

# 당뇨병에서 TCF7L2와 FTO 유전자의 특정 단일염기다형성과의 연관성 연구

하유균 · 박종형 · 전찬용 · 고성규<sup>1</sup> · 최유경\*

경원대학교 한의과대학 내과학교실, 1: 경희대학교 한의과대학 예방의학교실

## Study about the Association between Diabetes and the Targeted SNPs of TCF7L2 and FTO Genes

Yu Chun Hsia, Jong Hyung Park, Chan Yong Jun, Seung Gyu Ko<sup>1</sup>, You Kyung Choi\*

*Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyungwon University,  
1: Department of Preventive Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University*

Diabetes is a disease that contains a high concentration of glucose in blood and due to defects in either insulin secretion or insulin action. Although the distinctive causes and factors of diabetes have not been clarified, the genetic factors are suggested as a main susceptibility until now. SNP (Single Nucleotide Polymorphism), as the most common genetic variation, has an influence on personal susceptibility for diseases. A nonsynonymous SNP, which changes the amino acid of the protein and its function, is especially important. Therefore, this study hypothesized that there are associations between specific SNPs of the targeted genes. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) and fat mass and obesity associated (FTO) genes were selected as target genes from the results of genome-wide association and other related research studies. Second, four nonsynonymous SNPs (three in TCF7L2 and one in FTO gene) were selected as target SNPs by using public database of NCBI (National Center for Biotechnology Information). The recruited personnel was classified into three subgroups of diabetes, impaired fasting glucose (IFG) and normal groups. The individual genotypes of each group were analyzed by resequencing. None of genetic variations at four targeted SNP sites was revealed in all samples of this study. However, this study found two new SNPs that were not reported in TCF7L2 gene. One is synonymous SNP, which is heterozygous of C/T and no amino acid change of asparagine/asparagines, was located at c1641 and found in one normal person. Another is nonsynonymous SNP, which is heterozygous of G/A, was located at c1501 and found in two samples. This new discovered nonsynonymous SNP induce the amino acid change from alanine to threonine. Moreover, this new nonsynonymous SNP was found among two persons, one of whom was a diabetes patient and the other one was a person at boundary between IFG and normal, suggesting that this variant might be associated with IFG or diabetes. Even if there is a limitation of sample number for statistical power, this study has an importance due to the discovery of new SNPs. In the future study, a large sample number of diabetes cohort will be needed to investigate the frequency and association with new discovered SNP.

Key words : diabetes, SNP(single nucleotide polymorphism), TCF7L2, FTO

### 서 론

최근 들어 사회 경제적인 발전으로 과식, 운동부족, 스트레스 증가 등으로 인하여 당뇨병 인구가 늘고 있는 상황이다<sup>1)</sup>. 특

\* 교신저자 : 최유경, 인천시 중구 용동 117번지 경원대학교 부속길한방병원

· E-mail : kosmos@kyungwon.ac.kr, · Tel : 032-770-1210

· 접수 : 2009/11/11 · 수정 : 2010/03/23 · 채택 : 2010/05/07

히 우리나라의 당뇨병은 서구와는 다른 발병양상과 임상양상을 나타내고 있어 유전적 감수성과 환경인자의 상호영향이 크게 작용할 것이라고 여기고 있다<sup>2)</sup>.

당뇨병의 명확한 발병원인은 아직 정확하게 규명되지 않았지만 유전적인 요인이 크게 관여한다고 보고되고 있다. 당뇨병과 관련하여 유전자 및 유전적 변이와의 연관성이 오래 전부터 연구되어왔으며, 가장 일반적인 유전적 변이의 하나인 단일염기다

형성(SNP, Single Nucleotide Polymorphism)은 개개인의 질병 감수성에 영향을 주며, 아미노산의 변화 및 단백질의 기능변화를 일으키는 nonsynonymous SNP은 특히 중요하다. 최근 서양에서 대규모 제II형 당뇨병 환자들을 대상으로 전유전체 연관성 분석을 하여 새로운 연관 유전적 변이들을 찾기도 하였다<sup>3-6)</sup>.

당뇨병의 원인 등에 관해 국내, 외에서 수없이 많이 연구해 왔지만 본 연구의 타겟 유전자의 후보 SNP들은 한국인에서는 아직 연구가 보고되지 않았다.

본 연구는 당뇨병과 특정 유전적 변이와의 연관성이 있을 것이라는 가설을 세우고, 후보 유전자를 선정한 후 이 유전자의 특정 단일염기다형성과 당뇨병에서의 연관성을 알아보고자 하였다. 후보 SNP에 대하여 이미 알려진 질병관련 데이터와 본 연구의 결과를 비교 분석하고 또 한국인에서의 경향을 분석하여 이에 보고하는 바이다.

## 연구방법

### 1. 연구기간

2006년 12월 1일부터 2007년 5월 31일까지 임상시험에 참여한 환자를 대상으로 하였다.

### 2. 대상환자(inclusion criteria)

경원대학교 인천한방병원과 경희대학교 부속한방병원에서 진행된 '직장과 상염 복합추출물이 내당능장애에 미치는 영향'이라는 임상시험을 위하여 참가한 피험자들을 대상으로 연구를 진행하였다.

### 3. 제외환자(exclusion criteria)

천식 등 임상적으로 유의한 알러지 질환이 있는 자, 평소 알코올 남용자를 연구대상에서 제외하였다. 알코올의 음용기준은 남성인 경우 일주일에 28 units 이상, 여성인 경우 일주일 12 units 이상 마시는 것으로 기준으로 하였고 알코올 1 unit는 맥주 250 ml, 소주 한 잔, 와인 한 잔, 막걸리 150 ml로 정하였다. 하루에 한 갑 이상의 흡연자, 급성 질환자 및 다른 질환에 대한 치료가 필요한자, 신기능 장애의 기준은 혈철 크레아틴이 정상보다 30% 및 요단백 검사에서 양성인 자, 간기능 장애의 기준은 간 효소치가 정상 상한치의 3배 이상 인자는 제외하였고, 임신 또는 수유중이거나 임신 가능자, 1개월 이내에 헌혈이나 다른 임상시험에 참여한 자, 그리고 기타 과거력 및 위험요소가 있다고 판단되는 자를 연구대상에서 제외하였다(Table 1).

### 4. 당뇨병환자의 분류 기준

피험자 중 다음의 기준시험(실시 3주 이내에 스크리닝 검사를 통과한 자, 공복 혈청 혈당이 110-190 mg/dl, 식후 2시간 혈청 혈당이 130-250 mg/dl인 자)에 적합한 피험자들만을 그 대상으로 선정하여 대한당뇨병학회의 진단 및 분류기준<sup>7)</sup>에 따라 공복 정맥혈 혈장 포도당 농도가 126 mg/dl 이상은 당뇨병, 110-126 mg/dl은 공복혈당장애, 110 mg/dl 미만은 정상으로 구분하였다.

Table 1. Exclusive criteria of recruited subject

Exclusion	Criteria
1. Persons having clinically allergic symptoms including asthma	
2. Chronic alcohol abuse	Male(over than 28 units/week)
(1 unit = beer 250 ml, soju one cup, wine one glass, maggoli 150 ml)	Female(over than 21 units/week)
3. Smokers who smoke over than one pack/day	
4. Persons who need treatment for acute or other disease	
5. Persons with extreme difficulties in function of kidney	Over 30% than normal is serum creatine, or positive in albuminuria test
6. Persons with extreme difficulties in function of liver	Over three folds than in liver enzymes
7. Being or having possibility of pregnant, or nursing	
8. Participant for donation of other disease or dangerous factors	

### 5. 조사방법

본 연구의 계획서는 각 기관의 임상시험 심사위원회(IRB, Institutional Review Board)로부터 승인을 받았으며 시험에 참가한 모든 피험자로부터 서면동의를 받았다. 혈액샘플로부터 포도당, cholesterol, triglyceride 등 13개 항목을 검사하였다. 또한 DNA 추출의 경우, 혈액샘플 200 µl에서 혈액 DNA 추출 키트인 Exgene Blood SV (GeneAll, Korea)를 이용하여 추출하였다.

### 6. 타겟 유전자 및 SNP 선정

본 연구에서는 현재까지 전유전체 분석 등에 의해 보고된<sup>8-11)</sup> 제II형 당뇨병과 가장 연관이 있을 것으로 예상되는 TCF7L2와 FTO 유전자를 후보 유전자로 선정하였다. 후보 유전자들 각각의 많은 SNP들 중에서 아미노산 서열에 변화를 일으키는 nonsynonymous SNP을 그 대상으로 하였다.

### 7. Polymerase Chain Reaction (PCR) 및 genotyping

본 실험에서는 타겟으로 하는 SNP 주변의 서열에서 또 다른 알려지지 않은 변이를 확인하기 위하여, resequencing에 의한 방법을 선택하였다. 우선 SNP 부위를 증폭할 수 있는 PCR primer를 디자인 하였다. Primer 디자인은 "Primer3" ([http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3\\_www.cgi](http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3_www.cgi))라는 프로그램을 이용하였다. Sequencing을 통해 해당부위의 SNP을 깨끗하게 확인하기 위해서는 PCR 산물의 크기가 400-600 basepair가 적당하기 때문에, 이러한 크기를 고려하여 primer를 디자인 하였다(Table 2). 각 혈액에서 추출한 genomic DNA를 주형(template)으로 하여, 디자인 된 primer(바이오니아, 한국) 및 Taq polymerase(솔젠트, 한국)를 이용하여 PCR 하였다. 증폭된 PCR 산물은 ExoSAP-IT (USB, 미국)으로 정제한 후 염기서열 분석(마크로젠에 의뢰, 한국) 하여 유전자형 분석을 하였다.

### 8. 유전자형 분석 및 연관성 분석

염기서열 분석 결과, 일정수준 이상의 값(base calling > 30)을 가진 염기서열을 분석대상으로 하였다. 각 해당 샘플의 유전자형 및 새로운 SNP은 염기서열분석 결과의 DNA 서열 및 이들

의 electropherogram을 통하여 분석하였다. 한편, 집단 간 각 SNP 위치에서의 유전자형 및 빈도(allele frequency)를 바탕으로 환자-정상군 간의 유의성 분석은  $\chi^2$ -test를 이용하였다.

Table 2. Primer list designed for PCR

Gene	Primer name	Sequence(5'→3')
TCF7L2	rs3197486_F	TAAAGCAGACCCACCCAGAG
	rs3197486_R	CAAAGTCCCTACTGCTCCA
	rs2757884_F	TTGCAAAATCCCTCTCTTCC
	rs2757884_R	GCTGTTCTGAACGCTGAGTG
	rs58719576_F	GCGCCACTGTAATTGCCTC
FTO	rs58719567_R	GGTTCACGACGCTAAAGCTA
	rs16952624_F	CGTCTCAGCCTGCCAATCTA
	rs16952624_R	TCTGGCTATACCCATCACC

## 결 과

### 1. 임상자료 분석

연구대상자 총 52명의 환자에서 대한당뇨학회의 진단 및 분류기준에 따라서 당뇨 환자는 19례(36.5%), 내당능장애 14례(26.9%), 정상인 19례(36.5%)였다(Table 3).

Table 3. Proportions of subgroups

Classification	Number of subject
Diabetes	19 (36.5%)
Impaired fasting glucose(IFG)	14 (26.9%)
Normal	19 (36.5%)
Total	52 (100%)

각 그룹별 전체적인 임상자료 분석한 결과로 체질량지수의 경우 당뇨병 환자는 23.3 kg/m<sup>2</sup>(± 1.8), 공복혈당장애는 24.3 kg/m<sup>2</sup>(± 2.6), 정상인은 23.2 kg/m<sup>2</sup>(± 2.7)로 통계적 유의성을 보여주지 않았다(P>0.05)(Table 4).

Table 4. Clinical data of total and subgroups

	Total	Diabetes	IFG	Normal	P-value
Aeg (year, mean ± SD)	52.3(9.7)	52.3(8.0)	54.4(6.9)	49.9(12.5)	0.374
Weight (kg, mean ± SD)	64.4(9.5)	63.8(7.7)	67.6(11.2)	62.4(9.7)	0.314
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> , mean ± SD)	23.5(2.3)	23.3(1.8)	24.3(2.6)	23.2(2.7)	0.363
Total cholesterol (mg/dl, mean ± SD)	197.0(38.4)	215.8(40.6)	198.6(25.6)	183.7(38.2)	0.022
HDL cholesterol (mg/dl, mean ± SD)	37.3(8.5)	40.7(10.2)	35.6(6.5)	35.1(7.2)	0.084
LDL cholesterol (mg/dl, mean ± SD)	132.7(31.7)	146.6(36.6)	131.7(24.0)	119.5(26.5)	0.028
Triglyceride (mg/dl, mean ± SD)	135.2(86.6)	142.6(66.4)	111.4(51.7)	145.4(119.7)	0.491
Fasting glucose (mg/dl, mean ± SD)	119.5(29.2)	150.9(17.3)	115.9(5.7)	90.7(12.7)	<0.001
120 min glucose (mg/dl, mean ± SD)	203.7(83.2)	288.7(54.9)	178.8(47.2)	129.2(31.7)	<0.001

Cholesterol의 경우, total cholesterol과 LDL (low-density lipoprotein) cholesterol에서 차이를 보였다. Total cholesterol은 당뇨병 환자 215.8 mg/dl(± 40.6), 공복혈당장애 189.6 mg/dl(±

25.6) 그리고 정상인 183.7 mg/dl(± 38.2)로 당뇨병 환자가 정상인에 비해 약 17.5%정도 높은 수치의 통계적 유의성을 보여주었고(P=0.022), LDL cholesterol은 당뇨병 환자 146.6 mg/dl(± 36.6), 공복혈당장애 131.7 mg/dl(± 24.0) 그리고 정상인 119.5 mg/dl(± 26.5)로 역시 당뇨병 환자가 정상인에 비해 약 22.7%정도 높은 수치를 보여주었다(P=0.028). HDL cholesterol (high-density lipoprotein)은 당뇨병 환자 40.7 mg/dl(± 10.2), 공복혈당장애 35.6 mg/dl(± 6.5), 정상인 35.1 mg/dl(± 7.2)로 통계적 유의성을 보여주지 않았다(P>0.05). Triglyceride은 당뇨병 환자 142.6 mg/dl(± 66.4), 공복혈당장애 111.4 mg/dl(± 24.0), 정상인 145.4 mg/dl(± 119.7)로 통계적 유의성을 보여주지 않았다(P>0.05). 연령 및 체중에서 내당능장애 환자가 높은 비중을 차지하고 있었으나 유의성은 없었다(P>0.05)(Table 4).

공복혈당의 경우 당뇨병 환자는 150.9 mg/dl(± 17.3), 공복혈당장애는 115.9 mg/dl(± 5.7), 정상인은 90.7 mg/dl(± 12.7)로 통계적 유의성이 있었다(P<0.001). 또 다른 기준 중의 하나인 내당능장애(식사 후 2시간제의 혈당)의 경우 당뇨병 환자는 288.7 mg/dl(± 54.9), 공복혈당장애는 178.8 mg/dl(± 47.2), 정상인은 129.2 mg/dl(± 31.7)로 나타났다(P<0.001)(Table 4).

### 2. PCR 및 염기서열분석(resequencing)

각 PCR 조건은 각 PCR 증폭산물의 예상크기인 rs3197486 (445 basepair), rs2757886 (551 basepair), rs58719567 (584 basepair), rs16952624 (534 basepair) 모두 전기영동(electrophoresis)에서 확인되었다(Fig. 1).

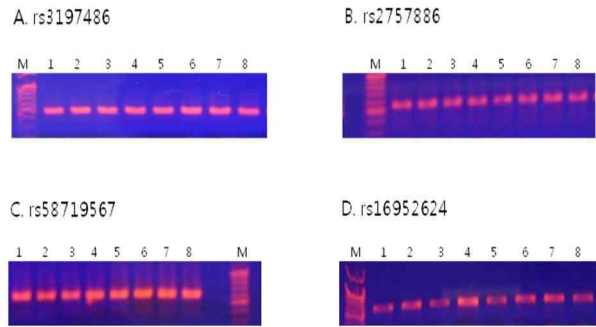


Fig. 1. PCR products of each targeted SNP

### 3. SNP 분석

염기서열분석 결과에서 원하는 타겟 SNP 부위를 확인하기 위하여, DNA 서열 및 이들의 electropherogram을 분석하였다. 타겟으로 하는 4개의 nonsynonymous SNP에서는 52명 전부에서 전혀 유전적 변이를 발견하지 못하였다. 그러나 TCF7L2의 rs58719567을 확인하기 위해 resequencing된 PCR 산물에서 기존에 발견되지 않았던 새로운 SNP를 2개 발견하였다(Fig. 2, Table 5). 하나는 nonsynonymous SNP으로서 c1501 (cDNA의 start codon으로부터 1501번째 위치)에 위치하고 G/A가 나타나는 SNP이며 2명에서 발견 되었다. 다른 하나는 synonymous SNP으로서 c1641 (start codon으로부터 1641번째 위치)에 위치하고

있으며 C/T가 나타나는 SNP이며 정상인 1명에서 발견되었다. 이 SNP은 C가 T로 바뀌지만 아미노산 asparagine에서 asparagine으로 동일하게 변화하는 SNP이다.

비록 샘플수가 적지만, 새로 발견된 SNP을 포함하여 각 SNP에서 당뇨병, 공복혈당장애 그리고 정상인 간의 연관관계를 확인해 보았다(Table 6). 당뇨병과 공복혈당장애을 포함한 집단과 정상과의 비교(Table 6A), 당뇨병과 정상(Table 6B), 공복혈당장애와 정상(Table 6C), 그리고 당뇨병과 공복혈당장애 간의 비교(Table 6D)에서 모두 유의한 관계를 확인할 수는 없었다.

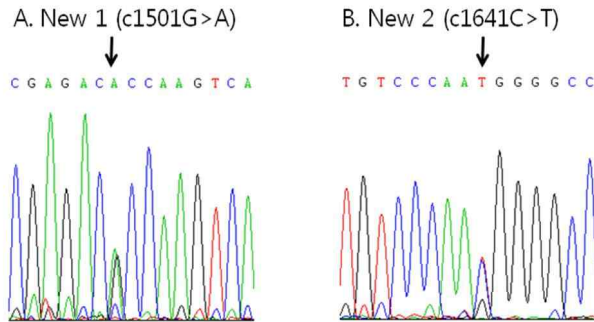


Fig. 2. Two new discovered SNPs and TCF7L2 gens

Table 5. Genotypes of total 52 subjects

No.	rs3197486	rs2757884	New 1 (c1501G/A)	rs58719567	New 2 (c1641C/T)	rs16952624
1	CC	CC	GG	TT	CC	CC
2	CC	CC	GG	TT	CC	CC
3	CC	CC	GG	TT	CC	CC
4	CC	CC	GG	TT	CC	CC
5	CC	CC	GG	TT	CC	CC
6	CC	CC	GG	TT	CC	CC
7	CC	CC	GG	TT	CC	CC
8	CC	CC	GG	TT	CC	CC
9	CC	CC	GG	TT	CC	CC
10	CC	CC	GG	TT	CC	CC
11	CC	CC	GG	TT	CC	CC
12	CC	CC	GG	TT	CC	CC
13	CC	CC	GG	TT	CC	CC
14	CC	CC	GG	TT	CC	CC
15	CC	CC	GG	TT	CC	CC
16	CC	CC	GG	TT	CC	CC
17	CC	CC	GG	TT	CC	CC
18	CC	CC	GG	TT	CC	CC
19	CC	CC	GG	TT	CC	CC
20	CC	CC	GG	TT	CC	CC
21	CC	CC	GG	TT	CC	CC
22	CC	CC	GG	TT	CC	CC
23	CC	CC	GG	TT	CC	CC
24	CC	CC	GG	TT	CC	CC
25	CC	CC	GG	TT	CC	CC
26	CC	CC	GG	TT	CC	CC
27	CC	CC	GG	TT	CC	CC
28	CC	CC	GG	TT	CC	CC
29	CC	CC	GG	TT	CC	CC
30	CC	CC	GG	TT	CC	CC
31	CC	CC	GG	TT	CC	CC
32	CC	CC	GG	TT	CC	CC
33	CC	CC	GG	TT	CC	CC

34	CC	CC	GG	TT	CC	CC
35	CC	CC	GG	TT	CC	CC
36	CC	CC	GG	TT	CC	CC
37	CC	CC	GG	TT	CC	CC
38	CC	CC	GG	TT	CC	CC
39	CC	CC	GA	TT	CC	CC
40	CC	CC	GG	TT	CC	CC
41	CC	CC	GG	TT	CC	CC
42	CC	CC	GA	TT	CC	CC
43	CC	CC	GG	TT	CT	CC
44	CC	CC	GG	TT	CC	CC
45	CC	CC	GG	TT	CC	CC
46	CC	CC	GG	TT	CC	CC
47	CC	CC	GG	TT	CC	CC
48	CC	CC	GG	TT	CC	CC
49	CC	CC	GG	TT	CC	CC
50	CC	CC	GG	TT	CC	CC
51	CC	CC	GG	TT	CC	CC
52	CC	CC	GG	TT	CC	CC

Table 6. Associations of the new discovered SNP with subgroups

A					
(Diabetes + IFG) vs Normal					
	Diabetes+IFG (n=33)		Normal (n=19)		
	MAF	MAF	MAF	$\chi^2$	P
rs3197486	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
rs2757884	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 1 (c1501G/A)	0.015	0.026	0.026	0.159	0.690
rs58719567	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 2 (c1641C/T)	0.000	0.026	0.026	1.754	0.185
B					
Diabetes vs Normal					
	Diabetes (n=19)		Normal(n=19)		
	MAF	MAF	MAF	$\chi^2$	P
rs3197486	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
rs2757884	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 1 (c1501G/A)	0.026	0.026	0.026	0.000	1.000
rs58719567	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 2 (c1641C/T)	0.000	0.026	0.026	1.013	0.314
C					
IFG vs Normal					
	IFG (n=14)		Normal(n=19)		
	MAF	MAF	MAF	$\chi^2$	P
rs3197486	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
rs2757884	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 1 (c1501G/A)	0.000	0.026	0.026	0.748	0.387
rs58719567	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 2 (c1641C/T)	0.000	0.026	0.026	0.748	0.387
D					
Diabetes vs IFG					
	Diabetes (n=19)		IFG (n=14)		
	MAF	MAF	MAF	$\chi^2$	P
rs3197486	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
rs2757884	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 1 (c1501G/A)	0.026	0.000	0.000	0.748	0.387
rs58719567	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
New 2 (c1641C/T)	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000

## 고찰

우리나라도 최근 들어 사회 경제적인 발전으로 과식, 운동부족, 스트레스 증가 등으로 인하여 당뇨병 인구가 늘고 있는 상황

이다<sup>1)</sup>. 특히 우리나라 당뇨병의 특징은 서구에 비해 베타세포의 분비능력이 낮은 것으로 보고되고 있으며, 제 I 형 당뇨병의 유병율은 매우 낮은 반면, 제 I 형과 제 II 형 당뇨병의 구분이 어려운 비전형적 당뇨병의 빈도가 높다는 것이다. 이는 서구와 다른 환경적, 유전적 인자의 원인이 작용할 것이라는 추측을 가능하게 하고, 따라서 당뇨병의 병인론과 임상적 특징 그리고 유전인자에 대한 많은 연구가 필요하다<sup>2)</sup>.

당뇨병은 유전적인 요인과 크게 관련한다고 보고되고 있고 당뇨병 환자의 약 55%는 부모가 모두 당뇨병이고, 부모 중 한쪽이 당뇨병일 경우 약 25% 이상이 당뇨병으로 발병 한다는 보고가 있다. 당뇨병과 관련하여 유전자 및 유전적 변이와의 연관성이 오래 전부터 연구되어왔으며, 최근 서양에서 대규모 제 II 형 당뇨병 환자들을 대상으로 전유전체 연관성 분석을 하여 새로운 연관 유전적 변이들을 찾기도 하였다<sup>3-6)</sup>.

인간 유전체 프로젝트의 완성으로 질병관련 유전자에 대한 유전체에서의 정보를 더욱 쉽게 확인할 수 있어 질병 유전자를 더욱 효율적으로 수행할 수 있게 되었다. 한편, 대부분의 사람은 약 99.9%가 서로 동일한 유전체를 구성하는 DNA 염기서열을 지니고 있으나, 0.1% 즉 300만개 정도의 염기서열에서의 차이로 인해 생김새, 피부 및 질병 감수성의 차이를 나타낸다고 한다. 유전적 변이(genetic variation)는 DNA 복제과정에서 발생하는 것으로 그 형태에 따라 단일염기다형성, 반복염기서열 수의 차이, 산발적 반복, 삽입과 결손으로 크게 4가지로 분류된다<sup>5,6,11)</sup>.

하나의 염기서열이 다른 염기로 바뀐 것을 단일염기다형성(SNP; single nucleotide polymorphism) 이라고 하며 가장 흔히 일어나는 유전적 변이이다. 일반 사람들과 비교하여 그 발생빈도가 1% 미만일 경우 돌연변이(mutation) 라고 부르고 있다. 한편, 2002년부터 국제적으로 HapMap project 컨소시엄을 구성하여, 수 백 만개의 SNP를 대상으로 약 270명의 인종별 샘플에서 유전자형(genotype) 분석을 하였으며<sup>5,6)</sup>, 현재까지 미국 국립보건원에 보고된 reference SNP(refSNP, rs 번호를 가진 것) 수는 약 1,500만개 정도이다(Build 129 기준). 따라서, 인간 유전체를 기준으로 볼 때, 약 220 basepair 당 하나의 SNP이 존재하는 것으로 추정되며, 전체 유전적 변이의 대부분을 차지하고 있다. 개인 간의 SNP 차이는 특정질환에 대한 감수성의 차이를 나타내며, 이러한 유전자형 변이에 대한 정보를 이용하여 질병 진단 및 치료, 예방, 그리고 약물반응을 위한 맞춤형의학(personalized medicine)이 발달되고 있다<sup>5)</sup>.

개인의 유전적 변이가 질병에 대한 감수성이 높은 유전자 혹은 원인 유전자에 존재한다면, 질병의 진단 및 치료에 이용될 수 있으며 더 나아가 예방법 개발에도 유용하게 이용될 수 있다. 그러나, 대부분의 SNP은 유전자와 유전자 사이의 intergenic DNA 영역(gSNP, ~75%)과 단백질 합성에 관여하지 않는 intron 부위(iSNP, ~24%)에 존재하고 있다. 나머지 약 1% 정도는 유전자를 coding하는 exon 부위(cSNP) 및 유전자의 발현을 조절하는 promoter에 위치한다. cSNP은 아미노산의 서열을 변경시키는 유무에 따라 아미노산의 변화가 없는 synonymous SNP(sSNP)과 아미노산의 변화를 유도하는 nonsynonymous SNP(nsSNP)으로

구분된다<sup>7)</sup>.

당뇨병은 췌장의 베타세포에서 만들어지는 인슐린이라는 호르몬의 분비와 밀접한 관계가 있지만, 아직 하나의 유전자에 의해 당뇨병(제 I 형 당뇨병 일지라도)이 발생한다는 멘델의 유전법칙에 적용되는 유전자는 발견되지 않았다. 당뇨병은 인슐린과 관련하여, 유전적인 요인뿐만 아니라, 비만, 식습관, 세균감염 그리고 스트레스 등과 같은 환경적인 영향을 많이 받는 복합적인 질병으로 분류되고 있다. 한편, 현재까지 보고된 당뇨병 관련 유전자로는, 제 I 형 당뇨병의 경우 면역시스템과 관련된 HLA 관련 유전자들이 관련되었다는 연구 결과들이 있는 반면, 제 II 형 당뇨병의 경우 ATP-인 감성 칼륨 통로(ATP-sensitive potassium channel)인 Kir6.2를 합성하는 KCNJ11 유전자와 글루카곤(glucagon) 생성과 관련된 유전자를 조절하는 TCF7L2 유전자와 연관성이 있다고 보고되었다<sup>8)</sup>.

최근 대규모 제 II 형 당뇨병 환자들(백인, 영국인, 핀란드인)을 대상으로 전유전체 연관성을 분석한 결과, 기존에 당뇨병과 연관성이 있다고 보고된 TCF7L2 유전자 외에도, 예전에 보고되지 않은 FTO, CDKAL1(CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1) 등과 같은 새로운 유전자들이 밝혀지기도 하였다<sup>8-10,12)</sup>. 따라서, 본 연구에 참여한 환자의 대부분이 제 II 형 당뇨병에 속하는 점을 감안하여 TCF7L2와 FTO 유전자들을 타겟 유전자로 선정하였다.

FTO 유전자는 1999년 Peters 등이 최초로 클로닝 하였는데, 이 유전자가 제거된 생쥐모델의 경우 발가락이 붙어서(fused toes) '크다' ("fatso")는 의미에서 근원이 되었다<sup>13)</sup>. 하지만, 2007년 제 II 형 당뇨병의 연관성이 밝혀지기 전까지만 해도 그 중요성이 인식되지 않아서, 그 기능 및 메커니즘에 대한 정보는 현재까지 거의 없는 상황이다. 최근 FTO가 대부분의 조직에서 발현되지만, 특히 뇌와 췌장 섬세포에서 많이 발현되는 것이 보고되었고, 2-Oxoglutarate에 의존해서 DNA의 탈메틸화(demethylation)를 촉진시킨다는 결과까지 밝혀졌다<sup>13)</sup>. 연구결과에 따르면, 인간의 FTO 단백질은 약 50 KDa의 분자량을 가지고 있으며 세포 대사과정의 감지자(sensor) 역할을 할 것으로 추측되고 있다<sup>14,15)</sup>.

한편, 최근 3만 8천여 명의 제 II 형 당뇨병 환자 집단을 대상으로 보고된 전유전체 연관분석 결과, FTO 유전자의 첫 번째 intron에 위치하며 A 혹은 T(A/T)의 유전자형을 나타내는 SNP rs9939609는 체질량지수(body mass index) 및 비만의 경향성과 상당한 연관성이 있다고 밝혀졌다<sup>8,16)</sup>. Intron에 위치하는 SNP은 주로 유전자 발현 조절에 영향을 미치거나 혹은 exon 들을 접합시키는 splicing 과정에 관여하기 때문에, 아직 정확한 기능이 밝혀지지 않았지만 FTO 유전자의 rs9939609는 아마도 개인 간에 유전자의 발현과 관련하여 체질량지수에 영향을 미칠 것으로 기대된다. 다시 말해, 이러한 FTO 유전자의 조절에 의해 체질량 및 비만이 증가되고, 결국 당뇨병에 대한 감수성이 증가한다는 것이다.

TCF7L2는 전사조절자(transcription factor)로서 대부분의 조직에서 발현되나, 특히 대상엽(cingulate cortex)와 같은 뇌의

피질, 폐, 그리고 지방세포(adipocyte) 등에서 많이 발현된다. TCF7L2는 DNA에 결합하는 high mobility group(HMG) box라는 영역을 가지고 있으며, 단백질 간 상호작용에 관여하는 것으로 알려져 있다. 또한 Wnt 신호전달계의 구성원으로 널리 알려져 있으며,  $\beta$ -catenin과 결합하여 세포핵내의 다른 타겟 유전자들(특히, 클루카곤 유전자)의 활성을 조절한다<sup>17,18</sup>.

TCF7L2에 frameshift mutation(유전암호의 틀에 변화를 일으키는 돌연변이) 및 비정상적인 splicing이 일어날 경우<sup>19</sup> 결합암을 포함하는 여러 종류의 암 발생 원인이 된다고 알려져 왔으나, 최근 전유전체 연관성 실험에서 제II형 당뇨병을 일으키는 주요한 유전인자(rs7903146 (C/T) in intron 3; rs12255372(G/T) in intron 4)로 부각되었다<sup>8,20</sup>. 또한 이것을 분석한 결과로 각각의 TT 유전자형의 경우 내당능장애(impaired glucose tolerance) 상태에서 당뇨병으로 진행될 위험성이 높았으며, metformin이라는 당뇨치료제를 복용하는 그룹보다 위약(placebo)를 복용한 집단에서 그 영향이 높게 나타났다<sup>21</sup>. 다시 말해, 이러한 유전자형의 차이는 약물의 대사와의 연관성이 있다고 추측할 수 있다. 한편 TT의 유전자형을 가진 집단은 기준치보다 저하된 인슐린 분비를 나타내지만, 증가된 인슐린 저항성을 나타내지는 않았다<sup>21</sup>.

본 연구에서는 당뇨병에 대한 후보 SNP과의 연관성을 살펴보기 위하여, 우선 당뇨병의 진단기준의 하나인 공복혈당장애에 따라 분류하였다. 물론, 식후 2시간 후의 혈당도 중요한 기준이나 정상인 2명의 자료가 없는 관계로 공복혈당을 이용하였다.

각 그룹 간 세부 임상자료 분석 결과, 공복혈당과 내당능장애의 수치는 통계적으로 유의한 차이를 각각 보였다( $P < 0.001$ ). 다시 말해, 본 연구에 사용된 샘플의 공복혈당에 의한 분류는 당뇨병과 유전적 변이를 연구하는데 판단기준이 된다는 것을 직접적으로 의미하고 있다. 기타 임상자료 분석결과, total cholesterol 및 LDL cholesterol의 수치가 정상인에 비해 상당히 높았다( $P < 0.05$ ). 이러한 당뇨병과 cholesterol의 연관성은 당뇨병환자 2,666명과 비당뇨병환자 31,126명에서의 cholesterol 수치를 비교한 다른 연구결과와 비슷한 경향성을 보여주었다<sup>22</sup>. HDL cholesterol 경우에도 당뇨병환자에서 상당한 경향성을 나타내었으나( $P < 0.084$ ), 유의성 있는 자료로 채택할 수 없었으며 이는 샘플수의 한계로 인한 것으로 판단된다. Triglyceride의 경우, 샘플수가 큰 연구에서는 연관성이 보였다는 보고가 있으나<sup>23</sup>, 본 연구에 참여한 집단에서는 차이가 나타나지 않았는데, 그 이유는 오차범위가 크게 나타난(특히 정상인에서) 것이 주요한 원인으로 보인다( $P = 0.491$ )(Table 5).

한편, 체질량지수는 백인의 경우 제II형 당뇨병환자에서 정상인에 비해 높게 나타났지만<sup>15</sup>, 본 연구의 집단 간에는 차이가 없었다( $P = 0.363$ ). 이것은 아마도 한국인과 백인들 사이의 체형 차이에서 오는 결과일 것으로 추측된다. 한편, 아시아인(홍콩인, 한국인)의 제II형 당뇨병환자를 대상으로 유전적 연관성을 연구한 논문이 최근 발표되었는데<sup>23</sup>, 홍콩인의 경우 체질량지수가 정상인에 비해 당뇨병환자에서 높은 수치가 나타나는 반면, 한국인의 경우 본 연구의 대상과 비슷하게 당뇨병 환자와 정상인 사이에 차이가 없는 것으로 보아, 한국인에서는 체질량지수가 당뇨병과

의 연관성이 없는 것으로 추정된다<sup>23</sup>.

최근 백인뿐만 아니라, 한국인을 포함하는 아시아인 6,719명을 대상으로 TCF7L2와 FTO 유전자 등의 7개 유전자에 존재하는 13개의 SNP에서 그 연관성을 분석한 결과, 이 두 개 유전자의 특정 2개 SNP을 보면 FTO 유전자의 경우 홍콩인과 한국인 사이에 약간의 차이가 있고 TCF7L2 유전자의 경우 각 집단에서는 통계적으로 연관성이 없지만 두 집단을 통합한 통계분석 결과 아시아인에서도 제II형 당뇨병과 연관성이 있는 것으로 나타났다<sup>8,16,23</sup>. 이러한 연구결과 등을 참조로, 본 연구에서는 당뇨병과 특히 연관성이 높은 것으로 추정되는 TCF7L2와 FTO 유전자를 주요 후보 유전자로 선택하였으며, 두 유전자에서 기능적으로 중요한 nonsynonymous SNP의 연관관계를 확인하고자 하였다.

본 연구에 참여한 52명의 샘플에서는 후보로 선정된 TCF7L2와 FTO 유전자의 4개 nonsynonymous SNP에 대한 유전적 변이가 전혀 발견되지 않았다. TCF7L2 유전자의 SNP만 발견되었을 뿐 공개 데이터에는 알려진 빈도가 없었다. 본 연구에서 rs3197486과 rs58719567에 어떠한 유전자 변이도 발견되지 않았다. 향후 대규모의 집단을 대상으로 한 유전자형 분석을 필요하겠으나 본 연구결과로는 이 부위에서의 변이는 그 낮은 빈도로 인하여 유전자 연관성은 없을 것으로 보인다. 또한 rs2757884의 경우에는 공개 데이터에서도 0%로 나타났는데, 만약 본 연구에서 한국인 특유의 빈도가 관찰된다면 인종 혹은 민족 간의 변이에 대한 차이를 분석할 것으로 기대하였다. 그러나 52명의 샘플은 비록 적은 수이지만 하나 이 부위에서의 유전적 변이 또한 그 빈도가 극히 낮은 것으로 보인다. FTO 유전자의 rs16952624의 경우 공개 데이터에서는 MAF가 0.014(1.4%)로써 50명당 약 1명에서 SNP이 발견되는 것을 의미한다. 본 연구에서는 rs16952624 유전자 변이가 발견되지 않았는데 이는 샘플수가 적은 것으로 판단된다.

본 연구는 TCF7L2 유전자에서 새로운 SNP을 2개 발견하였다는 중요한 의의를 가진다. 하나는 synonymous SNP으로서 c1614에 위치하고 있으며 C가 T로 바뀌지만 아미노산 asparagine에서 asparagine으로 동일하게 변화하는 SNP이다. 최근 MDR1 유전자에서 발견된 synonymous(혹은 silent) SNP이 비록 아미노산의 변화를 일으키지는 않지만, 약물반응에 대한 중요한 기능을 가진다고 보고되었기<sup>24</sup> 때문에 대규모 집단을 대상으로 이 새로운 SNP의 비율이 당뇨병과 정상인 사이에 차이를 보인다면 앞으로 이 새로운 변이에 대한 연구가 필요할 것으로 기대된다.

다른 하나는 nonsynonymous SNP으로서 c1501에 위치하고 있으며 G가 A로 변이됨으로써 alanine이 threonine으로 변화하는 SNP이다. 이는 2명에서 발견되었다. 인간의 염색체는 상동 염색체로 구성되어 있기 때문에 52명의 전체 염색체 수는  $52 \times 2 = 104$ 로 계산된다. 전체 52명 중 2명에서 이형 유전자형(heterozygous)이 발견되었다는 것은 그 빈도가 약  $0.019(2 \div 104)$ 로 2% 정도의 빈도로 발생한다. 이러한 빈도는 높은 빈도의 SNP에 속하며, 2명 중 한 명은 당뇨 환자에서 발생하고 나머지 한 명 역시 공복혈당장애와 정상인 경계부위인 정상인에서 발생하였

데 이러한 사실은 당뇨병과의 연관성이 있을 것으로 기대된다.

더 정확한 유전적 연관성을 얻기 위해서는 더 많은 혹은 대규모 당뇨병 집단에서의 연구가 필요하다. 또한 이 SNP는 비극성과 소수성(hydrophobic)의 alanine에서 극성(polar)과 친수성(hydrophilic)을 가진 threonine으로 변화하기 때문에 분자생물학적인 연구가 필요할 것으로 기대된다.

TCF7L2 유전자에 대한 분자적 정보가 아직 부족하나 최근 당뇨병과의 연관성이 계속 입증되면서 그 중요성이 강조되고 있다. 이 부위를 단일염기 돌연변이를 만들어 다양한 분자적 연구를 통하여 이 SNP의 기능을 밝힐 수 있으며, 한편으로는 이 유전자의 유전자 조절부위에서의 SNP들을 집중적으로 연구할 필요성도 요구된다.

### 감사의 글

이 연구는 한의학 연구원 K10130의 지원을 받아 수행하였습니다.

### 참고문헌

1. 당뇨병의 진단 및 분류 권고안 : 당뇨병의 분류 ; 당뇨병의 분류. 임상당뇨병, 대한당뇨병학회 8: 31-33, 2007.
2. 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현. 당뇨병학. 서울, 고려의학, pp 493-495, 498, 1998.
3. Barroso, I. Genetics of Type 2 diabetes. Diabet Med. 22: 517-535, 2005.
4. Florez, J.C., Hirschhorn, J. and Altshuler, D. The inherited basis of diabetes mellitus: implications for the genetic analysis of complex traits. Annu Rev Genomics Hum Gene. 4: 257-291, 2003.
5. Lander, E.S. and Schork, N.J. Genetic dissection of complex traits. Science. 265: 2037-2048, 1994.
6. Consortium(2003). The International HapMap Project. Nature. 426: 789-796, 2003.
7. 당뇨병의 진단과 분류 (Diagnosis and Classification of Diabetes). 임상 당뇨병, 대한당뇨병학회 6: 132-139, 2005.
8. Frayling, T.M. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. Nat Rev Genet. 8: 657-662, 2007.
9. Scott, L.J., Mohlke, K.L., Bonnycastle, L.L., Willer, C.J., Li, Y., Duren, W.L., Erdos, M.R., Stringham, H.M., Chines, P.S., Jackson, A.U., et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. Science. 316: 1341-1345, 2007.
10. Saxena, R., Voight, B.F., Lyssenko, V., Burt, N.P., de Bakker, P.I., Chen, H., Roix, J.J., Kathiresan, S., Hirschhorn, J.N., Daly, M.J., et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels.

- Science. 316: 1331-1336, 2007.
11. Frazer, K.A., Ballinger, D.G., Cox, D.R., Hinds, D.A., Stuve, L.L., Gibbs, R.A., Belmont, J.W., Boudreau, A., Hardenbol, P., Leal, S.M., et al. A second generation human haplotype map of over 3.1million SNPs. Nature. 449: 851-861, 2007.
12. Zeggini, E., Weedon, M.N., Lindgren, C.M., Frayling, T.M., Elliott, K.S., Lango, H., Timpson, N.J., Perry, J.R., Rayner, N.W., Freathy, R.M., et al. Replication of genome-wide association signals in UK sample reveals risk loci for type 2 diabetes. Science. 316: 1336-1341, 2007.
13. Peters, T., Ausmeier, K. and Ruther, U. Cloning of Fatso (Fto), a novel gene deleted by the Fused toes (Ft) mouse mutation. Mamm Genome. 10: 983-986, 1999.
14. Gerken, T., Girard, C.A., Tung, Y.C., Webby, C.J., Saudek, V., Hewitson, K.S., Yeo, G.S., McDonough, M.A., Cunliffe, S., McNeill, L.A., et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. Science. 318: 1469-1472, 2007.
15. Sanchez-Pulido, L. and Andrade-Navarro, M.A. The FTO (fat mass and obesity associated) gene codes for a novel member of the non-heme dioxygenase superfamily. BMC Biochem. 8: 23, 2007.
16. Frayling, T.M., Timpson, N.J., Weedon, M.N., Zeggini, E., Freathy, R.M., Lindgren, C.M., Perry, J.R., Elliott, K.S., Lango, H., Rayner, N.W., et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science. 316: 889-894, 2007.
17. Sampietro, J., Dahlberg, C.L., Cho, U.S., Hinds, T.R., Kimelman, D. and Xu, W. Crystal structure of a beta-catenin/BCL9/Tcf4 complex. Mol Cell. 24: 293-300, 2006.
18. Poy, F., Lepourcelet, M., Shivdasani, R.A. and Eck, M.J. Structure of a human Tcf4-beta-catenin complex. Nat Struct Biol. 8: 1053-1057, 2001.
19. Duval, A., Rolland, S., Tubacher, E., Bui, H., Thomas, G. and Hamelin, R. The human T-cell transcription factor-4 gene: structure, extensive characterization of alternative splicings, and mutational analysis in colorectal cancer cell lines. Cancer Res. 60: 3872-3879, 2000.
20. Grant, S.F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., Helgason, A., Stefansson, H., Emilsson, V., Helgadóttir, A., et al. Variant of transcription factor 7-like2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. NatGenet. 38: 320-323, 2006.
21. Florez, J.C., Jablonski, K.A., Bayley, N., Pollin, T.I., de Bakker, P.I., Shuldiner, A.R., Knowler, W.C., Nathan, D.M. and Altshuler, D. TCF7L2 polymorphisms and progression

- to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med.* 355: 241-250, 2006.
22. 정은희, 조은희, 배윤정, 김윤지, 민원기, 고은희, 김민선, 박중열, 이기엽. 저밀도 지단백 콜레스테롤 직접 측정값과 Friedewald 계산값의 비교. *임상당뇨병, 대한당뇨병학회* 8: 253-260, 2007.
23. Ng, M.C., Park, K.S., Oh, B., Tam, C.H., Cho, Y.M., Shin, H.D., Lam, V.K., Ma, R.C., So, W.Y., Cho, Y.S., et al. Implication of genetic variants near TCF7L2, SLC30A8, HHEX, CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, and FTO in type 2 diabetes and obesity in 6,719 Asians. *Diabetes.* 57: 2226-2233, 2008.
24. Kimchi-Sarfaty C., Oh, J.M., Kim, I.W., Sauna, Z.E., Calcagno, A.M., Ambudkar, S.V., Gottesman, M.M. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science.* 315: 525-528, 2007.