

# Gene Expression Analysis in Nasal Polyp Using Microarray

Sun-Hee Song<sup>1</sup>, Hyun-Uk Jang<sup>2</sup>, Ji-Won Oh<sup>3</sup> and Jung-Soo Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Daegu Veterans Hospital, Daegu; and

<sup>2</sup>Departments of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, <sup>3</sup>Immunology, School of Medicine, Kyungpook National University, Daegu, Korea

## Microarray를 이용한 비용의 유전자 발현 분석

송선희<sup>1</sup> · 장현욱<sup>2</sup> · 오지원<sup>3</sup> · 김정수<sup>2</sup>

대구보훈병원 이비인후과,<sup>1</sup> 경북대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실,<sup>2</sup> 연석학교실<sup>3</sup>

Received October 12, 2010

Revised December 29, 2010

Accepted December 30, 2010

Address for correspondence

Jung-Soo Kim, MD, PhD

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery,

Kyungpook National University,

50 Samdeok-dong 2-ga, Jung-gu,

Daegu 700-721, Korea

Tel +82-53-420-5785

Fax +82-53-423-4524

E-mail sookim@knu.ac.kr

**Background and Objectives** A nasal polyp is a chronic inflammatory disease that affects 1~4% of the general adult population. It is characterized by edematous inflamed mucosa prolapsing into the nose, leading to nasal obstruction, abnormal secretions, loss of smell, headache, and a reduced quality of life. We sought to screen for diseases related genes in nasal polyp by using DNA microarray and to validate the altered expression of selected genes.

**Subjects and Method** The samples were obtained from nine patients with nasal polyps and two patients with pituitary adenoma. DNA microarrays containing 22,063 genes were used to compare individual gene profiles of nasal polyp samples and normal mucosal samples. A study of mRNA expression of selected genes was performed using RT-PCR.

**Results** 126 genes were up-regulated at least 2-fold, and 161 genes were down-regulated at least 50% in nasal polyps compared with the normal sinus mucosa. The three most up-regulated genes (STATH, TCN1, DMBT1) and one most down-regulated gene (SCGB1A1) were retested by means of RT-PCR. RT-PCR confirmed the differential expressions of all the genes in nasal polyp compared with normal sinus mucosa.

**Conclusion** This study could provide a clue for investigating possible pathophysiologic processes involved in nasal polyps.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2011;54:55-61

**Key Words** Microarray · Nasal polyp · RT-PCR.

## 서론

비용은 부종성 비점막이 비강으로 돌출된 양성의 만성 염증성 질환으로 코막힘, 비루, 후각 감퇴, 두통 등의 증상을 야기한다. 비용은 일반 인구 1~4%의 유병률을 가지며, 어

른에서 좀 더 흔한 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 조직학적으로 심한 부종성 변화와 호산구, 백혈구, 비만세포, 임파구 등의 다양한 염증세포의 침윤과 함께 분비선의 과형성, 편평상피 이행성, 기저막 비후, 세포외 간질 축적,

섬유화 등이 관찰되며,<sup>2)</sup> 형태학적으로는 부종형, 선·낭종형, 섬유형으로 분류할 수 있다.<sup>3)</sup>

병인 및 발병기전으로는 유전적 요소, 감염, 해부학적 이상, 국소 면역 불균형, 이온 투과성의 변화 등의 요인들이 관여하고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>4,5)</sup> 논란의 대상인 알레르기와의 연관성은 cytokine연구에 의해서 IgE매개 알레르기의 기전과는 다를 것으로 보고되고 있으며,<sup>6)</sup> 현재까지 이루어진 많은 연구를 통하여 만성 지속성 염증이 비용 발생의 주요 인자인 것은 확실한 것으로 받아들여 지고 있다.<sup>2,4-6)</sup>

정확한 비용의 발병원인에 대한 이해는 현재까지 부족하며 대부분의 비용 관련 연구는 비용의 조직학적 특성인 호산구의 축적이나 염증세포의 침윤을 이끌게 되는 chemokine이나 cytokine 그리고 이들 유전자의 발현에 관한 것이며,<sup>2,4,7,8)</sup> 염증 기전 이외의 유전자 중 비용에서 발현되는 특징에 대한 연구는 많지 않다.<sup>1,9,10)</sup>

저자들은 세포 내 존재한다고 알려진 약 25,000종의 유전자에 대해서 일시에 증감을 관찰하는 microarray를 이용하여 비용에서 정상 점막조직에 대한 발현 차이를 분석함으로써 비용의 발병기전 이해에 도움이 되고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 대상 및 재료

경북대학교 병원 이비인후과에서 만성 부비동염 및 비용으로 진단받고 부비동 내시경 수술을 시행 받은 9명의 환자의 비용 조직을 이용하였다. 환자의 연령은 16세에서 69세로 평균 40세였으며, 남자는 6명, 여자는 3명이었다. 대조군은 같은 기간 경북대학교 병원 신경외과에서 뇌하수체 종양으로 진단되어 수술을 받은 2명의 환자를 대상으로 하였으며, 연령은 각각 49세, 55세였고 모두 남자 환자였다. 대조군의 환자들은 수술을 받기 전 내시경 검사 및 부비동 컴퓨터단층촬영과 뇌 자기공명영상을 통해 부비동염과 비용의 부재를 확인하였고, 경접형동 접근법으로 수술 중 접형동의 점막을 제거하여 실험에 사용하였다. 비용으로 수술을 받은 환자들은 수술 전 최소 1개월 내에 항생제나 국소 및 전신 스테로이드의 사용을 금하였다. 본 연구는 경북대학교병원 임상연구위원회의 심의를 통과하였다.

### 조직 준비 및 전체 RNA 추출

부비동 내시경 수술 중 중비도나 사골동에 존재하는 비용 조직을 채취 즉시 식염수에 세척 후 액체질소 통에 넣어 냉동하여 실험 전까지 보관하였고, 대조군으로 사용할 접형동 점막도 같은 방법으로 처리하였다.

전체 RNA를 추출하는 방법은 modified acid phenol method를 사용하였다. 먼저 액체 질소로 얼린 각 조직을 막자 사발로 파쇄하고, Trizol 용액(Life Technologies, Gaithersburg, MD)에 넣어 녹였다. 그 후 Trizol 1 mL당 1-bromo-3-chloropropane 0.1 mL를 넣고 12,000 RPM에서 15분간 원심분리하였다. 상층액을 새 튜브에 옮기고 0.5 mL의 isopropanol을 넣고 잘 섞어준 후 상온에서 10분간 방치하였다. 다시 12,000 RPM에서 15분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 75% ethanol로 pellet을 세척한 다음

12,000 RPM에서 10분간 원심분리하였다. Ethanol을 제거한 후, pellet을 건조시켜 diethyl pyrocarbonate(DEPC)로 처리된 증류수로 pellet을 용해시켰다. 그 후 자외선 분광광도계(DU 530, Beckman, Fullerton, CA)를 이용 A260/A280값을 측정하여 2.0 이상이 됨을 확인하였고, RNA integrity number(RIN)값이 microarray를 실시할 수 있는 권장 값인 7 이상의 상태인지를 확인 후 다음 실험을 시작하였다.

### Microarray

전체 RNA로부터 cDNA 합성은 RNA sample 5 µg을 template로 하여 T7-oligo(dT) primer와 One-Cycle cDNA Synthesis Kit(Affymetrix, Santa Clara, CA)를 이용하여 수행하였다. 합성한 이중나선 cDNA는 Sample Cleanup Module(Affymetrix, Santa Clara, CA)을 통해서 정제 후 GeneChip® IVT Labeling Kit(Affymetrix, Santa Clara, CA)에 넣고 37°C에서 16시간 정도 배양 및 biotin labeled cRNA를 합성하고 Sample Cleanup Module(Affymetrix, Santa Clara, CA)을 사용하여 정제하였다. Biotin-labeled cRNA는 hybridization kinetics를 높이고 2차 구조를 줄이기 위해서 GeneChip® Poly-A RNA Control Kit(Affymetrix, Santa Clara, CA)를 이용하여 35~200 bp 크기로 잘라 주었다. 잘려진 cRNA는 Affymetrix standard protocol에 따라 45°C에서 16시간 동안 Human Genome U133A 2.0 gene chips(Affymetrix, Santa Clara, CA)를 사용하여 hybridization 되었다. 9명의 실험군 및 2명의 대조군에 대해서 11개의 Affymetrix 칩을 이용하여 Hybridization 후 GeneChip fluidics station(model 450, Affymetrix, Santa Clara, CA)을 이용하여 세척하였고, streptavidin phycoerythrin을 이용하여 염색하였다. 염색 후 GeneChip® scanner 3,000(Affymetrix, Santa Clara, CA)를 사용하여 측정하였으며, 비용과 정상 점막 간의 발현된 유전자의 microarray 결과는 GeneChip Operating Software(Expression Console, Affymetrix, Santa Clara, CA)를 이용하여 수행하였고 총 사용된 probes 개수는 22,063개였고, 유의발현 유전자를 선별하는 방법은 1) log<sub>2</sub>(fold change); cutoff 2 이상 발현된 유전자, 2) MATLAB 2007b를 사용하여 얻은 통계학적으로 유의한( $p < 0.05$ ) 유전자였다.

### RT-PCR

Microarray 결과 비용조직에서 정상점막조직에 비해 126개의 발현이 증가된 유전자와 161개의 감소된 유전자가 확인되었다. 이 결과를 검증하기 위하여 3개의 유전자를 선

별하였다. 2개의 발현증가 유전자(STATH, TCN1)와 1개의 발현감소 유전자(SCGB1A1)를 선택하였다. Microarray 결과의 검증을 위하여 역전사 중합효소 연쇄반응(RT-PCR)을 이용하였고, RNA는 microarray에 이용한 시료의 RNA를 이용하였다. Total RNA 중 5 µg의 RNA를 Improm-II Transcription System(Promega, Madison, WI)을 사용하여 cDNA를 합성하였다. 만들어진 cDNA에서 각 유전자의 primer를 제작하여 PCR을 시행하였다. PCR 조건과 primer 염기서열은 Table 1에 요약하였다.

### 통계학적 분석

GeneChip® Scanner 3,000(Affymetrix, Santa Clara, CA)을 이용하여 판독 후 자료분석을 위해 GeneST1.0 프로그램을 이용하였다. Array scan으로 얻어진 모든 초기 데이터는 각각의 array마다 모든 gene probes에 대하여 평균하였다. Affymetrix GeneChip Operating Software(Expression Console, Affymetrix, Santa Clara, CA)의 global scaling을 시행하여 각각의 분포 차이에 대한 상호 비교 분석을 위하여 정규화(normalization)시켰다. 각각의 실험군과 대조군 사이의 유전자 발현 차이를 분석하기 위하여 Mann-Whitney U test를 사용하였으며, 유의 수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## 결 과

### Microarray analysis

정상 점막 조직과 비교하여 비염 조직에서 선별된 유의발현 유전자(differentially expressed gene, DEG)에 대한 fold change 결과는 비염 조직에서 126개의 발현 증가 유전자와 161개의 발현 감소 유전자가 관찰되었다. 가장 높은 발현을 보인 유전자는 STATH로 153.7배의 증가를 보였고, 다음으로는 TCN1, DMBT1의 순서였다. 2배에서 3배 사이의 결과를 보인 유전자는 74개, 3배에서 4배 사이는 19개, 4배에서 5배 사이는 8개, 5배 이상은 25개였다. 발현 감소

를 보인 유전자 중 2배에서 3배 사이의 결과를 보인 유전자는 135개, 3배에서 4배 사이는 22개, 4배 이상은 4개였고, 유전자 발현의 감소가 가장 두드러진 유전자는 SCGB1A1로 정상점막에서의 발현보다 11.6배 낮은 결과를 보였다. 7배 이상의 높은 발현을 보인 유전자와 3배 이상 낮은 발현을 보인 유전자는 Table 2 and 3과 같다.

### RT-PCR validation studies

Microarray 결과를 검증하기 위해서 2배 이상 증가된 발현을 보인 126개의 유전자 중 가장 높은 발현을 보인 상위 3개의 유전자인 STATH, TCN1, DMBT1과 가장 낮은 발현을 보인 SCGB1A1 유전자를 선택하여 역전사 중합효소 연쇄반응을 실시하였다. 역전사 중합효소 연쇄반응 결과

**Table 2.** List of over 7-fold up-regulated genes in polyp compared with normal mucosa

Affymetrix probe set ID	Reference sequence	Gene title	Fold change
8095422	NM_003154	STATH	153.7
7948444	NM_001062	TCN1	74.4
8095497	NM_152997	C4orf7	71.8
7931108	NM_007329	DMBT1	43.3
8095456	NM_017855	ODAM	32.3
8061815	NM_182658	C20orf185	24.6
8121936	BC062712	C6orf58	22.8
7997188	NM_005143	HP	22.4
8086607	NM_002343	LTF	20.9
8136839	NM_002652	PIP	17.5
7948354	NM_145016	GLYATL2	16.9
8141374	NM_001185	AZGP1	16.3
7976496	NM_001085	SERPINA3	11.7
8082797	NM_001063	TF	10.0
8008736	NM_006151	LPO	9.7
7962000	NM_198965	PTHLH	9.4
7922174	NM_000130	F5	8.9
8061780	NM_025227	BPIL1	8.5
7951217	NM_002423	MMP7	8.0
7992732	NM_145252	LOC124220	7.8

**Table 1.** RT-PCR conditions and primers used in this study

State	Gene name		Sequence (5-3)	Tm	Cycle
Up-regulated genes in polyp	STATH	Forward	GGC CCT CTA GGG TAG CAC AT	57.3	28
		Reverse	TGT GGT TGG TAT GGT TGT GG	57.3	28
	TCN1	Forward	TGG AGA AAG CCC AGA AAA TG	57.3	27
		Reverse	TAC CAG CTC CTT GGC TCA GT	57.3	27
	DMBT1	Forward	TGC TCT GTC TGC CAA ATC AC	58.3	29
		Reverse	GTC ATT GTC TGC CTG CTT GA	58.3	29
Down-regulated gene in polyp	SCGB1A1	Forward	CTT TCA GCG TGT CAT CGA AA	59.3	28
		Reverse	TGA TGC TTT CTC TGG GCT TT	59.3	28

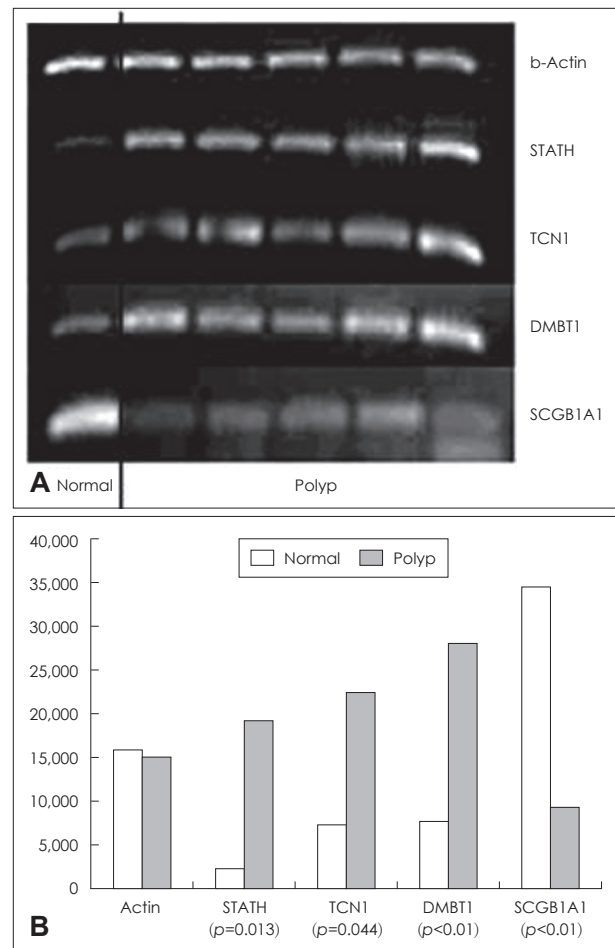
**Table 3.** List of over 3-fold down-regulated genes in nasal polyps compared with normal mucosa

Affymetrix probe set ID	Reference sequence	Gene title	Fold change
7940654	NM_003357	SCGB1A1	-11.6
8139087	NM_003014	SFRP4	-5.4
7934936	NM_213606	SLC16A12	-5.0
8075375	NM_174975	SEC14L3	-4.6
7951309	NM_002427	MMP13	-4.0
7972650	NM_175929	FGF14	-3.9
8144786	NM_003046	SLC7A2	-3.7
8175531	NM_004065	CDR1	-3.7
8055496	NM_018557	LRP1B	-3.7
8094301	NM_004787	SLIT2	-3.7
7962455	NM_006159	NELL2	-3.5
7961580	NM_018640	LMO3	-3.5
7959681	NM_001083900	DNAH10	-3.5
7957673	ENST00000298953	C12orf55	-3.5
8106827	NM_032119	GPR98	-3.4
8004957	NM_001372	DNAH9	-3.4
7903777	NM_000851	GSTM5	-3.4
8125919	NM_004117	FKBP5	-3.3
8097098	NM_019050	USP53	-3.3
8083897	XM_001723238	LOC100130245	-3.3
8141094	NM_002612	PDK4	-3.3
7991766	NM_000558	HBA1	-3.2
7991762	NM_000558	HBA1	-3.2
7984588	NM_024817	THSD4	-3.1
8166690	BC101698	CXorf59	-3.0
8158081	BC141809	C9orf117	-3.0

4개의 유전자 모두 microarray 결과와 상응하는 통계학적으로 유의한 결과를 나타내었다. 선택한 유전자에 대한 역전사 증합효소 연쇄반응의 결과는 Fig. 1과 같다.

## 고 찰

Microarray는 좁은 칩 표면에 수천 개 이상의 probe라고 부르는 유전자 서열을 고정시켜 제작되며, cDNA칩과 Affymetrix사의 oligonucleotide칩의 두 가지 종류가 있다. 초기에는 cDNA칩과 Affymetrix칩이 비슷하게 이용되다가 최근에는 보다 재현성이 좋은 Affymetrix칩이 대세를 이루고 있으며, 본 연구에서도 Affymetrix칩을 이용하였다. 이러한 Microarray를 이용한 연구분야는 계속해서 늘어나고 있다. Alizadeh 등<sup>11)</sup>은 미만성 대세포 B 림프종 환자를 microarray연구를 통하여 서로 다른 유전자를 표현하는 여포중심 B세포 기원 림프종과 말초 활성화 B세포 기원 림프종으로 구분하고 이들의 예후가 다를 것을 확인하여 림프종에



**Fig. 1.** PCR bands shows differential expression of all four genes in nasal polyp compared with normal mucosa (A). RT-PCR results confirmed differential expression for selected genes in nasal polyp and normal mucosa (B).

서 유전자 분석이 예후를 판단할 수 있는 marker를 찾아낼 수 있는 한 방법이 될 수 있음을 확인하였다. 비용에 관련된 연구로는 비용을 가진 아스피린 과민 및 내성 환자를 대상으로 실험하여 beta-adaptin과 HSP70(heat shock protein 70)의 발현 증가와 Western blot을 통한 검증을 보고하였으며,<sup>1)</sup> 알레르기 검사와 조직 소견에서 호산구의 침윤이 없는 비호산구성 비용을 가진 부비동염 환자를 분석하여 IL-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein1과 같은 선천성 염증 유전자(innate inflammation genes)의 발현 증가와 알레르기와 관계된 유전자인 IL-4 및 IL-13 등의 호산구성 염증과 관계된 유전자 발현의 결핍을 보고하였다.<sup>12)</sup> Liu 등<sup>9)</sup>은 비용과 정상점막에서 발현되는 유전자를 분석하여 최소 2배 이상의 발현을 보인 유전자 192개와 50% 이상 감소된 발현을 보인 156개의 유전자를 발견하였고, 나타난 유전자 중 STATH, PIP, lactoferrin, DMBT1, CC10 등을 대상으로 역전사 증합효소 연쇄반응과 면



역조직화학(immunohistochemistry)으로 검증하여 STATH을 제외한 나머지 유전자들에 대해서 정상 점막에 비해 비용에서 통계학적으로 유의한 차이가 있음을 보고하였다. Fritz 등<sup>13)</sup>은 알레르기 비염 환자에서 비용을 동반한 실험군과 동반하지 않은 대조군의 유전자 발현을 검사하여, 34개의 유의한 차이를 보인 유전자를 보고하였으며, 가장 높은 발현을 보인 mammaglobin을 역전사 중합효소 연쇄반응과 면역조직화학을 통해 검증하였다. Mammaglobin은 인간 유방암과 연관된 유용한 표지자를 검색하기 위한 목적으로 발견된 유전자로 본 실험에서 가장 낮은 발현이 관찰된 SCGB1A1의 발현 단백질 uteroglobin의 한 일원이다. 이 유전자에 의하여 만들어지는 단백질의 기능에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않지만, 성인 유방조직에서 유전자 발현이 유방 조직에서만 국한된다는 점과 비악성 유방조직에 비하여 유방암 세포주와 유방암 조직에서 과발현된다는 사실이 알려져 있다.<sup>14,15)</sup> 본 연구의 microarray실험에서는 정상 점막 군과의 비교에서 유의한 차이를 보이지 않았으나, mammaglobin은 아직 정확한 기능이 밝혀져 있지 않은 유전자이므로, 비용에서의 발현에 대해 지속적인 관심과 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 22,063개의 유전자를 검사하는 microarray를 통해 2배 이상 발현의 증가를 보이는 126개의 유전자와 161개의 발현 감소 유전자를 확인하였다. 증가 및 감소된 모든 유전자들에 대한 역전사 중합효소 연쇄반응 검증은 현실적으로 불가능하며, 대조군과 비교하여 높은 차이를 보이는 유전자 중 발현 증가 유전자인 STATH, TCN1, DMBT1과 발현 감소 유전자 SCGB1A1을 선택하여 검증을 실시하였다.

STATH은 염색체 4q11-q13에 위치하고 serine 2번과 3번이 인산화된 43개의 잔기를 가진 peptide로 표현이 되며, 이하선과 악하선 등 주타액선에서 분비가 된다.<sup>16,17)</sup> STATH은 구강 내 무기를 항상성의 유지와 관계된 물질이다. 이는 calcium phosphate와 강한 친화력을 가지고 있어 calcium phosphate 과포화된 용액에서 hydroxyapatite 결정의 성장과 침전을 억제하는 능력을 가지며, 또한 STATH과 C-terminal fragments는 구강에서 분리한 혐기성 세균의 증식을 억제하는 효과도 보고되어 있다.<sup>18)</sup> Cole 등<sup>19)</sup>의 연구에 의하면 STATH은 비분비액에서도 발견이 되었는데, 비분비액에는 이외에도 lysozyme, lactoferrin, secretory phospholipase A2, defensins 등의 항균작용을 하는 단백질과 peptide 등이 존재한다. Liu 등<sup>9)</sup>의 연구에서 STATH은 정상 점막에 비해 비용에서 48배로 가장 높은 발현을 보였으나 역전사 중합효소 연쇄반응과 면역조직화학에서는 통

계학적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다. 본 연구에서는 비용에서 정상 점막에 비해 microarray와 역전사 중합효소 연쇄반응에서 모두 통계학적으로 유의하게 높은 발현을 보였으며 조직내에서 STATH의 발현되는 부위를 확인은 하지 않았으나 STATH가 비용의 분비선에서 강하게 발현된다는 보고<sup>9)</sup>를 미루어 보아 STATH이 비용의 생성에 중요한 역할을 할 것으로 판단된다.

TCN1은 vitamin B12 결합 단백질의 한가지인 transcobalamin I을 표현하는 유전자로 염색체 11q11-q12.3에 위치하고, 9개의 exon과 8개의 intron으로 구성되어 있다.<sup>20)</sup> TC I(transcobalamin 1)은 R binder라고 불리며, 여러 조직과 유즙, 타액, 누액, 담즙 등의 분비액에서 발견 되고 과립구에서 유래하는 것으로 알려져 있으며 hyperleukocytic syndrome에서 흔히 높게 나타나므로, myeloproliferative diseases의 표지자로 인식되고 있다.<sup>21)</sup>

DMBT1은 염색체 10q25.3-q26.1에 위치하며 뇌, 폐, 식도, 위, 결장, 직장, 피부, 유방 등의 암에서 DMBT1 mRNA 발현의 결핍이나 유전자 재배열 등이 흔히 관찰되어 상피종양의 candidate tumor suppressor gene으로 지명되어 왔다.<sup>22)</sup> 그러나 폐, 유방, 췌장 등에 발생하는 상피종양에서는 오히려 증가되었다는 보고도 있다.<sup>23)</sup> DMBT1은 scavenger receptor cysteine rich(SRCR) 단백질군에 속하는 분비형 당단백으로 Mac-2 결합단백이나 점소와 같은 여러 가지 역할을 하는 단백질들과 관계되며, 세포 면역 반응이나 점막 방어, 상피세포 분화 등의 기능을 하는 것으로도 알려져 있다.

본 연구에서 TCN1은 비용에서 정상 점막에 비해 74.4배, DMBT1은 43.3배의 발현 차이를 보였으며, 역시 역전사 중합효소 연쇄반응에서 유의한 결과를 얻었다. TCN1은 과립구에서 많이 발현이 되므로 비용의 특징인 염증세포의 침윤과의 연관성이 추측되며, DMBT1은 상피종양에서 증가되는 양상과 그 기능이 세포면역반응이나 점막방어와 관련이 되므로 국소적인 만성염증이 관찰되는 비용과 상관관계가 있을 것으로 추측된다. 이들 유전자가 어떤 세포에서 발현되는지에 대한 실험이 더 필요하며, 염증세포들은 화학주성 인자들에 의해 이주해 온 것들이므로 그 자체가 원인이라기 보다는 결과적인 현상에 불과할 가능성이 높으므로 염증세포에서 발현되는지 혹은 점막이나 염증세포 외에서 발현되는지에 대한 정확한 구분이 필요하다고 생각된다.

본 연구에서 가장 낮은 발현을 보인 SCGB1A1은 염색체 11q12.3-q13.1에 위치하고, uteroglobin, CC10, Clara cell secretory protein(CCSP) 등으로 불리는 단백질을 표현한다.<sup>24)</sup> 사람에서 SCGB1A1의 발현 단백질은 70개의 아미노산

으로 구성된 두 개의 단백질로 이루어져 있고, 주로 폐의 Clara cell에서 만들어지고 여자에서는 progesterone의 영향을 받아 자궁내막에서, 남성에서는 전립선 및 정낭에서도 일부 분비된다.<sup>25)</sup> SCGB1A1의 여러 가지 생물학적 특성들 중에 임상적으로 중요한 것은 면역조절과 항 염증작용을 갖는다는 점이다. *In vitro* 연구를 통해 phospholipase A2의 활성을 억제함으로써 leukotriene이나 prostaglandin 등과 같은 염증반응의 매개물질 생성을 막는다고 알려져 있다. 만성 기관지염환자의 기관지액에서 SCGB1A1 단백질 발현의 감소와,<sup>26)</sup> 천식환자의 기도에서 SCGB1A1 양성 세포의 감소도 보고되었다.<sup>27)</sup> 또한 폐의 비소세포암 조직이나 세포주에서 발현이 현저하게 감소되어 있음이 보고되었고, 반대로 암세포에서 과발현시키면 암의 형질이 소실되고, 암세포 성장이 억제됨이 보고되었다.<sup>28,29)</sup> 초기의 SCGB1A1에 대한 연구는 이 유전자가 표현하는 단백질이 분비되는 조직에서 스테로이드 호르몬에 의한 유전자 조절이었다. 여성생식기에서는 estrogen이나 progesterone과 같은 난소호르몬에 의해 조절되고, 남성생식기에서는 testosterone에 의해 조절된다. 폐에서는 glucocorticoid, IFN- $\gamma$ 에 의해 조절된다고 알려져 있다. Liu 등<sup>9,30)</sup>은 microarray에서 -20.1배의 발현 감소와 역전사 중합효소 연쇄반응 및 면역조직화학에서 유의한 차이를 보고 하였으며, 최근 연구에서 비부비동염을 가진 환자에서 정상 점막보다 SCGB1A1 유전자 발현이 유의하게 감소되었고, 비부비동염을 가진 환자 중 비염을 가진 환자에서 유의한 발현의 감소를 보고하였다.<sup>30)</sup> 본 연구결과에서도 SCGB1A1 유전자는 정상 점막에 비해 -11.7배의 가장 낮은 발현을 나타내었고, 역전사 중합효소 연쇄반응 검증을 통해 유의성이 확인되었다. 스테로이드 사용시 임상적으로 비염의 크기가 감소되는 것과 SCGB1A1의 발현이 증가되는 사실을 종합해 볼 때 비염 발생에 상당한 관련이 있을 것으로 추측된다.

본 연구의 제한점은 첫 번째로 실험 대상군의 수가 작다는 것이다. 그러나 Liu 등<sup>9)</sup>의 실험에서도 실험군의 수는 작았으나 본 연구의 결과와 비슷한 결과를 나타내었으며, affymetrix chip의 장점인 재현성이 높다는 점을 감안하면 결과의 신뢰성은 높은 것으로 추측된다. 그러나 향후 지속적인 실험을 통해 현재 밝혀진 결과에 대한 검증이 필요할 것으로 생각된다. 두 번째로는 대조군으로 사용된 정상 점막에 대한 현미경적 관찰이 이루어 지지 않아 부종이나 염증 소견 등을 완전히 배제할 수 없다는 점이며, 세 번째로는 면역조직화학이나 Western blot 등의 단백질수준(protein level)에서의 검증이 없었다는 것이며 향후 이에 대한 검증이 필요할 것으로 판단된다. 본 연구에서 의미 있게 증가 혹

은 감소된 많은 유전자들 중 진실로 비염에 관계된 유전자가 어떤 것인가에 대한 결론은 계속된 연구와 많은 시간이 필요하며, 향후 각각의 유전자들에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## REFERENCES

- 1) Zander KA, Saavedra MT, West J, Scapa V, Sanders L, Kingdom TT. Protein microarray analysis of nasal polyps from aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients with chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy* 2009;23(3):268-72.
- 2) Pawankar R. Nasal polyposis: an update: editorial review. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3(1):1-6.
- 3) Kakoi H, Hiraide F. A histological study of formation and growth of nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 1987;103(1-2):137-44.
- 4) Yeo SG, Cho JS, Cha CI, Lee JG, Lee CH, Kim KJ, et al. Expression of CC Chemokines in Nasal Polyps. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 1999;42(11):1376-84.
- 5) Bernstein JM, Gorfien J, Noble B, Yankaskas JR. Nasal polyposis: immunohistochemistry and bioelectrical findings (a hypothesis for the development of nasal polyps). *J Allergy Clin Immunol* 1997;99(2):165-75.
- 6) Voegels RL, Santoro P, Butugan O, Formigoni LG. Nasal polyposis and allergy: is there a correlation? *Am J Rhinol* 2001;15(1):9-14.
- 7) Bernstein JM. Update on the molecular biology of nasal polyposis. *Otolaryngol Clin North Am* 2005;38(6):1243-55.
- 8) Kim CN, Hong SK, Kim MJ, Hong YS. Regulation of Cytokine Gene Expression in Nasal Polyp. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2002;45(2):137-43.
- 9) Liu Z, Kim J, Sypek JP, Wang IM, Horton H, Oppenheim FG, et al. Gene expression profiles in human nasal polyp tissues studied by means of DNA microarray. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(4):783-90.
- 10) Figueiredo CR, Santos RP, Silva ID, Weckx LL. Microarray cDNA to identify inflammatory genes in nasal polyposis. *Am J Rhinol* 2007;21(2):231-5.
- 11) Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403(6769):503-11.
- 12) Payne SC, Han JK, Huyett P, Negri J, Kropf EZ, Borish L, et al. Microarray analysis of distinct gene transcription profiles in non-eosinophilic chronic sinusitis with nasal polyps. *Am J Rhinol* 2008;22(6):568-81.
- 13) Fritz SB, Terrell JE, Conner ER, Kukowska-Latallo JF, Baker JR. Nasal mucosal gene expression in patients with allergic rhinitis with and without nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(6):1057-63.
- 14) Watson MA, Fleming TP. Mammaglobin, a mammary-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer. *Cancer Res* 1996;56(4):860-5.
- 15) Watson MA, Darrow C, Zimonjic DB, Popescu NC, Fleming TP. Structure and transcriptional regulation of the human mammaglobin gene, a breast cancer associated member of the uteroglobin gene family localized to chromosome 11q13. *Oncogene* 1998;16(6):817-24.
- 16) Lamkin MS, Oppenheim FG. Structural features of salivary function. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4(3-4):251-9.
- 17) Manconi B, Cabras T, Vitali A, Fanali C, Fiorita A, Inzitari R, et al. Expression, purification, phosphorylation and characterization of recombinant human statherin. *Protein Expr Purif* 2010;69(2):219-25.
- 18) Kochanska B, Kedzia A, Kamysz W, Mackiewicz Z, Kupryszewski G. The effect of statherin and its shortened analogues on anaerobic bacteria isolated from the oral cavity. *Acta Microbiol Pol* 2000;49(3-4):243-51.
- 19) Cole AM, Dewan P, Ganz T. Innate antimicrobial activity of nasal

- secretions. *Infect Immun* 1999;67(7):3267-75.
- 20) Carmel R, Parker J, Kelman Z. Genomic mutations associated with mild and severe deficiencies of transcobalamin I (haptocorrin) that cause mildly and severely low serum cobalamin levels. *Br J Haematol* 2009;147(3):386-91.
  - 21) Johnston J, Bollekens J, Allen RH, Berliner N. Structure of the cDNA encoding transcobalamin I, a neutrophil granule protein. *J Biol Chem* 1989;264(27):15754-7.
  - 22) Mollenhauer J, Helmke B, Muller H, Kollender G, Lyrer S, Diedrichs L, et al. Sequential changes of the DMBT1 expression and location in normal lung tissue and lung carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;35(2):164-9.
  - 23) Conde AR, Martins AP, Brito M, Manuel A, Ramos S, Malta-Vacas J, et al. DMBT1 is frequently downregulated in well-differentiated gastric carcinoma but more frequently upregulated across various gastric cancer types. *Int J Oncol* 2007;30(6):1441-6.
  - 24) Kurotani R, Kumaki N, Naizhen X, Ward JM, Linnoila RI, Kimura S. Secretoglobin 3A2/uteroglobin-related protein 1 is a novel marker for pulmonary carcinoma in mice and humans. *Lung Cancer* 2010.
  - 25) Mukherjee AB, Kundu GC, Mantile-Selvaggi G, Yuan CJ, Mandal AK, Chattopadhyay S, et al. Uteroglobin: a novel cytokine? *Cell Mol Life Sci* 1999;55(5):771-87.
  - 26) Hermans C, Bernard A. Lung epithelium-specific proteins: characteristics and potential applications as markers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(2):646-78.
  - 27) Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, Imada A, Hirasawa M, Yamada T, et al. Clara cell protein-positive epithelial cells are reduced in small airways of asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(3):930-3.
  - 28) Szabo E, Goheer A, Witschi H, Linnoila RI. Overexpression of CC10 modifies neoplastic potential in lung cancer cells. *Cell Growth Differ* 1998;9(6):475-85.
  - 29) Zhang Z, Kundu GC, Panda D, Mandal AK, Mantile-Selvaggi G, Peri A, et al. Loss of transformed phenotype in cancer cells by overexpression of the uteroglobin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(7):3963-8.
  - 30) Liu Z, Lu X, Zhang XH, Bochner BS, Long XB, Zhang F, et al. Clara cell 10-kDa protein expression in chronic rhinosinusitis and its cytokine-driven regulation in sinonasal mucosa. *Allergy* 2009; 64(1):149-57.