

NAT2, TNF- α , TGF- β 유전자 유형이 한국인의 알레르기 비염 발생에 미치는 영향

충북대학교 의과대학 예방의학교실

박윤근 · 강종원 · 김용대 · 이철호 · 엄상용 · 김 현

The Effect of Genotype of NAT2, TNF- α and TGF- β Genes on Allergic Rhinitis in Korea

Yoon Keun Park, MD, Jong-Won Kang, MD, Yong-Dae Kim, PhD,
Chul-Ho Lee, PhD, Sang-Yong Eom and Heon Kim, MD

Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : The inflammatory reaction is affected by the genotype or phenotype of genes related with inflammation modulating cytokines and allergen metabolizing enzyme. This study was performed to investigate the relationship between N-acetyl transferase 2 (NAT2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β (TGF- β) and the allergic rhinitis in Korea. **Subjects and Method** : One hundred forty five allergic rhinitis patients and 167 controls were included. Venous blood samples were collected and the genotypes were analyzed by PCR technique. NAT2 phenotypes were designated as 'high', 'medium' and 'low' by known genotype-phenotype relationship. TNF- α genotypes were classified as 'A/A', 'A/G' and 'G/G'. TGF- β genotype was classified as 'Arg/Arg', 'Arg/Pro' and 'Pro/Pro'. These data were analyzed by SAS for windows ver 8.02. **Results** : The phenotype of NAT2 and genotype of TGF- β showed no significant effect on allergic rhinitis. G/G or G/A genotype of TNF- α significantly increases the risk of allergic rhinitis. High activity phenotype of NAT2 showed higher level of total serum IgE. **Conclusion** : Genetic factors including TGF- β are important in the development of allergic rhinitis in Korea. NAT2 phenotype affect allergic reaction. (Korean J Otolaryngol 2006;49:1165-71)

KEY WORDS : Allergic rhinitis · NAT2 · TNF- α · TGF- β .

서 론

알레르기 비염을 유발하는 유전적 요인으로서는 염증을 매개하는 leukotriene 전구물질의 대사에 관여하는 효소들¹⁾과 tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β (TGF- β) 등이 중요한 역할을 함이 알려져 있다.²⁾

N-acetyl transferase II(NAT2 ; gene bank accession number X14672)는 이물질 대사에 관여하는 phase II 효소로서 체내의 대사를 거쳐서 활성화된 aryl hydrocarbon을 N-acetylation하여 독성을 줄이는 역할을 한다.³⁾

TNF- α (gene bank accession number X02910)는 pro-inflammatory cytokine으로 염증반응의 매개체로 작용하며 류마티스관절염, 패혈성 쇼크, Crohn's disease 등의 염증성 질환과의 관련성이 알려져 있고 알레르기 반응에도 중요한 역할을 하는 것이 보고되어 있다.⁴⁾ TGF- β (gene bank accession number X05839)는 염증반응을 억제하는 작용과 profibrotic cytokine의 두 가지 기능을 하는 것으로 알려져 있으며⁵⁾ TGF- β 가 증가하면 염증반응이 감소하고 기도의 변형이 촉진되는 것으로 보고되어 있다.⁶⁾ 이들 유전자의 다형성이 알려져 있고, 다형성이 여러 가지 감염성 및 염증성 질환의 발생에 영향을 미치는 것으로 알려져 있어, 알레르기 비염과도 관련이 있을 가능성이 있으나, 아직까지 알레르기 비염과의 관련성은 보고된 바 없다.

이 연구는 TNF- α , TGF- β 유전자 유형과 N-acetyl transferase II(NAT2) 표현형(phenotype)이 알레르기 비

논문접수일 : 2006년 5월 15일 / 심사완료일 : 2006년 8월 22일

교신저자 : 김 현, 361-763 충북 청주시 흥덕구 개신동 12

충북대학교 의과대학 예방의학교실

전화 : (043) 261-2864 · 전송 : (043) 274-2965

E-mail : kimheon@pm.cbu.ac.kr

염의 발생에 미치는 영향과 알레르기 비염 환자에서 이들 유전자 유형이 알레르기 반응에 미치는 영향을 평가하고자 수행되었다.

대상 및 방법

대 상

일개 대학병원 이비인후과에 내원하여 알레르기 비염 환자로 진단된 145명을 모집하여 환자군으로 하였고 동일 병원에 내원한 다른 환자와 의과대학 학생 167명을 모집하여 대조군으로 하였다.

환자군 중에서 74명은 남성, 71명은 여성이었고 대조군 중에서 104명은 남성, 63명이 여성이었다. 연구에 참여한 사람 모두에게 연구 내용을 설명하고 동의서를 받았다.

방 법

알레르기 비염 진단기준

한 명의 이비인후과 전문의가 문진과 진찰(비강의 mucosa, edema, secretions 정상, secretion)을 하여 소견이 알레르기 비염에 부합되고 36개 항원중 어느 하나라도 MAST (multiple allergosorbent test) 검사에서 양성인 경우 알레르기 비염 환자로 진단하였다. MAST는 Mast Lumina-tor (Hitachi Chemical Diagnostics, Tokyo, Japan)를 사용하고 Korean CLA-inhalant panel을 적용하여 36항목을 분석하였고 luminescence unit가 242를 초과하는 경우 MAST class를 4로 판정하였고 143~242는 class 3로, 66~142는 class 2로, 27~65는 class 1으로 판정하였고 26 이하는 negative로 판정하였다. Class 1 이상을 MAST 양성으로 하였고, 매 측정마다 양성 대조(positive procedural control)를 두었다. 측정된 항원은 total IgE, 콩(soybean), 우유(cow's milk), 계란 흰자(egg white), 게(crab), 새우(shrimp), 복숭아(peach), 아카시아(acacia), 물푸레나무(ash mix), 자작나무(birch alder mix), 수양버들(willow, black), 개암나무(hazelnut), 일본 삼나무(cedar, Japan), 참나무(oak, white), 포플러(poplar mix), 플라타너스(sycamore mix), 우산잔디(bermuda grass), 오라새(orch), 큰조아제비(timothy grass), 호밀풀(Rye), 미역취(goldenrod), 털비름(pigweed mix), 명아주과풀(russn thistle), 민들레(dandelion), 쑥(mugwort), 돼지풀(ragweed), 네 종의 곰팡이류(Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Penicillium), 고양이(cat), 개(dog), 바퀴벌레(cockroach mix), 집먼지(dust) 그리고 두 종의 집먼지

진드기(Dermatophagoides farinae, Dermatophagoides pteronyssinus)였다.

유전자 유형 판정

백혈구층의 분리

환자군과 대조군의 혈액을 EDTA 튜브에 5 ml 정도 채취하여 섭씨 영하 20도에서 보관하면서 Hystopaque(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 이용하여 백혈구층(buffy coat)을 분리하고 이것으로부터 high molecular weight DNA를 추출하였다.

TNF- α (308G/A), TGF- β (R25P), NAT2(*4, *5A, *5B, *5C, *6A, *6B, *7A, *7B)의 유전적 다형성 분석

추출한 DNA를 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction ; PCR)에 이용하였다. DNA 100 ng, 정해진 시발체(Table 1) 10 pmol, dNTP 혼합체 800 μ M, MgCl₂ 1.5 mM, KCl 40 mM, Tris-HCl 10 mM, pH 8.0, Taq polymerase 2.0 unit를 섞어 총 용량이 25 μ l가 되도록 PCR 반응액을 만들었다. TNF- α 는 PCR 반응액을 94 $^{\circ}$ C 30초, 66 $^{\circ}$ C 50초 그리고 74 $^{\circ}$ C에서 50초간 PTC 100 Thermal Cycler(MJ Research, Waltham, USA)를 이용하여 35회 증폭시킨 후 증폭된 산물 5 μ l에 NcoI 제한 효소 5 unit, 그리고 10X 완충액 1 μ l를 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 이상 반응시켰다. TGF- β 는 PCR 반응액을 95 $^{\circ}$ C 20초, 60 $^{\circ}$ C 30초, 그리고 72 $^{\circ}$ C에서 20초간 35회 증폭시킨 후 증폭된 산물 5 μ l에 BglI 제한효소 5 unit, 그리고 10X 완충액 1 μ l를 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 이상 반응시켰다. NAT2는 PCR 반응액을 94 $^{\circ}$ C 15초, 59 $^{\circ}$ C 45초, 그리고 74 $^{\circ}$ C에서 45초간 35회 증폭시킨 후 증폭된 산물 5 μ l에 TaqI 제한효소 5 unit와 10X 완충액 1 μ l를 가하고 65 $^{\circ}$ C에서 6시간 이상 반응시켰다(Table 1). 반응이 끝난 반응물은 2% agarose gel, 12% PAGE gel에서 100V로 60분 동안 전개한 다음 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 아래에서 관찰하여 유전자형을 정하였다.

NAT2(*4, *5A, *5B, *5C, *7A, *7B)의 유전적 다형성 분석

추출한 DNA를 실시간 중합효소 연쇄반응(real-time polymerase chain reaction ; PCR)에 이용하였다. DNA 20 ng, 정해진 시발체(primer)와 형광 표지된 TaqMan probe (fluorogenic probe) (Table 2) 10 pmol, dNTP 혼합체 800 μ M, MgCl₂ 1.5 mM, KCl 40 mM, Tris-HCl 10

Table 1. Primers and thermal condition for PCR reactions, restriction conditions, band patterns and corresponding genotypes of the TNF- α , TGF- β , and NAT2 (*4/*6A, 6B) genes

Gene	Primer sequence and thermal condition	Restriction condition	Band pattern	Genotype
TNF- α	Forward : 5'-aggcaatagggtttgagggccat-3'	NcoI 37°C, >6 h	97, 20	G/G
	Reverse : 5'-tcctccctgctccgattccg-3'		107, 97, 20	G/A
			107	A/A
TGF- β (R25P)	Forward : 5'-cgcttcaccagctccatgtcgatag-3'	BglI 37°C, >6 h	64, 60, 56	Arg/Arg
	Reverse : 5'-cacaccagccctgttcgcgctct-3'		116, 64, 60, 56	Arg/Pro
			116, 64	Pro/Pro
NAT2 (*4/*6A,B)	Forward : 5'-tgacggcaggaattacattgtc-3'	TaqI 65°C, >6 h	226, 170, 142, 21	*4/*4
	Reverse : 5'-acacaagggtttatttggcc-3'		396, 226, 170, 142, 21	*4/*6A,6B
			396, 142, 21	*6A,6B/*6A,6B

Table 2. Primers and TaqMan probe for real-time PCR reactions, and corresponding alleles of the NAT2 (*4,*5A,*5B,*5C,*7A,*7B) genes

Gene	Primer sequence and thermal condition	Probe sequence	Genotype
NAT2 (*4,*7AB)	Forward : 5'-ggagaaatctcgtgcccccaaac-3'	VIC-tggtgatggatccctta-NFQ	NAT2*4
	Reverse : 5'-ttgggtgatacatcacaggggtttatt-3'	FAM-ctgggtgatgaatccctta-NFQ	NAT2*7A,B
NAT2 (*4,*5A,B)	Forward : 5'-gccttgcatthtctgcttgaca-3'	VIC-atttgggtccagggtaccag-NFQ	NAT2*4
	Reverse : 5'-ttcttgggttgaatatactgctctcctg-3'	FAM-atttgggtccagggtaccag-NFQ	NAT2*5A,B
NAT2 (*4,*5C)	Forward : 5'-actggcatgggtcacctctc-3'	VIC-ccgtcaatgggtcacc-NFQ	NAT2*4
	Reverse : 5'-cccagcatcgacaatgtaattcct-3'	FAM-ccgtcagtggtcacc-NFQ	NAT2*5C

mM, pH 8.0, Taq polymerase 2.0 unit를 섞어 총 용량이 10 μ l되도록 PCR 반응액을 만들었다. 이것을 92°C 15초, 60°C 1분간 iCycler iQTM multicolor Real-Time PCR (Bio-RAD, USA)을 이용하여 40회 증폭시키면서 형광 표지된 TaqMan probe의 binding 여부에 따른 형광값을 관찰하여 유전자형을 정하였다(Table 2).

NAT2의 표현형 분석

Meyer 등⁷⁾의 방법에 따라 Table 3과 같이 유전자형에 따라 표현형을 slow, intermediate, rapid 로 구분하였다.

Serum IgE, 호산구 숫자, 호산구 점유율

Serum IgE는 PRIST (paper radioimmunosorbent test) 로 IU/mL 단위로 측정하였고 호산구 숫자와 점유율은 CBC (complete blood count) with differential count로 1 mm³ 당 호산구 개수와 총 백혈구 중 점유율을 측정하였다.

자료분석

얻어진 모든 결과는 컴퓨터 파일로 입력하고 SAS for Windows ver. 8.02 패키지로 분석하였다. 조사된 모든 인자에 대한 단변수 분석을 실시하였는데, 연속변수인 경우 환자와 대조군의 평균치를 t-test로 분석하였고 비연속변수는 chi-square 방법을 적용하였다. 유전자 유형이 serum IgE, 호산구 숫자, 호산구 점유율에 미치는 영향은 t-test 또는 ANOVA로 분석하였다. 비연속변수는 알레르

Table 3. NAT2 enzyme activity according to the genotype

Genotype	NAT2 activity
*4/*4	Rapid
*2/*4/*2*5A,B	Intermediate
*4/*5C	Intermediate
*4/*6A,B	Intermediate
*4/*7A,B	Intermediate
*5A,B/*5A,B	Slow
*5A,B/*5C	Slow
*5A,B/*6A,B	Slow
*5A,B/*7A,B	Slow
*5C/*5C	Slow
*5C/*6A,B	Slow
*5C/*7A,B	Slow
*6A,B/*6A,B	Slow
*6A,B/*7A,B	Slow
*7A,B/*7A,B	Slow

기 비염 발생 증가를 odds ratio(OR)로 표현하였다. 성별과 NAT2와 TNF- α 유전자 유형이 알레르기 비염에 미치는 영향을 상호 보정한 상태로 평가하기 위해 multiple logistic analysis를 실시하였다. 통계분석결과 p -value가 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

일반적 특성

환자군의 연령은 32.4 $\pm$ 15.5세(7~96세)였고 대조군은

26.8 $\pm$ 7.8세(13~71세)였다. 환자군의 신장은 164.2 $\pm$ 9.3 cm로 대조군의 168.5 $\pm$ 8.3 cm에 비해 약간 작았고 체중도 환자군이 58.5 $\pm$ 11.6 kg으로 대조군의 61.7 $\pm$ 12.1 kg에 비해 약간 적었다. 환자군의 51.0%는 남성이었고 대조군의 62.3%가 남성이었다(Table 4).

NAT2, TNF- α , TGF- β 와 알레르기 비염

환자군 중에서 50명(35.7%)은 NAT2 slow 유형이었고 71명(50.7%)은 intermediate 유형이었으며 19명(13.6%)은 rapid 유형이었다. 대조군 중에서 55명(41.0%)은 slow

유형이었고 57명(42.5%)은 intermediate 유형이었으며 22명(16.4%)은 rapid 유형이었다. 환자군과 대조군의 NAT2 유형 분포에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

환자군에서 TNF- α 가 GG형이 121명(89.0%)이었고 대조군은 129명(80.6%)으로 환자군에서 GG형이 유의하게 많았다($p=0.0483$). TGF- β 유전자 유형은 166명에 대하여 분석하였는데 모두 Arg/Arg형으로 Arg/Pro 또는 Pro/Pro형이 한 명도 관찰되지 않아 알레르기 비염과의 관련성을 분석할 수 없었다(Table 5).

알레르기 비염 발생에 미치는 요인들에 대한 다변량분석

성별과 NAT2, TNF- α 유전자 유형을 독립변수로 하는 multiple logistic 분석 결과 TNF- α 유전자형 경계상 유의미성 수준($p=0.736$)에서 알레르기 비염에 영향을 미치는 것으로 나타났다. TNF- α 가 GG 유형인 경우 AA 또는 AG 유형에 비해 알레르기 비염이 약 1.94배 많았다. NAT2활성과 성별은 알레르기 비염과 유의한 관련성을 보이지 않았다(Table 6).

Table 4. General characteristics of study subjects

Variable	Controls (n=167) (Mean $\pm$ SD)	Cases (n=145) (Mean $\pm$ SD)
Age (yrs)	26.8 $\pm$ 7.8	32.4 $\pm$ 15.5
Sex, n (%)		
Male	104 (62.3)	74 (51.0)
Female	63 (37.7)	71 (49.0)
Height (cm)	168.4 $\pm$ 8.3	164.1 $\pm$ 9.3
Weight (kg)	61.6 $\pm$ 12.1	58.5 $\pm$ 11.6

Table 5. Distribution of NAT2, TNF- α and TGF- β genotypes of cases and controls

	Number of subjects (%)		OR (95% CI)	p-value
	Controls (n=167)	Cases (n=145)		
NAT2				
Slow	50 (35.7)	55 (41.0)		
Intermediate	71 (50.7)	57 (42.5)	0.73 (0.43, 1.23)	0.2328
Rapid	19 (13.6)	22 (16.4)	1.05 (0.51, 2.17)	0.8895
TNF- α				
GA or AA	31 (19.4)	15 (11.0)		
GG	129 (80.6)	121 (89.0)	1.94 (1.00, 3.77)	0.0483
TGF- β				
Arg/Arg	25 (100.0)	141 (100.0)		
Arg/Pro or Pro/Pro	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-

Table 6. Multiple logistic analysis result of the risk factors of allergic rhinitis

Variable	Estimate	SE*	Chi-square	OR (CI)	p-value
NAT2 activity	-0.00959	0.1818	0.0028	0.99 (0.69, 1.41)	0.9579
TNF- α	0.6621	0.3701	3.2002	1.94 (0.94, 4.01)	0.0736
Sex	0.3958	0.2587	2.3405	1.49 (0.90, 2.47)	0.1260

*Standard error. Coding of independent variables were categorized as follows. NAT2 activity : low-1, intermediate-2, high-3, TNF- α : GA and AA-0, GG-1, Sex : male-1, female-2

Table 7. NAT2 activity and serum IgE level, eosinophil count and eosinophil (%)

	NAT2 activity			p-value
	Slow	Intermediate	Rapid	
Serum IgE (IU/ml)	184.0 $\pm$ 260.8	224.6 $\pm$ 270.0	372.5 $\pm$ 365.7	0.0343
Eosinophil count (per mm ³ blood)	375.5 $\pm$ 663.5	333.8 $\pm$ 247.5	261.1 $\pm$ 166.4	0.4248
Eosinophil (%)	7.2 $\pm$ 14.1	5.7 $\pm$ 4.2	4.7 $\pm$ 3.3	0.3200

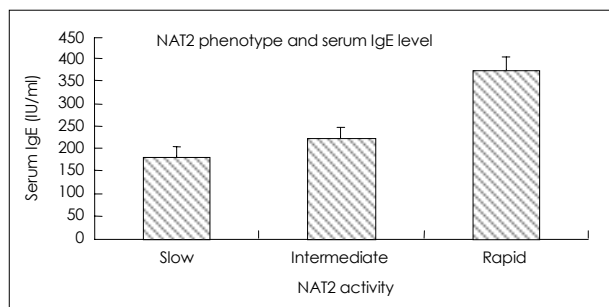


Fig. 1. NAT2 phenotype and serum IgE level in allergic rhinitis patients (n=145). Serum IgE levels are expressed in mean and standard error.

Table 8. TNF- α genotype and serum IgE level, eosinophil count and eosinophil (%)

	TNF- α genotype		p-value
	AA or GA	GG	
Serum IgE (IU/ml)	174.6 $\pm$ 169.8	231.0 $\pm$ 288.0	0.5452
Eosinophil count (per mm ³ blood)	360.9 $\pm$ 175.8	350.0 $\pm$ 477.6	0.8804
Eosinophil (%)	6.0 $\pm$ 2.1	6.6 $\pm$ 10.4	0.5838

NAT2 활성, TNF- α 유전자 유형과 알레르기 반응

NAT2 활성이 낮은 경우 총 혈중 IgE는 184.0 $\pm$ 260.8 IU/ml이었고 활성이 중간인 경우 224.6 $\pm$ 270.0 IU/ml, 활성이 높은 경우 372.5 $\pm$ 365.7 IU/ml로 NAT2 활성이 높아질수록 총 혈중 IgE 농도가 유의하게 높아지는 경향을 보였다($p=0.0343$, Table 7, Fig 1). 혈중 호산구 숫자와 호산구 점유율은 이와 반대로 NAT2 활성이 높을수록 낮아지는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다(Table 7).

TNF- α 유전자 유형과 총 혈중 IgE, 호산구 숫자, 호산구 점유율 간에는 유의한 관련성이 관찰되지 않았다(Table 8).

고 찰

알레르기 비염 환자에서 국소적이거나 전신적인 proinflammatory cytokine들이 증가되어 있다고 알려져 있고⁴⁻⁶⁾ 이중 하나인 TNF- α 로 알레르기 비염 환자에서 증가한다고 알려져 있다.⁴⁾ 이와 상반되게 TGF- β 는 anti-inflammatory cytokine으로 보고되었고,⁵⁾ 이는 동물 실험을 통해서도 입증된 바 있다.⁸⁾ Cytokine들의 expression을 조절하는 한 단계가 이들을 coding하는 유전자의 유전자 유형으로 다양한 자극에 의한 알레르기 반응에 유전자 유형이 중요한 역할을 한다는 것도 보고된 바 있으며,⁹⁾ 알레르기 질환 이외의 면역학적 또는 염증성 질환에도 이와 관련된 유전자 유형이 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다.¹⁰⁾ Wang 등¹¹⁾은 알레르기 비염의 발생에 HLA도 관여

한다고 보고하였다. 본 연구에서 조사된 유전자 유형 중에서 환자군과 대조군에서 NAT2 표현형 분포에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다. N-acetyl transferase II(NAT2)는 이물질 대사에 관여하는 phase II 효소로서 체내의 대사를 거쳐서 활성화된 aryl hydrocarbon을 N-acetylation하여 독성을 줄이는 역할을 하며,³⁾ 유전형에 따라 표현형(N-acetylation 활성도)을 rapid, intermediate, 그리고 slow acetylator로 분류한다.⁷⁾ 이 유전자는 SLE, 대장암, 방광암 등의 발생과 관련이 있는 것으로 보고되어 있고 알레르기 항원 대사에도 관여하여 알레르기 비염과 관련성이 있을 가능성은 있는 것으로 판단되지만 아직 이와 관련된 보고는 없는 것으로 판단되며 본 연구 결과도 유의한 관련성을 보여주지 않아서 한국인의 알레르기 비염 발생에 NAT2 유전자의 표현형은 중요한 역할을 하지 않을 가능성을 시사하였다. 본 연구에서 조사된 또다른 유전자인 TNF- α 는 환자군에서 GG형이 89.0%였고 대조군에서 80.6%로 환자군에서 GG형이 유의하게 많은 것으로 나타났다($p=0.0486$), 성별 등을 보정한 다변량 분석에서도 대응위험도 1.94(0.94, 4.01) ($p=0.0736$)으로 유사한 결과를 보여 TNF- α 유전자 유형이 한국인의 알레르기 비염에 유의한 영향을 미치는 것으로 관찰되었다. TNF- α 는 GG형이 활성이 낮고 GA 또는 AA형이 활성이 높아 TNF- α 의 분비량이 증가하는 것으로 알려져 있다.²⁾ TNF- α 는 염증 반응의 매개에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고 급성 알레르기 비염에서 비점막 mast cell에서 분비되는 것으로 알려져 있고,¹²⁾ 알레르기성 염증 환자에서 mRNA 발현이 증가되는 것이 보고되어 있으나,¹³⁾ 그 유전형(genotype)이 알레르기 비염 발생에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구는 거의 없다. Gentile 등(2004)은 TNF- α 활성이 높은 유전형(GA 또는 AA형)을 가진 어린이에서 알레르기 비염의 가족력이 유의하게 많다고 보고하였고,²⁾ Zhu 등(2004)은 TNF- α 유전자형과 알레르기 비염과는 관련성이 없다고 보고하였다.¹⁴⁾ 본 연구 결과는 환자 본인의 유전자 유형을 조사하였고 인구집단이 이들 연구자와 다른 집단을 대상으로 하여 이들 연구와 상반된 점은 1) 인구집단의 차이에 의해 나타났을 가능성, 2) 유전자 활성이 낮은 사람은 유전자 활성이 높은 사람에 비해 유전자 유형 이후의 조절 기전에 의해 오히려 TNF- α 분비가 높을 가능성, 3) 지역적, 환경적 요인이 다른 연구와 상반되어 나타났을 가능성 등으로 설명이 가능할 것으로 판단되지만 본 연구 결과만으로는 본 연구는 유전형만을 대상으로 하여, 실제로 대상자의 코 점막에서 TNF- α 분비량이 다른지, 다르다면 어떻게 다른지에 대한 접근을 하

지 못했다는 제한점이 있다.

상대적으로 적은 표본수도 제한점의 하나로 더 많은 대상자에 대하여, TNF- α 의 분비량이나 활성을 함께 조사하는 연구를 통해 규명할 필요가 있는 것으로 판단된다.

본 연구에서 고려된 유전자 유형 이외에 알레르기 비염에 영향을 미치는 다른 중요한 유전자가 있는데 조사되지 못하였을 가능성은 본 연구의 제한점의 하나로 판단된다. 환자군과 대조군의 연령에도 차이가 있다는 제한점이 있으나 유전자 유형은 수정 시점에서 결정되어 수명에 영향을 미치지 않는 유전자의 경우 연령에 의해 영향을 받지 않으므로 연구 결과에 영향을 미쳤을 가능성은 낮은 것으로 판단된다.

알레르기 비염은 대학병원에서 표준화된 방법으로 진단되었기 때문에 환자 분류상의 오류는 적을 것으로 생각되지만 대학생 대조군으로 포함시킨 대조군에서는 알레르기 비염에 대한 진단검사를 실시하지 않아 알레르기 비염 환자가 대조군으로 포함되었을 가능성이 있다. 이러한 경우 대조군에 환자가 포함되어 결과가 관련성이 적어지는 방향(toward null)으로 오류가 생길 것이며 따라서 본 연구에서 관찰된 관련성보다 실제 관련성이 더 클 가능성이 있다.

TGF- β 도 분석되었으나 환자군과 대조군이 전부 Arg/Arg형으로 나타나 알레르기 비염과의 관련성을 분석할 수 없었다는 제약이 있었다. 이 유전자가 우리나라 인구집단의 알레르기 비염에 미치는 영향을 분석하기 위해서는 더 많은 수의 대상자가 필요할 것으로 판단된다.

일부 유전자 유형은 혈중 IgE의 농도에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다. IL-13 유전자 다형성은 일반인구 집단의 총 혈중 IgE에 유의한 영향을 미치며,¹⁵⁾ CTLA4와 FCER1B 유전자 다형성은 천식 환자에서 총 혈중 IgE에 유의한 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다.¹⁶⁾ 본 연구에서는 NAT2 유전자 활성이 높을수록 총 혈중 IgE 농도가 유의하게 증가하는 것으로 관찰되었다. NAT2 활성이 높을수록 IgE가 증가한다는 것은 이물질의 일종인 알레르기 항원의 conjugation이 빨리 될수록 IgE에 의한 알레르기 반응이 크게 나타남을 시사하는 결과이나 이에 대한 보고는 거의 없는 것으로 판단된다. 또한 환자군 중에 최근 항히스타민 또는 스테로이드 제제를 복용한 사람이 포함되어 있어 serum IgE 수준에 영향을 미쳤을 가능성이 있으나 이러한 이질적인 집단이 포함되는 경우 경우 분산을 증가시켜 toward the null bias가 야기되는만큼 이때문에 NAT2 유전자형에 따라 serum IgE 수준에 유의한 차이가 나타났을 가능성은 낮은 것으로 판단된다.

본 연구에서는 알레르기 항원에 의한 감작을 MAST로

측정하였는데, 최근 CAP-FEIA(immunoassay capture test-fluoro enzymimmunoassay)가 정량적 검사로 사용되고 있다. Tang 등의 보고에 의하면 MAST의 민감도는 51%, 특이도는 84%이고 효율은 73%인 반면 CAP-FEIA는 민감도가 57%, 특이도가 80%, 효율은 74%로 보고되었다.¹⁷⁾ CAP-FEIA는 MAST와 비교해서 민감도는 높지만 특이도는 낮고 효율은 두 검사가 유사하고, 가격이 MAST에 비해 비싼 것과 알레르기 항체 농도가 알레르기 항원과의 접촉 시기, 기간, 정도에 따라 달라지는 점¹⁸⁾ 등을 고려하면 본 연구에서 사용된 MAST가 CAP-FEIA에 비해 정량적 검사가 아니라는 점 이외에는 큰 차이가 없는 것으로 판단된다. 또한 본 연구에서는 MAST 결과를 양성 과 음성으로 구분하였기 때문에 MAST가 적합한 검사법으로 판단된다.

결론

본 연구 결과 TNF- α 유전자 유형이 한국인의 알레르기 비염에 유의한 영향을 미치는 것으로 관찰되었고 NAT2 표현형은 한국인의 알레르기 비염 발생과 관련이 없는 것으로 나타났다. TNF- α 유전자형이 실제 분비량에 어떠한 영향을 미치며, 본 연구를 통해 제기된 TNF- α 활성이 낮은 사람이 알레르기 비염이 많이 발생하는가 하는 가설은 더 큰 규모의 연구를 통해 규명할 필요가 있는 것으로 판단된다.

NAT2 활성이 높을수록 총 혈중 IgE가 높은 것으로 나타나 NAT2 활성이 혈중 IgE와 알레르기 반응에 영향을 미치는 기전에 대한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

중심 단어 : 알레르기 비염 · NAT2 · TNF- α · TGF- β .

이 논문은 2005년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음(This work was supported by Chungbuk National University Grant in 2005.).

REFERENCES

- 1) Bascom R. *Environmental factors and respiratory hypersensitivity: The Americas. Toxicol Lett* 1996;86 (2-3):115-30.
- 2) Haberal I, Corey JP. *The role of leukotrienes in nasal allergy. Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129 (3):274-9.
- 3) Hein DW, Doll MA, Rustan TD, Gray K, Feng Y, Ferguson RJ, et al. *Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. Carcinogenesis* 1993;14 (8):1633-8.
- 4) Riccio AM, Tosca MA, Cosentino C, Palestini E, Ameli F, Caronici GW, et al. *Cytokine pattern in allergic and non-allergic chronic rhinosinusitis in asthmatic children. Clin Exp Allergy* 2002;32 (3):422-6.

- 5) Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszc M, Blaser K, et al. *IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy.* *Eur J Immunol* 2003;33 (5):1205-10.
- 6) Liebhart J, Cembrzynska-Nowak M, Bienkowska M, Liebhart E, Dobek R, Zaczynska E, et al. *Relevance of the selected cytokine release to the exacerbation of bronchial asthma from airway mycotic infection. Predominant role of TFN-alpha?* *J Investig Allergol Clin Immunol* 2002;12 (3):182-91.
- 7) Meyer UA. *Polymorphism of human acetyltransferases.* *Environ Health Perspect* 1994;102 suppl:213-6.
- 8) Ayoub M, Lallouette P, Sutterlin BW, Bessler WG, Huber M, Mittenbuhler. *Modulation of the Th1/Th2 bias by an immunoglobulin histamine complex in the ovalbumin allergy mouse model.* *Int Immunopharmacol* 2003;3 (4):523-9.
- 9) Schaaf BM, Boehmke F, Esnaashari H, Seitzer U, Kothe H, Maass M, et al. *Pneumococcal septic shock is associated with the interleukin-10-1082 gene promoter polymorphism.* *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168 (4):476-80.
- 10) Simhan HN, Krohn MA, Zeevi A, Daftary A, Harger G, Cariitis SN. *TNF- α promoter gene polymorphism-308 and chorioamnionitis.* *Obstet Gynecol* 2003;102 (1):162-6.
- 11) Wang M, Xing ZM, Yu DL, Yan Z, Yu LS. *Association between HLA class II locus and the susceptibility to Artemisia pollen-induced allergic rhinitis in Chinese population.* *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130 (2):192-6.
- 12) Bradding P, Mediawake R, Feather IH, Madden J, Church MK, Holgate ST, et al. *TNF alpha is localized to nasal mucosal mast cells and is released in acute allergic rhinitis.* *Clin Exp Allergy* 1995;25 (5):406-15.
- 13) Ying S, Robinson DS, Varney V, Meng Q, Tsicopoulos A, Moqbel R, et al. *TNF alpha mRNA expression in allergic inflammation.* *Clin Exp Allergy* 1991;21 (6):745-50.
- 14) Zhu S, Chan-Yeung M, Becker AB, Dimich-Ward H, Ferguson AC, Manfreda J, et al. *Polymorphisms of the IL-4, TNF-alpha, and Fc epsilon R gene and the risk of allergic disorder in at-risk infants.* *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161 (5):1655-9.
- 15) Graves PE, Kabesch M, Halonen M, Holberg CJ, Baldini M, Fritzsche C, et al. *A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children.* *J Allergy Clin Immunol* 2000;105 (3):506-13.
- 16) Hizawa N, Yamaguchi E, Jinushi E, Konno S, Kawakami Y, Nishimura M. *Increased total serum IgE levels in patients with asthma and promoter polymorphisms at CTLA4 and FCER1B.* *J Allergy Clin Immunol* 2001;108 (1):74-9.
- 17) Tang RB, Wu KG, Hwang B. *Comparison between skin testing and in vitro testing for diagnosis of allergen in asthmatic children.* *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1994;54 (4):246-50.
- 18) Sigurs N, Hattevig G, Kjellman B, Kjellman NI, Nilsson L, Björkstén B. *Appearance of atopic disease in relation to serum IgE antibodies in children followed up from birth for 4 to 15 years.* *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94 (4):757-63.