,<sup>28)</sup> 이에 본 연구에서는 연구 대상자들을 적어도 1년 이상 규칙적이고 전문화된 운동을 수행하는 운동 선수군과 일반인으로 나누어 이 유전자 다형성과 골밀도와의 관련성에 관하여 조사하였다. 그렇지만, 본 연구 결과에서는 두 군 모두 이 유전자 다형성은 골밀도와 유의한 관련성을 나타내지 않았기 때문에 현재의 연구 설계 하에서는 운동이 이 유전자 다형성과 골밀도와의 관련성에 유의한 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 단백질 기능에 미치는 영향을 조사하기 위해서는 혈중 osteocalcin 농도의 측정이 필요하다. 그렇지만, 본 연구에서는 osteocalcin 농도의 측정이 이루어지지 않은 관계로, 이 다형성이 골밀도에 미치는 직접적인 영향을 조사하기에는 일정한 한계를 나타내었다. 또한, 본 연구는 대조군 41명과 운동 선수군 40명으로 이루어진 총 81명의 연구 대상자들을 선정하여 관련성 연구(association study)를 수행한 관계로, 관련성 연구를 수행하기에는 표본 수가 많지 않기 때문에, osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 골밀도의 값에 대해 약한 효과를 나타낼 경우에 제 2종 오류(type 2 error)를 범할 가능성을 배제할 수 없다. 따라서, 이 유전자 다형성이 골밀도 값에 미치는 영향을 정확히 분석하기 위해서는 보다 더 많은 표본 수를 대상으로 한 추사가 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

Osteocalcin 유전자의 C298T 다형성이 20대의 한국인 남성 운동선수군과 일반인의 3번 요추와 대퇴부의 골밀도와 유의한 관련성이 있는 지를 조사한 결과 두 군 모두에서 유의한 관련성이 관찰되지 않았다. 또한, osteocalcin 유전자의 C298T 다형성에 대한 대립 유전자 빈도를 현재까지 연구된 다른 민족 집단의 결과와 비교하였을 경우에 유사한 대립 유전자 분포를 나타내어 민족간 유전적 배경이 유사한 것으로 나타났다.

**Table VI** - Genotype frequencies of the C298T polymorphism in the osteocalcin gene in different ethnic groups

Population	Number	C	T	Reference
<i>Caucasian</i>				
American	261	0.22	0.78	<i>Sowers et al., 1999</i> <sup>29)</sup>
Swedish	97	0.20	0.80	<i>Gustavsson et al., 2000</i> <sup>19)</sup>
<i>Mongolian</i>				
Japanese	160	0.23	0.77	<i>Dohi et al., 1998</i> <sup>16)</sup>
Taiwanese	175	0.36	0.64	<i>Chen et al., 2001</i> <sup>20)</sup>
Chinese	557	0.28	0.72	<i>Mo et al., 2004</i> <sup>21)</sup>
Korean	81	0.29	0.71	<i>Present study</i>

## 문헌

- 1) Kanis, J. A., Melton III, L. J., Christiansen, C., Johnston, C. C. and Khaltsev, N. : The diagnosis of osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.* **9**, 1137 (1994).
- 2) 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).
- 3) 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).
- 4) Dequeker, J., Nijs, J., Verstraeten, A., Geusens, P. and Gevers, G. : Genetic determinants of bone mineral content at the spine and radius: a twin study. *Bone* **8**, 207 (1987).
- 5) Slemenda, C. W., Christian, J. C., Williams, C. J., Norton, J. A. and Johnston, C. C. Jr. : Genetic determinants of bone mass in adult woman: a reevaluation of the twin model and the potential importance of genetic interaction on heritability estimates. *J. Bone Miner. Res.* **6**, 561 (1991).
- 6) Sowers, M. R., Boehnke, M., Jannausch, M. L., Crutchfield, M., Corton, G. and Burns, T. L. : Familiality and partitioning the variability of femoral bone mineral density in women of child-bearing age. *Calcif. Tissue. Int.* **50**, 110 (1992).
- 7) Gueguen, R., Jouanny, P., Guillemin, F., Kuntz, C., Pourel, J. and Siest, G. : Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. *J. Bone Miner. Res.* **10**, 2017 (1995).
- 8) Deng, H. W., Stegman, M. R., Davies, K. M., Conway, T. and Recker, R. R. : Genetic determination of variation and covariation of peak bone mass at the hip and spine. *J. Clin. Densitom.* **2**, 251 (1999).
- 9) Deng, H. W., Chen, W. M., Conway, T., Zhou, Y., Davies, K. M., Stegman, M. R., Deng, H. Y. and Recker, R. R. : Determination of bone mineral density of the hip and spine in human pedigrees by genetic and life-style factors. *Genet. Epidemiol.* **19**, 160 (2000).
- 10) Liu, Y. Z., Liu, Y. J., Recker, R. R. and Deng, H. W. : Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J. Endocrinol.* **177**, 147 (2003).
- 11) Nishimoto, S. K. and Price, P. A. : Secretion of vitamin K dependent protein of bone by rat osteosarcoma cells. *J. Biol. Chem.* **255**, 6579 (1980).
- 12) Glowacki, J., Rey, C., Glimcher, M. J., Cox, K. A. and Lian, J. : A role for osteocalcin in osteoclast differentiation. *J. Cell Biochem.* **45**, 292 (1991).
- 13) Chenu, C., Colucci, S., Grano, M., Zigrino, P., Barattolo, R., Zambonin, G., Baldini, N., Vergnaud, P., Delmas, P. D. and Zallone, A. Z. : Osteocalcin induces chemotaxis, secretion of matrix proteins, and calcium-mediated intracellular signaling in human osteoclast-like cells. *J. Cell Biol.* **127**, 1149 (1994).
- 14) Puchacz, E., Lian, J. B., Stein, G. S., Wozney, J., Huebner, K. and Croce, C. : Chromosomal localization of the human osteocalcin gene. *Endocrinology* **124**, 2648 (1989).
- 15) Celeste, A. J., Rosen, V., Buecker, J. L., Kriz, R., Wang, E. A. and Wozney, J. M. : Isolation of the human gene for bone gla protein utilizing mouse and rat cDNA clones. *EMBO J.* **5**, 1885 (1986).
- 16) Dohi, Y., Iki, M., Ohgushi, H., Gojo, S., Tabata, S., Kajita, E., Nishino, H. and Yonemasu, K. : A novel polymorphism in the promoter region for the human osteocalcin gene: the possibility of a correlation with bone mineral density in postmenopausal Japan women. *J. Bone Miner. Res.* **13**, 1633 (1998).
- 17) Chen, W. C., Chen, H. Y., Wu, J. Y., Chen, Y. T. and Tsai, F. J. : Osteocalcin gene *HindIII* polymorphism is not correlated with calcium oxalate stone disease. *Urol. Res.* **29**, 98 (2001).
- 18) Wu, H. C., Lin, C. C., Chen, W. C., Chen, H. Y. and Tsai, F. J. : Osteocalcin gene *HindIII* C/T polymorphism is a biomarker for prostate cancer and responsiveness to hormone therapy. *Eur. Urol.* **43**, 197 (2003).
- 19) Gustavsson, A., Nordstrom, P., Lorentzon, R., Lerner, U. H. and Lorentzon, M. : Osteocalcin gene polymorphism is related to bone mineral density in healthy adolescent females. *Osteoporos Int.* **11**, 847 (2000).
- 20) Chen, H. Y., Tsai, H. D., Chen, W. C., Wu, J. Y., Tsai, F. J. and Tsai, C. H. : Relation of polymorphism in the promoter region for the human osteocalcin gene to bone mineral density and occurrence of osteoporosis in postmenopausal Chinese women in Taiwan. *J. Clin. Lab. Anal.* **15**, 251 (2001).
- 21) Mo, X. Y., Cao, C. K., Xu, F. H., Liu, M. Y., Li, M. X., Qin, Y. J., Zhou, Q., Zhang, Y. Y. and Deng, H. W. : Lack of association between the *HindIII* RFLP of the osteocalcin (BGP) gene and bone mineral density (BMD) in healthy pre- and postmenopausal Chinese women. *J. Bone Miner. Metab.* **22**, 264 (2004).
- 22) Jackson, J. A. and Kleerekoper, M. : Osteoporosis in men: diagnosis, pathophysiology and prevention. *Medicine* **69**, 137 (1990).
- 23) Jones, G., Nguyen, T., Sambrook, P. N., Kelly, P. J., Gilbert, C. and Eisman, J. A. : Symptomatic fracture incidence in elderly men and women: The Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES). *Osteoporos. Int.* **4**, 277 (1994).
- 24) Poor, G., Atkinson, E. J., Lewallen, D. G., O'Fallon, W. M. and Melton, L. J. : Age-related hip fractures in men: clinical spectrum and short-term outcomes. *Osteoporos. Int.* **5**, 419 (1995).

- 25) Center, J. R., Nguyer, T. V., Schneider, D., Sahmbrook, P. N. and Eisman, J. A. : Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observation study. *Lancet* **353**, 878 (1999).
- 26) Willing, M. C., Torner, J. C., Burns, T. L., Janz, K. F., Marshall, T., Gilmore, J., Deschenes, S. P., Warren, J. J. and Levy, S. M. : Gene polymorphisms, bone mineral density and bone mineral content in young children: the Iowa bone development study. *Osteoporos. Int.* **14**, 650 (2003).
- 27) Yamada, Y., Ando, F., Niino, N. and Shimokata, H. : Association of polymorphisms of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 3372 (2003).
- 28) Chilibeck, P. D., Sale, D. G. and Webber, C. E. : Exercise and bone mineral density. *Sports Med.* **19**, 103 (1995).
- 29) Sowers, M., Willing, M., Burns, T., Deschenes, S., Hollis, B., Crutchfield, M. and Jannausch, M. : Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcium levels. *J. Bone Miner. Res.* **14**, 1411 (1999).