중증 근무력증과 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성

연세대학교 대학원
의학과
박지형

중증 근무력증과 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성

연세대학교 대학원
의학과
박지형

중증 근무력증과 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성

지도교수 최영철

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2004년 12월 일

연세대학원 대학원

의학과

박지형

박지형의 석사 학위논문을 인준함

심사 위원_____ 인

심사 위원_____ 인

심사 위원_____ 인

연세대학교 대학원

2004년 12월 일

감사의 글

논문의 시작부터 완성까지 지도해 주신 최영철 교수님과 많은 조언을 주신 강성웅 교수님과 김원주 교수님께 진심으로 감사드립니다. 데이터 수집에 도움을 주신 부산대 김대성 교수님께도 감사드립니다. 그리고 실험의 진행에 큰 도움을 준 이은영 연구원과 신경과 의국원들에게도 감사를 전합니다.

마지막으로 항상 저를 위해 기도하시는 부모님과 사랑하는 동생, 소중한 사람과 논문 완성의 기쁨을 같이 하고 싶습니다.

저자 씀

차례

그림 및 표 차례

그림 차례

표 차례

국문요약

중증 근무력증과 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성

목적: 중증 근무력증은 신경근 접합부에 있는 아세틸콜린 수용체에 대한 면역 반응을 특징으로 하는 자가 면역 질환으로 유전적 요인 뿐 아니라 면역 조절의 이상이 중증 근무력증을 유발하는 인자로 생각되고 있다. 인터루킨-1α (interleukin-1α), 인터루킨-1β (interleukin-1β)와 그들의 대항제인 인터루킨-1 수용체 길항제 (interleukin-1 receptor antagonist) 가 면역 반응의 시작과 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이를 토대로 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성과 자가 면역 질환 연관성에 대한 많은 연구들이 있었다. 본 연구에서는 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성을 중증 근무력증 환자와 정상인에서 비교하여 이들이 중증 근무력증 발병과 연관이 있는지 알아보았다.

방법: 중증 근무력증 환자 80 명과 정상 대조군 94 명을 대상으로 하여, 인터루킨-1β 엑손 5 의 Taq*I* 제한절편길이다형성(restriction fragment length polymorphism)과 인터루킨-1 수용체 길항제의 인트론 2 의 86-bp 일렬반복의 수(variable numbers of an 86-bp tandem repeat) 유전자 다형성을 분석하였다.

결과: 인터루킨-1β 유전자 다형성은 중증 근무력증 환자군에서 A1/A1 형이 92.5%, A1/A2 형이 7.5%였고 정상인 대조군에서는 각각 93.6%와 6.4%였다. 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자

다형성은 환자에서 A1/A1 형이 81.3%, A1/A2 형이 16.3%, A1/A3 형이 2.5%였다. 정상 대조군에서는 A1/A1, A1/A2, A1/A3, A1/A4, A2/A3 형이 각각 87.2%, 7.4%, 3.2%, 1.1%, 1.1%였다. 환자군과 대조군에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 발병 연령과 아세틸콜린 수용체 항체 양성 여부에 따른 환자 아형에서도 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

결론: 본 연구에서는 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성은 중증 근무력증과 연관이 없었다.

핵심되는 말: 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제, 중증 근무력증

중증 근무력증과 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성

<지도교수 **최영철**>

연세대학교 대학원 의학과

박 지 형

Ⅰ. 서 론

중증 근무력증은 근력 약화와 피로감을 특징으로 하는 자가 면역 질환이다. 신경근 접합부의 아세틸콜린 수용체에 대한 자가 항체가 생성되어 근력 약화를 야기하게 되며, 면역 조절의 이상이나 유전적인 요인들이 중증 근무력증의 발생을 일으키는 요인들로 알려져 있다. 시토카인 (cytokine) 이 면역 조절에 중요한 역할을 담당한다는 사실이 알려지면서 시토카인 유전자 다형성과 중증 근무력증의 연관성에 대한 연구들이 이루어 지고 있다. 최근의 연구에서 인터루킨-1 과 종양괴사인자 등이 질환의 발생과 증상에 있어 중요한 역할을 담당하고 있음이 밝혀지고 있다. [1,2]

시토카인은 강력한 면역 조절 물질로 염증과 면역 반응을 조절하며 세포의 활성화, 분화, 기능에 영향을 준다. 시토카인 유전자 다형성이 시토카인의 분비와 연관이 있으며 면역 질환이나 악성 질환, 이식 관련 부작용등에서 시토카인 유전자 다형성이 임상적 경과와 관련이 있다는 보고가 있었다.[3]

인터루킨-1 은 중요한 염증성 시토카인으로 인터루킨-1α 와 인터루킨-1β 두 개의 작용제가 있다. 인터루킨-1 수용체 길항제는 인터루킨-1α, 인터루킨-1β 를 억제하는 대항제이다.[3] 인터루킨-1 은 염증과 감염이 있을 때 생산되고 여러 종류의 고형 종양, 자가면역 질환 등에서 생산이 증가된다. 인터루킨-1 수용체 길항제는 인터루킨-1α, 인터루킨-1β 의 수용체에 경쟁하여 활성화를 방해하는 항염증성 시토카인으로 인터루킨-1 수용체 길항제의 혈중 농도는 감염이나 염증, 수술 후에 증가하며 패혈증, 외상, 류마티스 관절염, 자가면역 질환 등에서 병의 정도와 상관 관계가 있다. 따라서 인터루킨-1 과 인터루킨-1 수용체 길항제의 균형이 면역 반응에서 정상 상태를 유지하는데 중요한 역할을 담당할 것이라고 생각되며 인터루킨-1 이 과도하게 존재할 경우 여러 기관들에서 감염성 질환이나 자가 면역 질환이 발생할 수 있다.[4] 이들 시토카인의 유전자는 2q14 에 모여있으며 여러 유전자 자리에 다형성을 가진다. 또한 각각의 시토카인 생산의 개체간 차이는 대립유전자의 표현과 관계 있음이 알려졌다.[5]

인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 인트론 2 의 다섯 개의 대립 유전자 다형성은 86-bp 일렬반복의 수 (variable numbers of an 86bp tandem repeat, VNTR)에 따라 결정된다.[6] 개개인에 따라 이 반복의 수가 다르기 때문에 단백질 결합 부위의 수가 달라지게 되고 이를 통해 유전자 다형성이 기능적인 면에도 영향을 주게 된다.[1] 다섯 개의 대립 유전자 중 대립 유전자 2 가 다발성 경화증, 감염성 장질환, 전신성 홍반성 낭창과 관련성이 있다는 연구가 있었다.[7-9] 인터루킨-1β 유전자의 두가지 대립유전자의 다형성은 엑손 5 에 위치하고 있으며 *Taq*I 제한절편길이다형성 (restriction

fragment length polymorphism, RFLP)이라 하는데 인터루킨-1β 단백질의 생산에 영향을 준다.[10] 한국에서는 정상인에서 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성, 위암과 십이지장궤양 환자에서 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성, 부분 간질과 인터루킨-1β 유전자 다형성의 관계, 폐경 여성에서 골밀도와 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성의 연관성에 관한 연구가 있었고 [5,11-13] 서양에서는 중증근무력증과 관련해서 인터루킨-1β *Taq I* 제한절편길이다형성 대립유전자 2 와의 연관성이 보고된 바 있다.[1]

본 연구에서는 정상인과 중증 근무력증 환자에서 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성을 조사하여 중증근무력증과 유전자 다형성이 관련이 있는지 알아보고, 환자의 임상적인 특징들과 유전자 다형성 간에 연관성에 대해서도 알아보았다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

2002 년부터 2003 년 사이에 영동 세브란스 병원에 내원하여 중증 근무력증으로 진단 받은 환자 46 명과 같은 기간에 부산대 병원 신경과에서 진단받은 환자 34 명을 대상으로 하였다. 환자는 임상적 특징과 아세틸콜린 수용체 항체 검사, 신경 생리학적 검사 등에 기반을 두어 진단하였고, 정상인은 같은 기간에 영동 세브란스 병원에서 건강 검진을 받은 환자 중에 중증 근무력증의 과거력이 없으면서 특이 병력이 없는 건강한 남자 44 명과 여자 50 명을 대상으로 하였다.

2. 유전자 다형성의 분석

가. 인터루킨-1β 유전자 다형성의 분석

유전자 다형성의 분석을 위하여 EDTA 용기에 정상인과 중증 근무력증 환자에서 말초 혈액을 채취하여 DNA 를 추출하였으며 5'-GTTGTCATCAGAC TTTGACC-3', 5'-TTCAGTTCATATGGACCAGA-3'의 길잡이(primer)를 이용하 여 인터루킨-1β 유전자의 엑손 5 의 Taq*I* 다형성 부위를 증폭하였다. 조건은 97 도 90 초, 55 도 90 초, 74 도 60 초로 3 회, 그리고 97 도 30 초, 55 도 30 초, 74 도 30 초의 30 회 후에 72 도에 10 분간 연장하였다. Taq*I* 대립유전자 1 은 Taq*I* 제한 효소 처리 후 135bp 와 114bp 로 분리되고, 대립유전자 2 는 나누어 지지 않는다 [1] (Figure 1). 135bp 와 114bp 의 두 개의 밴드가 확인되면 A1/A1 형이고, 135bp, 114bp, 249bp 로 3 개의

1 2 3

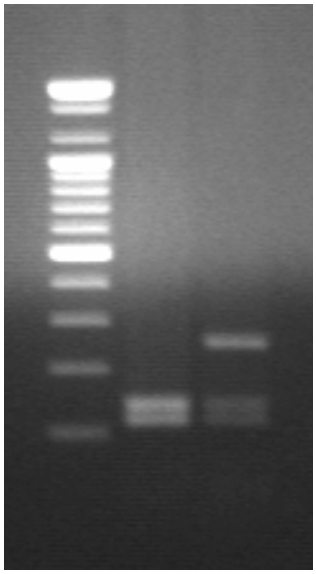


Figure 1. Genotyping of interleukin 1-β polymorphism. Lane 1,100bp sizing ladder; Lane 2, A1/A1; Lane 3, A1/A2 밴드가 확인되면 A1/A2 형, 249bp 한 개의 밴드만 확인되면 A2/A2 형으로 분류하였다.

나. 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성

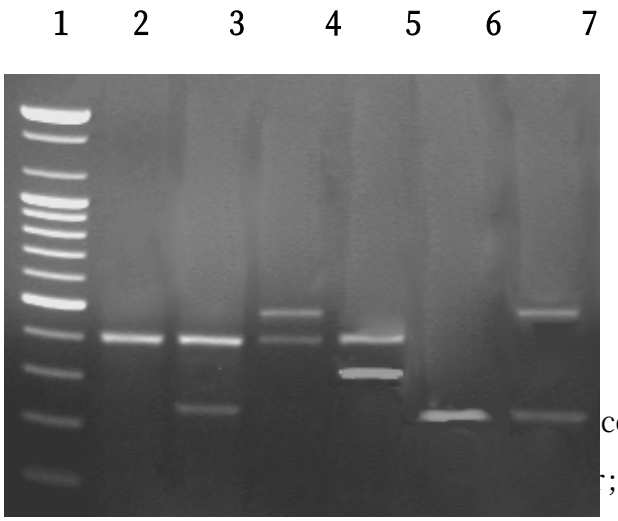
추출한 DNA 를 중합 효소 연쇄 반응으로 인터루킨-1 수용체 길항제 인트론 2 를 5'-CTCAGCAACACTCCTAT-3', 5'-TCCTGGTCTGCAGGTAA-3'의 길잡이를 사용하여 증폭하였다.

중합 효소 연쇄 반응 조건은 96 도에서 1 분간 변성 과정 후에 94 도에서 1 분, 60 도에서 1 분, 70 도에서 2 분을 30 회 그리고 마지막으로 2% 아가로오즈 겔에서 분석하였다. 5 개의 대립유전자로 나누어지며 A1 은 410bp, A2 는 240bp, A3 는 500bp, A4 는 325bp, A5 는 595bp 이다 [6-7](Figure 2). 410bp 한 개의 밴드만 보일 경우

A1/A1 형, 410bp 와 240b 의 두 개의 밴드는 A1/A2 형, 410bp 와 500bp 의 두 개의 밴드는 A1/A3 형, 410bp 와 325bp 의 두 개의 밴드가 보이면 A1/A4 형, 240bp 한 개 밴드만 보일 경우 A2/A2 형, 240bp 와 500bp 두 개가 보일 경우 A2/A3 형으로 분류된다.

3. 자료 분석

정상인과 중증 근무력증 환자에서 유전자 다형성의 결과를 비교하고 통계적으로 유의한 차이가 있는지 알아보았다. 환자를 임상적 특징에 따라 분류하여 유전자 다형성이 통계적으로 유의한 차이가 있는지 살펴보았다. Chi-square test 를 이용하였으며 $p<0.05$ 를 통계학적으로



ceptor antagonist gene r; Lane 2, A1/A1; Lane 3, A1/A2; Lane 4, A1/A3; Lane 5, A1/A4; Lane 6, A2/A2; Lane 7, A2/A3

유의한 경우로 하였다. 증례수가 5 보다 작은 경우에는 Fisher's exact test 로 교정하였다.

III. 연구 결과

1. 환자군의 임상적 특징

총 80 명의 환자의 남녀 비율은 여성이 47 명 (58.8%), 남성이 33 명(41.2%)이었다. 발병 연령은 40 세 이후 발병이 41 명 40 세 이전 발병이 39 명이었다. 아세틸콜린 수용체 결합 항체 양성이 51 명으로 66.2%였다. 흉선 제거를 받은 환자 36 명 가운데 흉선종이 19 명, 흉선증식증이 11 명, 정상이 4 명, 암종(carcinoma)이 2 명이었다 (Table 1).

2. 인터루킨-1β 유전자 다형성의 분포

한국인 정상 대조군에서 A1/A1 형이 88 명, A1/A2 가 6 명으로 각각 93.6%, 6.4%였다. 환자군에서는 A1/A1 형이 74 명, A1/A2 가 6 명으로 각각 92.5%, 7.5%였다. 대립 유전자의 빈도는 A1 이 정상인에서 96.8%, 환자에서 96.3%였다. 정상 대조군과 환자군의 유전자형 빈도에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 2).

3. 환자 아형에 따른 인터루킨-1β 유전자 다형성의 분포

환자군에서 아세틸콜린 결합 수용체 항체 양성 51 명 가운데 A1/A1 형이 49 명, A1/A2 가 2 명이었고 음성군 26 명은 A1/A1 형이 23 명, A1/A2 형이

Table 1. Clinical, immunological and histological features of the myasthenia gravis

	No. of	Percentage(%)

	patient	
Gender(n=80)		
Female	47	58.8
Male	33	41.2
Age of onset(n=80)		
<40	39	48.8
≥40	41	51.3
Serum AchR binding Antibody(n=77)		
Positive	51	66.2
Negative	26	33.8
Thymic histology(n=36)		
Thymoma	19	52.8
Hyperplasia	11	30.6
Normal	4	11.1
Carcinoma	2	5.6

AchR: acetylcholine receptor

Table 2. IL-1β Taq*I* RFLP in patients with myasthenia gravis and controls

	Control (n=94)	Patient (n=80)
Genotype frequencies†		
A1/A1	88(93.6)	74(92.5)
A1/A2	6(6.4)	6(7.5)

Allelic frequencies		
A1	182(96.8)	154(96.3)
A2	6(3.2)	6(3.7)

† p =0.774

IL-1β: Interleukin-1β, RFLP: restriction fragment length polymorphism

3 명으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.
발병 연령에 따른 분류에서도 A1/A1 형이 40 세 이전 발병 39 명 가운데 92.3%, 40 세 이후 발병 41 명 가운데 92.7%로 거의 비슷한 분포를 보였다 (Table 3).

4. 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성

환자군 80 명 가운데 A1/A1 형이 64 명, A1/A2 형이 14 명, A1/A3 형이 2 명이었고 정상 대조군에서는 A1/A1 형이 82 명, A1/A2 형이 7 명, A1/A3 형이 3 명, A1/A4 형이 1 명, A2/A3 명이 1 명이었다 (Table 4). 환자군에서 A1/A2 군의 비율이 다소 높았으나 두 군에서 유전자 형과 대립 유전자의 분포에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

5. 환자 아형에 따른 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성

아세틸콜린 결합수용체가 양성인 환자 51 명에서 A1/A1 형이 45 명, A1/A2 형이 6 명이었고 음성군 26 명에서는 A1/A1 형이 17 명, A1/A2 형이 7 명, A1/A3 형이 2 명이었다. 수용체 양성군에서 A1/A1 형이 86.3% 음성군에서는 65.4%로 빈도에서 차이를 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 수용체 음성군과 정상 대조군의

유전자형을 비교했을 때에도 A1/A1, A1/A2 형의 빈도에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

발병 연령에 따른 분류에서도 40 세 이전 발병과 40 세 이후 발병에서 유전자형이나 대립 유전자 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 5).

Table 3. IL-1β TaqI RFLP in clinical group of myasthenia gravis

	Ach receptor binding antibody		Onset age	
	Positive (n=51)	Negative (n=26)	<40 (n=39)	≥40 (n=41)
Genotype frequencies				
A1/A1	49(96.1)	23(88.5)†	36(92.3)	38(92.7)
A1/A2	2(3.9)	3(11.5)	3(7.7)	3(7.3)
Allelic frequencies				
A1	100(98.0)	49(94.1)	75(96.2)	79(96.3)
A2	2(2.0)	3(5.9)	3(3.8)	3(3.7)

† p =0.329

IL-1β: Interleukin-1β, RFLP: restriction fragment length polymorphism, Ach: acetylcholine

Table 4. IL-1Ra VNTR polymorphism in patients with myasthenia gravis and controls

	Control(n=94)	Patient(n=80)
Genotype frequencies†		
A1/A1	82(87.2)	65(81.3)
A1/A2	7(7.4)	13(16.3)
A1/A3	3(3.2)	2(2.5)
A1/A4	1(1.1)	0(0)
A2/A3	1(1.1)	0(0)
Allelic frequencies‡		
A1	175(93.1)	145(90.6)
A2	8(4.3)	13(8.1)
A3	4(2.1)	2(1.3)
A4	1(0.5)	0(0)

†p =0.151, ‡p =0.219

IL-1Ra: interleukin-1 receptor antagonist, VNTR: variable numbers of an 86-bp tandem repeat

Table 5. IL-1Ra VNTR polymorphism in clinical group of myasthenia gravis

	Ach receptor binding antibody		Onset age	
	positive (n=51)	negative (n=26)	<40 (n=39)	≥40 (n=41)
Genotype frequencies				
A1/A1	45(88.2)	17(65.4)†	32(82.1)	33(80.5)*
A1/A2	6(11.8)	7(26.9)	5(12.8)	8(19.5)
A1/A3	0(0)	2(7.7)	2(5.1)	0(0)
Allelic frequencies				
A1	96(94.1)	43(82.7)‡	71(91.0)	74(90.2)§
A2	6(5.9)	7(13.5)	5(6.4)	8(9.8)
A3	0(0)	2(3.8)	2(2.6)	0(0)

† p =0.100, ‡ p =0.153

* p =0.339, § p =0.309

IL-1Ra: interleukin-1 receptor antagonist, VNTR: variable numbers of an 86-bp tandem repeat

Ⅳ. 고찰

중증 근무력증은 자가 면역 질환으로 여러 유전적 요인들이 발병 원인의 하나로 생각되고 있다.[1] 시토카인은 인체에서 조혈, 면역, 감염 등을 조절하는 중요한 단백질로 인터루킨이나 종양괴사인자(tumor necrosis factor), 집락자극인자(colony-stimulating factor) 등 매우 다양한 종류들이 있다. 그 가운데 염증반응에 중요한 시토카인으로 인터루킨-1, 인터루킨-1 수용체 길항제, 인터루킨-6, 인터루킨-10, 종양괴사인자 등이 있는데 그들은 염증성 시토카인과 항염증성 시토카인으로 나눌 수 있다.[14] 시토카인이 염증 반응을 과도한 경우 부작용으로 자가 면역 질환을 야기할 수 있으며, 본 연구에서는 그 가운데 인터루킨-1β 와 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성을 중증 근무력증 환자에서 분석하였다.

한국인 정상 대조군 94 명과 중증 근무력증 환자 80 명를 대상으로 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성을 조사하였다. 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성 분포가 서양인의 경우와 차이가 있었으나 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자형의 빈도는 이전에 보고된 한국인 정상인의 분포와 별 차이는 없었다.[1,5] 인터루킨-1β 의 경우 같은 동양인인 일본인과는 비슷한 분포를 보였으나[15] 같은 위치의 유전자 다형성을 국내에서 보고한 것이 없어 비교하지 못하였다. 환자군과 정상군에서 인터루킨-1β 유전자형의 분포와 환자의 아형에 따른 분포 모두 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

인터루킨-1 은 염증성 시토카인으로 그 역할에 대해서는 많은

연구가 있었다. 인터루킨-1 은 거의 모든 세포에 영향을 끼치는 강력한 염증성 시토카인으로 면역 반응을 활성화시키므로, 과도한 인터루킨-1 의 존재는 오히려 자가면역 질환을 야기할 수 있다. 인터루킨-1 수용체 길항제는 구조적으로 인터루킨-1α, 인터루킨-1ß 와 비슷하여 인터루킨-1 수용체에 경쟁적으로 결합하여 인터루킨-1 을 억제하는 항염증성 시토카인이다.[15] 따라서 인터루킨-1 수용체 길항제는 인터루킨-1 으로 야기되는 질환에서 이를 막는데 중요한 역할을 담당할 것으로 생각되고 류마치스 관절염이나 패혈성 쇽(septic shock)등에서 치료에 사용하려는 시도들이 이루어 지고 있다.[16] 본 연구에서 분석한 인트론 2 에 있는 86bp 순서가 전사 인자 (transcription factor)와 연관된 단백질 결합 위치를 포함하고 있기 때문에 이 유전자 다형성이 중요성을 가질 것이라고 추정할 수 있다. 또 최근 연구에서는 시험관에서(in vitro) 인터루킨-1 수용체 길항제의 A2 가 인터루킨-1β의 생산을 증가시킨다는 사실이 알려져 인터루킨-1 수용체 길항제의 A2 와 감염성 질환의 관련 가능성을 뒷받침하고 있다.[17]

인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성 가운데 대립유전자 1 과 2 가 일반인에서 제일 빈도가 많고 나머지 대립유전자들은 흔하지 않은데, 외국의 경우 전신성 홍반성 루푸스, 강직성 척추염, Sjogren's syndrome 에서 이 대립유전자를 가지고 있는 경우가 더 많다는 연구가 있었다.[9,18,19] 강직성 척수염 환자와 대조군 모두에서 대립 유전자 2 을 가진 경우에 인터루킨-1 수용체 길항제의 농도가 더 높아, 대립 유전자 2 와 인터루킨-1 수용체 길항제 생산간에 밀접한 관계가 있음을 시사하고 있다.대립 유전자 2 를 가지고 있는 경우 인터루킨-1 수용체 길항제 생산이 증가되고, 인터루킨-1

수용체 길항제가 인터루킨-1 의 수용체를 통한 신호 전달에 영향을 주어 질병 발병과 연관이 있을 것으로 추정하 는 의견도 있다.[18] 염증과 관련된 질환에서, 항염증 시토카인인 인터루킨-1 수용체 길항제 생산을 증가시키는 대립유전자 2 의 빈도가 더 높은 것은 다소 역설적인 면이 있으나 이유는 아직 정확히 알려지지 않았다. Sjogren's syndrome 경우 인터루킨-1 수용체 길항제 대립유전자 2 는 질환의 심한 정도와 연관이 있었다. [19] 또한 이 환자군에서 혈청 내 인터루킨-1 수용체 길항제 농도는 증가한 반면 타액에서는 농도가 감소하여, 인터루킨-1 수용체 길항제가 신체 구역에 따라 상반된 기전으로 작용하지 않을까 추정하게 하고, 인터루킨-1 수용체 길항제가 염증 질환에서 생산 증가를 보이는 역설을 설명할 수 있는 가능성을 제시하고 있다.[19] 우리나라에서는 류마치스 관절염과 신부전을 가진 2 형 당뇨에서 인터루킨-1 수용체 길항제 대립유전자 2 와의 연관성이 보고된바 있다.[20-21] 외국의 경우와 달리 전신성 홍반성 루푸스는 대립유전자 2 와 연관성이 없는 결과를 보여 이 역시 인종간의 차이와 관련되어 있을 것으로 추정한다.[20] 본 연구에서는 통계적으로 유의하지는 않았지만 역시 대립 유전자 2 의 빈도가 정상인에서 4.3% 비해 중증 근무력증 환자에서 8.1%로 더 높은 경향을 보였다. 또한 환자 아형에 따른 분류에서도 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 아세틸콜린 결합수용체 항체 음성군에서 A1/A1 형이 65.4%로, 양성군에서 88.2%나 정상 대조군에 87.2%보다 낮았다. 수용체 음성군의 숫자가 26 명으로 작았기 때문에 수용체 음성군의 보다 많은 증례를 통한 연구가 필요할 것으로 생각하였다.

인터루킨-1β 의 경우 스웨덴인에서 중증 근무력증 환자에서

인터루킨-1β TaqI 대립유전자 2 의 빈도가 높다는 연구가 있었다.[1] 시험관에서 대립 유전자 2 가 인터루킨-1β 를 많이 분비하는 표현형으로 알려져 있고 인터루킨-1β은 다양한 면역 조절 기능을 가진 시토카인이므로 증가된 인터루킨-1β이 면역 반응의 이상을 야기하여 중증 근무력증의 발병에 직접적인 역할을 하는 것이라고 생각된다.[1,22] 그러나 본 연구에서는 환자군과 대조군의 대립유전자 빈도가 거의 비슷하여, 이는 인종간의 유전자 다형성의 차이가 관여하는 것으로 추측할 수 있고 향후 각 인종을 대상으로 한 대규모의 연구가 필요할 것으로 생각된다.그 외에도 중증 근무력증 환자에서 흉선 과형성(hyperplasia) 환자에서 인터루킨 IL-1ß 의 표현이 증가된다는 보고가 있어, [23] 대립 유전자 2 와의 연관이 있을 것이라고 추정되나 본 연구에서는 흉선 제거술을 받은 환자의 수가 작아 이를 분석하지 못하였다. 따라서 추후에는 흉선 제거술을 충분한 수의 중증 근무력증 환자를 대상으로 연구가 필요할 것이다.

본 연구에서는 한국인 중증 근무력증 환자와 정상인에서 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제 유전자 다형성에 있어서 통계적으로 유의한 차이를 확인치 못하였다. 외국에서 중증 근무력증과 연관성이 보고된바 있는 종양괴사인자나 인터루킨-1α 등의 다른 시토카인에 관한 연구들도 추후에 필요할 것으로 생각되며, 이를 통해 중증 근무력증의 병인론에 대한 좀 더 나은 이해와 함께 새로운 치료 전략에도 도움을 줄 수 있으리라 생각된다.[2,24]

Ⅴ. 결론

본 연구에서는 한국인에서 인터루킨-1β, 인터루킨-1 수용체 길항제의 유전자 다형성이 중증 근무력증 발병과 연관이 있는지 알아보았다. 중증 근무력증 환자 80 명과 정상 대조군 94 명을 대상으로 하여, 인터루킨-1β 엑손 5 의 Taq*I* 제한절편길이다형성과 인터루킨-1 수용체 길항제 인트론 2 의 86-bp 일렬반복의 수 유전자 다형성을 분석하였는데 통계적으로 유의한 차이를 확인치 못하였다. 그러나 인터루킨-1 수용체 길항제의 경우 A1/A2 형의 빈도가 증증 근무력증 환자군에서 대조군보다 2 배이상 높은 결과를 보여 많은 더 환자를 대상으로 한 분석이 추후에 필요할 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Huang D, Pirskanen R, Hjelmstrom P, Lefvert AK. Polymorphisms in IL-1 β and IL-1 receptor antagonist genes are associated with myasthenia gravis. J Neruroimmunol 1998;81:76-81.

2. Sciacca FS, Ferri C,Veglia F, Andreetta F, Mantegazza R, Cornelio F, et al. IL-1 genes in myasthenia gravis: IL-1A –889 polymorphsim associated with sex and age of disease onset. J Neuroimmunol 2002;12:94-99.

3. Dirnarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood 1996;87:2095-2147.

4. Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. Cytokine Growth Factor Rev 2002;13:323-340.

5. Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Choi HB, Hong YS, Kim DW, et al. Polymorphisms of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-10, and IFN-γ Genes in the Korean population. Human Immuno 2003;64:979-989.

6. Tarlow JK, Blakemore AIF, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. Human Genet 1993;91:403-404.

7. Crusius JB, Pena AS, Van Oosten BW, Bioque G, Garcia A, Dijkstra CD, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and multiple sclerosis. Lancet 1995;346:979.

8. Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK, Di Giovine FS, McDowell

TL, Wilson AG, et al. Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. Gastroenterology 1994;106:637-642.

9. Tjernstrom F, Hellmer G, Nived O, Truedsson L, Sturfelt G. Synergetic effect between interleukin-1 receptor antagonist allele (IL1RN*2) and MHC class II (DR17,DQ2) in determining susceptibility to systemic lupus erythematosus. Lupus 1999;8:103-108.

10.Bioque G, Crusius JB, Koutroubakis I, Bouma G, Kostense PJ, Meuwissen SG, et al. Allelic polymorphism in IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease.
Clin Exp Immunol 1995;102:379-383.

11. Han KO, Choi JT, Moon IG, Jeong MS, Yim CH, Chung HY, et al. Nonassociation of interleukin-1 receptor antagonist genotypes with bone mineral density, bone turnover status, and estrogen responsiveness in Korean postmenoposal women. Bone 2002;31:612-615.

12. Lee SG, Kim BS, Choi WY, Lee IC, Choi JW, Song KY. Lack of association between pro-inflammatory genotypes of the interleukin-1(IL-1B-31C/+ and IL-1RN*2/*2) and gastric cancer/duodenal ulcer in Korean population. Cytokine 2003;21:167-171.

13. 이웅, 김민아, 김상진, 김성은. Interleukin-1β 유전자

다형성과 부분 간질과의 관계. 대한신경과학회지 2003;21:473-478.
14. Hurme M, Lahdenpohja N, Santtila S. Gene polymorphisms of interleukins 1 and 10 in infectious and autoimmune diseases. Ann Med 1998;30:469-473.
15. Shimpuku H, Nosaka Y, Kawamura T, Tachi Y, Shinohara M, Ohura K. Genetic polymorphisms of the interleukin-1 gene and early marginal bone loss around endosseous dental implants. Clin Oral Implants Res 2003;14:423-429.
16. Arend WP, Gabay C. Physiologic role of interleukin-1 receptor antagonist. Arthritis Res 2000;2:245-248.
17. Santtila S, Savinainen K, Hurme M. Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. Scand J Immunol 1998;47;195-198.
18. McGarry F, Neilly J, Anderson N, Sturrock R, Field M. A polymorphism within the interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene is associated with ankylosing spondylitis. Rheumatology 2001;40:1359-1364.
19. Perrier S, Coussediere C, Dubost JJ, Albuisson E, Sauvezie B. IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) gene polymorphism in Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. Clin Immunopathol 1998;87:309-313.
20. Lee YH, Kim HJ, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GS. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and rheumatoid arthritis.. Rheumatol Int 2004 ;24:133-136.
21. Lee SH, Ihm CG, Sohn SD, Lee TW, Kim MJ, Koh G, et al.

Polymorphism in interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist genes are associated with kidney failure in Korean patients with type 2 diabetes mellitus. Am J Nephrol 2004;24:410-414.

22. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. Eur J Clin Invest 1992;22:396-402.

23. Emilie D, Crevon MC, Cohen-kaminsky S, Peuchnaur M, Devergne O, Berrih-Aknin S, et al. In situ production of interleukins in hyperplasitc thymus from myasthenia gravis patients. Hum Pathol 1991;22:461-468

24. Hjelmstrom P, Peacock CS, Giscombe R, Pirskanen R, Lefvert AK, Blackwell JM, et al. Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with myasthenia gravis. J Neuroimmunol 1998;88:137-143.

Abstract

IL-1β and IL-1 receptor antagonist genes polymorphisms in myasthenia gravis

Ji Hyung Park

Department of Medicine

The graduate School, Yonsei University

(Directed by professor Young-Chul Choi)

Objectives : Myasthenia gravis(MG) is an autoimmune disorder characterized by an immune response against the nicotinic acetylcholine receptor at the neuromuscular junction. Genetic factors as well as abnormalities of immune regulation can increase the likelihood of MG. Proinflammatory cytokines interleukin (IL)-1α, IL-1β, and their receptor antagonist (IL-1Ra) play major roles in initiating and modulating immune responses. The aim of the present study was to analyze IL-1β and IL-1 Ra gene polymorphism in patients with MG in compared to the healthy controls.

Methods : The Taq*I* restriction fragment polymorphism (RFLP) in exon 5 of IL-1β, and variable numbers of an 86-bp tandem repeat (VNTR) in intron 2 of IL-1Ra, were analyzed in 80 patients with MG and 94 matched healthy controls. Results : In IL-1β Taq*I* RFLP, the genotypes of A1/A1 and A1/A2 were 92.5% and 7.5% in patients with MG. In healthy controls, the frequencies of each genotype-were 93.6%

and 6.4% respectively. In IL-1Ra polymorphism, the genotypes of A1/A1, A1/A2 and A1/A3 were 81.3%, 16.3%, and 2.5% in patients with MG. In healthy controls, the frequencies of each genotype were 87.2%, 7.4% and 3.2% respectively. There was no significant difference in the genotype frequencies of IL-1β Taq*I* RFLP and IL-1Ra polymorphism between patients and control group.

Conclusions : These data suggested that the IL-1β and IL-1Ra polymorphism may not be associated with MG. However, further study is needed to clarify the possible role of IL-1β and IL-1Ra polymorphism in the susceptibility to develop myasthenia gravis.

KeyWords: IL-1β, IL-1 receptor antagonist, myasthenia gravis