

Leukotriene C₄ Synthase 유전자 Promoter 부위 유전적 다형과 아스피린 과민성 천식의 연관성

서울대학교 의과대학 내과학교실¹, 서울대학교 의학연구원 알레르기 및 임상면역연구소², 한림대학교 의과대학 내과학교실³, 분당서울대학교병원 내과⁴, DNA Link⁵

김상현^{1,2}·박흥우^{1,2}·손성욱^{1,2}·이상민^{1,2}·오선영²·김선신^{1,2}·반준우³·장윤석^{1,2,4}·신은순⁵·이종은⁵
김윤근^{1,2}·조상현^{1,2}·민경업^{1,2}·김유영^{1,2}

Association of Polymorphism in the Promoter Area of Leukotriene C₄ Synthase Gene with Aspirin-Intolerant Asthma

Sang-Heon Kim^{1,2}, Heung-Woo Park^{1,2}, Seong-Wook Sohn^{1,2}, Sang-Min Lee^{1,2}, Sun-Young Oh², Sun-Sin Kim^{1,2}, Joon-Woo Bahn³, Yoon-Seok Chang^{1,2,4}, Eun-Soon Shin⁵, Jong-Eun Lee⁵, Yoon-Keun Kim^{1,2}, Sang-Heon Cho^{1,2}, Kyung-Up Min^{1,2} and You-Young Kim^{1,2}

¹Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, ²Institute of Allergy and Clinical Immunology, Seoul National University Medical Research Center, Seoul, ³Department of Internal Medicine, Hallym University College of Medicine, Anyang, ⁴Department of Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, ⁵DNA Link, Inc., Seoul, Korea

Background: The 5-lipoxygenase, 5-lipoxygenase associated protein and leukotriene C₄ (LTC₄) synthase are enzymes involved in the synthesis of cysteinyl leukotrienes which are known to be important lipid mediators for the development of aspirin-intolerant asthma (AIA). Several studies have evaluated genetic association between polymorphisms of these enzymes and AIA, reporting inconsistent results.

Objective: To evaluate the genetic effect of polymorphisms of promoter areas of *ALOX5*, *ALOX5AP* and *LTC4S* genes in the development of AIA.

Method: Polymorphisms in promoter areas of *ALOX5* (-1761G > A, -1708G > A), *ALOX5AP* (21A/18A repeat) and *LTC4S* (-444A > C) were genotyped in patients with AIA (n=44), aspirin-tolerant asthma (ATA, n=104), and healthy-

normal controls (NC, n=107).

Result: The frequency of *LTC4S* -444 AC or CC alleles was significantly lower in AIA patients than in ATA patients (19.0% vs. 36.5%, *P*=0.005, OR=0.23, 95%CI 0.08~0.64). However, the frequency of these genotypes was not different between AIA and NC (19.0% vs. 24.8%, *P*=0.458). As to *LOX5* -1761G > A, -1708G > A, and *ALOX5AP* 21A/18A repeat, the frequency of these genotypes was not different between AIA and ATA patients and between AIA and NC.

Conclusion: A significant association was found between *LTC4S* -444A > C and the frequency of AIA. This finding suggests that LTC₄ synthase may be involved in the development of AIA in the Korean population. (*Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2006;26:115-121)

Key words: *ALOX5*, *ALOX5AP*, *LTC4S*, Asthma, Aspirin-intolerant asthma

서 론

전체 성인 천식 환자의 5~10%가 아스피린에 예민한 반응을 보이는 아스피린 과민성 천식(aspirin-intolerant asthma)으로 알려져 있는데, 이는 아스피린이나 비스테로이드성 소염제에 노출 후 호흡곤란, 천명 등의 천식증상이 급격히

악화되는 특징이 있다.¹⁾ 현재까지 아스피린 과민성의 발생 기전은 두 가지 이론으로 설명되고 있는데, 하나는 아스피린에 의해 cyclooxygenase (COX) 경로가 억제되면 아라키돈산 대사가 5-lipoxygenase (5-LO) 경로로 우회하여 5-LO 지질 대사체가 증가하여 기도수축을 유도하게 된다는 가설로서 이에는 leukotriene B₄ (LTB₄)와 LTC₄/D₄/E₄ (cysteinyl leukotrienes, cysLT)가 중요한 역할을 담당하게 된다. 다른 하나는 아스피린이 COX 경로를 차단하여 기도수축을 억제하는 COX 대사체의 생성이 억제되어 기도수축이 악화된다는 가설로서, 이에 중요한 대사체로 prostaglandin E₂ (PGE₂)가 중요하다고 알려져 있다.²⁾ 아스피린 과민성 천식 환자는 아스피린 내성 천식 환자에 비하여 cysLT의 생성이 증가되어 있고, 아스피린에 의한 cysLT의 생성에 더욱 예민하다고 알려져 있어

본 연구는 보건 의료 기술진흥사업(03-PJ01-PJ13-GD01-0002), 서울대학교 병원(04-2001-014-0)의 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

책임저자 : 조상현, 서울시 종로구 연건동 28

서울대학교병원 알레르기내과, 우: 110-744

Tel: 02) 2072-2971, Fax: 02) 742-2912

E-mail: shcho@plaza.snu.ac.kr

접수: 2006년 3월 2일, 통과: 2006년 4월 23일

cysLT의 생성에 관여하는 유전자의 변이가 아스피린 과민성 천식의 유전적인 소인에 관여할 것으로 관심을 모았다.

아라키돈산에서 cysLT 합성의 첫 대사에 관여하는 5-LO (유전자명 *ALOX5*) promoter 부위의 Sp1 tandem repeat 유전자 다형은 아스피린 과민성 천식의 빈도와는 연관성이 없었으나 아스피린 과민성 천식 환자에서 기도과민성의 정도에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.³⁻⁶⁾ 또한 promoter의 -1708G>A, 21C>T, 270G>A, 1728A>G는 아스피린 과민성 천식과 개별적인 연관성은 없었지만 이들의 일배체형이 연관성을 보이고 있어 *ALOX5*의 유전적 다형이 아스피린 과민성 천식의 발생에 영향은 크지 않거나 인종간의 차이가 있음을 보여주고 있다.⁷⁾ 5-lipoxygenase associated protein (FLAP)은 아라키돈산을 5-LO에 제공하여 5-LO의 작용을 도와 cysLT의 합성에 관여한다. FLAP 유전자(*ALOX5AP*) promoter 영역의 poly (A) 부위의 유전적 다형과 천식의 연관성 역시 인종에 따른 차이가 보고되고 있으나, 아스피린 과민성 천식의 발생과는 연관성이 없었다.^{4,8,9)} LTC₄의 합성에 직접 관여하는 LTC₄ synthase의 유전자인 *LTC4S*의 promoter에 위치한 -444A>C 유전자다형은 천식의 발생에는 연관성이 없었지만 천식환자에서 FEV₁의 저하와 연관성이 관찰되었다.¹⁰⁾ 또한 폴란드인을 대상으로 한 연구에서 아스피린 과민성 천식의 발생과 연관성이 있다고 보고되었지만, 우리나라, 일본, 미국, 호주 등 다른 인종을 대상으로 한 후속 보고에서는 이러한 결과가 관찰되지 않았다.^{6,7,11-16)}

이처럼 cysLT 생성에 관여하는 효소들의 유전적 변이가 천식 및 아스피린 과민성 천식의 발생에 미치는 영향에 대한 보고는 많지 않으며 또한 인종 간의 차이 등 대상 환자의 특성에 따라 다른 결과를 보이는 등 일관된 연관성을 보이고 있지 않다. 이 연구에서는 cysLT의 합성에 관여하는 효소들의 유전적 변이가 한국인에서 아스피린 과민성 천식의 발생에 영향을 미치는지 확인하기 위하여, 아스피린 과민성 천식 환자, 아스피린 내성 천식 환자와 정상 대조군에서 *ALOX5*, *ALOX5AP*, *LTC4S*의 발현에 관여하는 promoter 영역 유전적 변이의 유전형 빈도를 비교하였다.

대상 및 방법

1. 대상환자

서울대학교병원과 분당서울대학교병원 알레르기내과 외래를 방문한 환자에서 아스피린 과민성 천식(n=44)과 아스피린 내성 천식(n=104)으로 진단받은 환자와 정상 대조군(n=107)을 대상으로 하였다. 기침, 천명 및 호흡곤란 등의 전형적인 천식 증상과 함께 속효성 기관지 확장제 사용

후 1초간 강제호기유속 (FEV₁) 측정값이 12% 이상 증가하거나 메타콜린 기관지유발 시험상 PC20값이 25 mg/ml 이하인 경우에 천식으로 진단하였다. 방문 당시 환자의 주간 및 야간 증상과 측정된 FEV₁의 예측 값에 대한 백분율을 바탕으로 하여 GINA (Global Initiative for asthma) 천식 진료지침의 기준에 따라 중증도를 분류하였고, 천식의 중증도가 경증 및 중등증인 경우를 대상으로 하였다. 이 연구는 서울대학교병원 의학연구윤리심의위원회의 승인을 받았으며, 참여하는 환자로부터 고지된 승락을 얻어 시행하였다.

2. 표현형

천식으로 진단받은 환자에서 이전에 보고한 방법에 따라 lysine-aspirin 흡입유발시험을 시행하였고, 양성인 경우에 아스피린 과민성 천식으로 진단하였다.¹⁷⁾ 또한 병력청취를 통해 천식의 유병기간과 비염증상을 확인하였고, 말초혈액 호산구 수, 혈청 총 IgE를 측정하였으며, 비용종의 확인을 위하여 비내시경 검사를 시행하였다. 흔한 흡입성 항원 55종에 대한 피부단자시험을 시행하여 팽진의 직경이 3 mm 이상이면서 히스타민에 의한 팽진의 직경보다 크거나 같은 경우에 양성반응으로 판정하였고, 하나 이상에 양성반응을 보인 경우 아토피로 정의하였다. 정상 대조군은 천식 증상이 없고 폐기능 검사에서 FEV₁이 예측치의 80% 이상이며 메타콜린에 대한 기도과민성이 없는 경우(PC20>25 mg/ml)로 제한하였다.

3. 아스피린 유발시험

현재 복용 중인 천식 치료약물이 있는 경우 검사 2일 전부터 투약을 중단하고 검사를 시행하도록 하였다. 검사 당일 먼저 0.9% saline을 nebulizer와 dosimeter를 사용하여 0.8초, 20 psi 조건에서 5회 흡입시킨 후 10분 간격으로 30분 동안 FEV₁을 측정하였고, 흡입 전 FEV₁ 값의 10% 이상 감소된 경우에는 검사를 중단하였다. 다음으로 lysine-aspirin (Arthalgyl®, 일양약품, 한국)을 0.9% saline에 희석하여 45, 90, 180, 360 mg/ml의 용액을 준비하고 낮은 농도부터 한 단계씩 높은 농도로 흡입 유발시험을 진행하였다. 각 농도에서 nebulizer와 dosimeter를 이용하여 흡입시간 0.8초, 20 psi, 5회 흡입하도록 하였고, 각 농도의 용액을 흡입한 후 10분마다 FEV₁을 측정하면서 30분간 관찰하였다. 측정된 FEV₁이 기저치의 20% 이상 감소하는 경우에 검사를 중단하고 양성 반응으로 평가하였다.

4. 유전형

연구대상자의 말초혈액에서 Wizard Genomic DNA Purifi-

cation Kit (Promega Co., WI, USA)를 사용하여 DNA 300μL를 추출하였다. ALOX5 유전자에서 -1761과 -1708 부위를 포함하는 유전자부위를 PCR법으로 증폭한 후 single base extension (SBE) 방법으로 유전형을 분석하였다. 우선 PCR 반응에 이용할 primer를 Oligo Primer Analysis Software (Molecular Biology Insights, Inc., MN, USA)로 디자인하였다. 사용한 primer는 upstream 5'-AAA GAA CAG CGT TGG TGG AT-3'과 downstream 5'-CAA ATT CAT TGT GTT GCA TGT G-3'였다. PCR 반응은 추출한 DNA (50 ng/μL) 3μL와 각각 10 pmole의 primer 1μL, 2.5 mM dNTP 혼합액 4μL, MgCl₂가 들어있는 10X buffer 5μL, Taq polymerase 2.5 unit (Boehringer Mannheim, GmbH, Mannheim, Germany), 증류수를 혼합하여 총 50μL로 하였다. 95°C에서 5분간 denaturation 시킨 후, 95°C 30초, 51°C 30초, 72°C 30초로 35회 반응시켰고, 마지막 extension은 72°C에서 5분간 시행하였다. 크기가 255 bp인 PCR 산물을 ethidium bromide가 포함되어 있는 2% agarose gel에서 확인하였다. PCR산물은 QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN Inc., CA, USA)로 정제하였고, SBE용 primer (5'-CAA TTT CAA AAC TTA CTA TA-3')를 사용하여 유전형을 분석하였다.

ALOX5AP promoter 부위의 유전형 분석을 위해 A가 반복되는 부위를 포함하는 유전자부위를 PCR법으로 증폭한 후 SSCP 방법으로 유전형을 구별한 후, 무작위로 고른 검체에 대한 direct sequencing을 실시하여 그 유전형을 분석하였다. 우선 PCR 반응에 이용할 primer를 Oligo Primer Analysis Software로 디자인하였다. A가 반복되는 부위를 포함하는 유전자부위는 upstream primer 5'-CGT GCT CCT CTG CCA AGC CCT GCT TC-3'과 downstream primer 5'-GCT CTG CCT CCA GCT GCA CAA CCT G-3'를 이용하여 증폭하였다. PCR 반응은 추출한 DNA (50 ng/μL) 3μL와 각각 10 pmole의 primer 1μL, 2.5 mM dNTP 혼합액 4μL, MgCl₂가 들어있는 10X buffer 5μL, Taq polymerase 2.5 unit 증류수를 혼합하여 총 50 μL로 하였다. 95°C에서 5분간 denaturation 시킨 후, 95°C 40초, 58°C 40초, 72°C 40초로 40회 반응시켰고, 마지막 extension은 72°C에서 5분간 시행하였다. 크기가 216 bp인 PCR 산물을 ethidium bromide가 포함되어 있는 2% agarose gel에서 확인하였다. PCR산물은 SSCP를 이용하여 서로 다른 돌연변이형을 구별하였고, 무작위 추출된 검체를 사용한 direct sequencing을 통해 유전자형을 결정하였다.

LTC4S 유전자의 -444를 포함하는 유전자부위를 PCR법으로 증폭한 후 SBE 방법으로 유전형을 분석하였다. 우선 PCR 반응에 이용할 primer를 Oligo Primer Analysis Software로 디자인하였다. 원하는 유전자부위를 증폭시키기 위해 사용된 primer는 upstream 5'-TGC ATG GAA CCC CTA CAA CGA CTA AG-3'과 downstream 5'-GCC AAG CCA GCA GGG AGG

AAA CCA AA-3'였다. PCR 반응은 추출한 DNA(50 ng/μL) 3 μL와 각각 10 pmole의 primer 1μL, 2.5 mM dNTP 혼합액 4μL, MgCl₂가 들어있는 10X buffer 5μL, Taq polymerase 2.5 unit, 증류수를 혼합하여 총 50μL로 하였다. 95°C에서 5분간 denaturation 시킨 후, 95°C 30초, 60°C 1분, 72°C 30초로 30회 반응시켰고, 마지막 extension은 72°C에서 5분간 시행하였다. 크기가 447 bp인 PCR 산물을 ethidium bromide가 포함되어 있는 2% agarose gel에서 확인하였다. PCR산물은 QIAquick PCR Purification Kit로 정제하였고, SBE용 primer (5'-CAG GAA CAG CCT GGA TAG GGA C-3')를 사용하여 유전형을 분석하였다.

5. 통계분석

아스피린 과민성 천식 환자와 아스피린 내성 천식 환자의 임상적인 지표들은 명목변수인 경우 chi-square test를 통하여 빈도를, 연속변수인 경우에는 student t-test를 통하여 평균값을 비교하였다. 각 유전자다형에 대하여 chi-square test를 통하여 Hardy-Weinberg equilibrium을 평가하였다. 각 집단에서 유전형의 빈도는 dominant model, recessive model, co-dominant model을 적용하여 chi-square test를 통하여 비교하였고, 또한 변이를 보이는 대립유전자의 빈도를 비교하였다. 특히 아스피린 과민성 천식과 아스피린 내성 천식 환자군 사이의 비교는 성별과 연령을 독립변수로 하여 logistic regression analysis를 시행하여 평가하였다. ALOX5 promoter 두 SNP으로부터 expectation-maximization algorithm을 통하여 각 일배체형의 빈도를 추론하였고 각 집단 사이의 일배체형 유전형의 빈도를 개별 SNP의 경우와 같이 비교하였다. 통계분석은 SPSS 11.0/Windows (SPSS Inc., IL, USA)을 사용하여 실행하였고, P값이 0.05 이하인 경우에 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 대상 환자의 임상적 특성

대상 천식 환자들의 임상적 특성은 Table 1에 나타내었다. 아스피린 과민성 천식 환자는 아스피린 내성 천식 환자에 비하여 남성 환자가 유의하게 적었으며(31.8% vs. 51.3%, $P < 0.001$), 비용중의 동반율은 높았다(28.6% vs. 4.2%, $P = 0.039$). 그 외 연령, 천식 유병기간, FEV₁ %, PC20, 아토피, 혈청 총 IgE, 말초혈액 호산구 수에서는 차이가 없었다.

2. ALOX5, ALOX5AP 유전적 변이와 아스피린 과민성 천식의 연관성

후보 유전자(ALOX5, ALOX5AP, LTC4S) promoter 부위의

유전적 변이(*ALOX5* -1761G>A, -1708G>A, *ALOX5AP* poly (A) repeat, *LTC4S* -444A>C)의 유전형 빈도는 Hardy-Weinberg 평형을 만족하였다. *ALOX5* 유전자의 -1761G>A 와 -1708G>A 유전형의 빈도는 아스피린 과민성 천식, 아

스피린 내성 천식과 정상 대조군의 세 집단 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2). *ALOX5* *ALOX5* -1761G>A 와 -1708G>A는 완전한 연쇄평형 상태(complete linkage disequilibrium)에 있었는데($D'=1$), *ALOX5* promoter 부위의 두 SNP에 대한 일배체형 분석에서도 아스피린 과민성 천식의 발생에 유의한 연관성을 보이지 않았다(Table 3). *ALOX5AP* promoter 부위의 poly (A) repeat 유전형의 분포 또한 아스피린 과민성 천식, 아스피린 내성 천식, 정상 대조군의 세 집단 사이에 유의한 차이가 없었다.

Table 1. Characteristics of the subjects

	AIA (n=44)	ATA (n=104)	P value
Male sex (%)	31.8	51.3	<0.001
Age (yr)	43.1±14.8	46.3±14.3	NS
Asthma duration (yr)	5.7±6.5	6.1±5.5	NS
FEV ₁ (% of predicted value)	88.5±20.0	94.5±16.6	NS
PC20 (mg/mL)	7.5±8.3	6.8±6.7	NS
Log (serum total IgE)	2.1±0.7	2.2±0.5	NS
Atopy (%)	56.0	45.2	NS
Peripheral blood eosinophil count (/μL)	347.8±362.6	382.3±363.8	NS
Rhinitis (%)	72.2	64.7	NS
Nasal polyp (%)	28.6	4.2	0.039

Data are shown as mean±SD for nonparametric variables. AIA = aspirin-intolerant asthma, ATA = aspirin-tolerant asthma, FEV₁ = forced expiratory volume in 1 second, NS = not significant.

3. *LTC4S* promoter 유전적 변이와 아스피린 과민성 천식의 연관성

LTC4S -444A>C의 경우에는 아스피린 과민성 천식 환자에서 AC 또는 CC 유전형을 가진 환자의 빈도가 AA를 가진 환자의 빈도에 비하여 아스피린 내성 천식에 비하여 유의하게 적었으며(dominant model: 19.0% vs. 36.5%, $P=0.005$, OR=0.23, 95% CI 0.08 to 0.64), C 대립유전자의 빈도 또한 유의하게 낮았다(0.10 vs. 0.19, $P=0.006$, OR=0.28, 95% CI 0.11 to 0.70). 정상 대조군의 경우 C 대립 유전자를 가진(AC or CC) 환자의 빈도가 24.8%로 아스피린 과민성 천식 환자에 비해 높았으나 통계적인 유의성은 없었다($P=0.458$).

Table 2. Frequencies of genotypes of *ALOX5*, *ALOX5AP*, *LTC4S* promoter areas

Gene (chromosome)	Polymorphisms	Genotype	Number of subjects (%)			P value*		
			AIA (n=44)	ATA (n=104)	NC (n=107)	AIA vs ATA	AIA vs NC	ATA vs NC
ALOX5 (10q11.2)	-1761G > A	GG	31 (73.8%)	59 (73.8%)	27 (65.9%)	NS	NS	NS
		GA	9 (21.4%)	17 (21.3%)	12 (29.3%)			
		AA	2 (4.8%)	4 (5.0%)	2 (4.9%)			
		Allele frequency	0.15	0.16	0.20			
	-1708G > A	GG	26 (63.4%)	46 (62.2%)	22 (53.7%)	NS	NS	NS
		GA	11 (26.8%)	23 (31.1%)	15 (36.6%)			
		AA	4 (9.8%)	5 (6.8%)	4 (9.8%)			
		Allele frequency	0.23	0.22	0.28			
ALOX5AP (13q12)	Poly A repeat	21A	37 (71.2%)	78 (75.7%)	74 (69.2%)	NS	NS	NS
		21A/18A	15 (28.9%)	24 (23.3%)	29 (27.1%)			
		18A	0 (0.0)	1 (1.0%)	4 (3.7%)			
		Allele frequency	0.14	0.13	0.17			
LTC4S (5q35)	-444A > C	AA	34 (81.0%)	54 (63.5%)	79 (75.2%)	0.005 (D)	NS	NS
		AC	8 (19.0%)	30 (35.3%)	22 (21.0%)	0.004 (C)		
		CC	0 (0.0%)	1 (1.2%)	4 (3.8%)	0.006		
		Allele frequency	0.10	0.19	0.14			

*P value was calculated with the use of logistic regression analysis including sex, age as covariant. AIA = aspirin-intolerant asthma, ATA = aspirin-tolerant asthma, NS = not significant, D = dominant model, C = co-dominant model.

Table 3. Haplotype frequencies of ALOX5 promoter area SNPs (-1761G>A and -1708G>A)

Gene (chromosome)	Haplotype	Genotype	Number of subjects (%)			P value*		
			AIA (n=44)	ATA (n=104)	NC (n=107)	AIA vs ATA	AIA vs NC	ATA vs NC
ALOX5 (10q11.2)	ht1[G-G]	ht1/ht1	25 (61.0%)	45 (60.8%)	21 (51.2%)			
		ht1/-	12 (29.3%)	24 (32.4%)	16 (39.0%)	NS	NS	NS
		-/-	4 (9.8%)	5 (6.8%)	4 (9.8%)			
		ht1 frequency	0.76	0.77	0.71	NS	NS	NS
	ht2[A-A]	ht2/ht2	2 (4.9%)	4 (5.4%)	2 (4.9%)			
		ht2/-	8 (19.5%)	15 (20.3%)	11 (26.8%)	NS	NS	NS
		-/-	31 (75.6%)	55 (74.3%)	28 (68.3%)			
		ht2 frequency	0.15	0.16	0.18	NS	NS	NS
	ht3[G-A]	ht3/ht3	2 (4.88)	1 (1.35)	1 (2.44)			
		ht3/-	3 (7.32)	8 (10.81)	6 (14.63)	NS	NS	NS
		-/-	36 (87.80)	65 (87.84)	34 (82.93)			
		ht3 frequency	0.09	0.07	0.10	NS	NS	NS

*P value was calculated with the use of logistic regression analysis including sex, age as covariant. AIA = aspirin-intolerant asthma, ATA = aspirin-tolerant asthma, NS = not significant.

고 찰

이 연구에서는 천식의 발생에 중요한 역할을 하는 cysLT의 합성에 관여하는 5-LO, FLAP, LTC₄ synthase의 promoter부위 유전적 변이가 천식과 아스피린 과민성 천식의 발생에 영향을 미치는지 확인하기 위하여, 아스피린 과민성 천식 환자, 아스피린 내성 천식 환자와 정상 대조군에서 각 유전자 promoter 영역의 유전적 변이에 대한 유전형을 분석하였고 아스피린 과민성 천식 환자에서 아스피린 내성 환자에 비하여 LTC₄S의 -444A>C 유전적 변이의 빈도가 낮음을 확인하였다. 이러한 결과는 LTC₄S -444C 대립유전자가 아스피린 과민성 천식의 발생을 억제하는 영향이 있음을 시사하는 것으로, 이전에 폴란드인을 대상으로 한 연구와 상반되며,¹²⁾ 동일한 한국인을 대상으로 한 이전의 연관성 분석과도 일치하지 않는 결과이다.⁷⁾ Sanak 등이 폴란드인을 대상으로 한 연구에서 -444C 대립유전자를 가진 환자들의 빈도는 아스피린 과민성 천식 환자에서 68.4%로 아스피린 내성 천식 환자의 47.3%에 비해 유의하게 높은 빈도를 보였다. 반면에 Choi 등⁷⁾이 한국인을 대상으로 한 연구에서는 C 대립유전자를 가진 환자들의 빈도가 아스피린 과민성 천식 환자에서 27.2%로 아스피린 내성 천식 환자의 31.4%에 비해 낮은 빈도를 보였고 -444C 대립유전자의 빈도도 아스피린 과민성 천식 환자(0.14)에서 아스피린 내성 천식 환자(0.18)에 비해 낮은 값을 보였으나 통계적인 유의성을 동

반하지는 않았다. 본 연구에서 한국인의 LTC₄S -444A>C 유전형 빈도는 Choi 등⁷⁾에 의한 이전의 연구결과와 비슷한 양상이었지만, 이전의 연구와는 달리 우리 연구에서는 비교적 높은 통계적 유의성을 동반하였다. 같은 한국인을 대상으로 한 연구에서 이러한 유의성의 차이가 존재하는 것은 대상 환자의 임상적인 차이에 의한 것으로 보인다. 즉 Choi 등⁷⁾의 연구와는 달리 본 연구에서는 경증 및 중등증 천식 환자를 대상으로 하였고, AIA와 ATA 환자들의 평균 FEV₁ 값은 각각 예측치의 88.5±20.0%과 94.5±16.6%로 Choi 등의 82.1±21.8%, 81.3±21.1%와 비교하여 높은 값을 보였다. 다양한 중증도를 가지는 천식 환자의 경우와는 달리 비교적 낮은 중증도를 보이는 천식 환자에서만 AIA와의 연관성이 관찰되는 것은 LTC₄S -444A>C가 AIA의 발생에 미치는 영향이 중증 천식에서는 크지 않음을 시사한다. 한편 이번 연구의 결과는 한국인에서 유전형의 분포는 폴란드,¹²⁾ 일본,⁶⁾ 미국,¹⁴⁾ 스페인, 호주¹⁶⁾ 등과 다름을 다시 확인하였으며, 유전적 변이에 따른 영향도 인종간에 따라 차이가 있음을 보여주고 있다.

LTC₄S -444A>C 단일염기다형에 의한 기능적 변화에 대해서는 아직 명확히 규명된 바 없다. Sanak 등은 LTC₄S -444C 대립유전자가 mRNA 전사를 증가시키고, 결국 cysLT의 합성이 증가되는 것을 실험적으로 제시하였다.¹²⁾ 그러나 다른 연구자들에 의한 보고들은 이러한 역할에 대해 의문을 제시하고 있다. Sambeek 등은 -444C와 -444A 대립유전자를 각각 포함한 promoter-reporter 조합을 THP-1 단핵세포

주에 이식시키고 luciferase 활동성을 비교하였으나 차이를 보이지 않았으며,¹⁴⁾ Sayers 등과 Kedda 등도 비슷한 방법을 통한 실험에서 *LTC4S* -444A>C 단일염기다형이 전사에 미치는 영향을 확인하지 못하였다.^{16,18)} 위와 같은 보고들을 종합하면 *LTC4S* -444A>C 단일염기다형의 전사에 대한 영향은 분명하지 않으며, 다른 기전에 의하여 표현형의 발현에 관여함을 시사한다. 또한 *LTC4S* -444A>C 단일염기다형이 아스피린 과민성 천식의 발생에 미치는 영향이 인종에 따라 다양하다는 것은 하나의 유전적 변이에 의한 변화로는 설명하기 어려우며, 다른 유전적 변이와의 연관관계에 의하여 천식의 발생에 영향을 미쳤을 가능성이 높다. *LTC4S* promoter의 다른 부위의 유전적 변이인 -1702G>A의 영향은 없는 것으로 나타났는데,¹⁹⁾ 앞으로 *LTC4S* 이외의 다른 유전자의 유전적 변이와의 유전자-유전자 상호작용에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

한편 *ALOX5*의 -1761G>A, -1708G>A 두 단일염기다형은 완전한 연쇄평형 상태에 있었고, 이들의 유전적 변이는 개별 단일염기다형과 일배체형 분석 모두에서 아스피린 과민성 천식의 발생과 연관성을 보이지 않았다. Choi 등⁷⁾의 한국인을 대상으로 한 연구에서 -1708G>A, 21C>T, 270G>A, 1728A>G 개별 단일염기다형은 연관성이 없었고, *ALOX5*의 특정 일배체형의 빈도가 아스피린 과민성 천식 환자에서 아스피린 내성 천식 환자와 정상대조군에 비해 유의하게 낮은 빈도를 보인다고 보고하였는데 이러한 유전적 변이에 따른 기능적 변화에 대해서는 잘 알려져 있지 않으며 추후 연구에서도 다시 확인된 바는 없다. 본 연구는 exon에 위치한 유전적 변이를 포함하고 있지 않아서, Choi 등의 연구에서 보고한 일배체형의 연관성을 확인할 수는 없었다.

Koshino 등은 *ALOX5AP* promoter에서 21A/18A repeat 변이가 천식의 발생과 유의한 연관성이 있음을 보고하였다.⁸⁾ 한국인을 대상으로 한 최근의 연구에서는 *ALOX5AP* promoter 부위의 polyA repeat와 아스피린 과민성 천식의 연관성을 보고하였는데, 저자들은 일본인에서와 달리 19A/23A 변이를 확인하였고 이러한 변이가 아스피린 과민성 천식의 발생에 영향이 없음을 확인하였다.⁵⁾ 이번 연구에서는 한국인에서도 18A/21A 변이가 있음을 확인하였는데 이러한 변이 역시 아스피린 과민성 천식의 발생과 유의한 연관성을 보이지 않았다.

결 론

한국인에서 *LTC4S* -444A>C 변이는 아스피린 과민성 천식의 발생을 억제하는 영향이 있었는데, 이러한 연관성

은 다른 인종에서의 연구 결과와 일치하지 않는다. 이러한 결과는 *LTC4S* -444A>C의 영향이 다른 유전적 변이와의 상호작용에 의한 것임을 시사하며 앞으로 이에 대한 추후 연구가 필요하다.

참 고 문 헌

- 1) Hamad AM, Sutcliffe AM, Knox AJ. Aspirin-induced asthma: clinical aspects, pathogenesis and management. *Drugs* 2004;64: 2417-32
- 2) Szczeklik A, Nizankowska E, Sanak M, Swierczynska M. Aspirin-induced rhinitis and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:27-33
- 3) In KH, Asano K, Beier D, Grobholz J, Finn PW, Silverman EK, et al. Naturally occurring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. *J Clin Invest* 1997;99:1130-7
- 4) Sayers I, Barton S, Rorke S, Sawyer J, Peng Q, Beghe B, et al. Promoter polymorphism in the 5-lipoxygenase (*ALOX5*) and 5-lipoxygenase-activating protein (*ALOX5AP*) genes and asthma susceptibility in a Caucasian population. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:1103-10
- 5) Kim SH, Bae JS, Suh CH, Nahm DH, Holloway JW, Park HS. Polymorphism of tandem repeat in promoter of 5-lipoxygenase in ASA-intolerant asthma: a positive association with airway hyper-responsiveness. *Allergy* 2005;60:760-5
- 6) Kawagishi Y, Mita H, Taniguchi M, Maruyama M, Oosaki R, Higashi N, et al. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism in Japanese patients with aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:936-42
- 7) Choi JH, Park HS, Oh HB, Lee JH, Suh YJ, Park CS, et al. Leukotriene-related gene polymorphisms in ASA-intolerant asthma: an association with a haplotype of 5-lipoxygenase. *Hum Genet* 2004;114:337-44
- 8) Koshino T, Takano S, Kitani S, Ohshima N, Sano Y, Takaishi T, et al. Novel polymorphism of the 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) promoter gene associated with asthma. *Mol Cell Biol Res Commun* 1999;2:32-5
- 9) Kedda MA, Worsley P, Shi J, Phelps S, Duffy D, Thompson PJ. Polymorphisms in the 5-lipoxygenase activating protein (*ALOX5AP*) gene are not associated with asthma in an Australian population. *Clin Exp Allergy* 2005;35:332-8
- 10) Sayers I, Barton S, Rorke S, Beghe B, Hayward B, Van Eerdewegh P, et al. Allelic association and functional studies of promoter polymorphism in the leukotriene C4 synthase gene (*LTC4S*) in asthma. *Thorax* 2003;58:417-24
- 11) Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997;350:1599-600
- 12) Sanak M, Pierzchalska M, Bazan-Socha S, Szczeklik A. Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive

- transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:290-6
- 13) Sanak M, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase polymorphism and aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:561-2
- 14) Van Sambeek R, Stevenson DD, Baldasaro M, Lam BK, Zhao J, Yoshida S, et al. 5' flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene C4 synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:72-6
- 15) Torres-Galvan MJ, Ortega N, Sanchez-Garcia F, Blanco C, Carrillo T, Quiralte J. LTC4-synthase A-444C polymorphism: lack of association with NSAID-induced isolated periorbital angioedema in a Spanish population. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;87:506-10
- 16) Kedda MA, Shi J, Duffy D, Phelps S, Yang I, O'Hara K, et al. Characterization of two polymorphisms in the leukotriene C4 synthase gene in an Australian population of subjects with mild, moderate, and severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:889-95
- 17) Lee JY, Kim TB, Sohn SW, Chang YS, Chung JW, Kim SH, et al. Prevalence of aspirin sensitivity among asthmatic patients with mild to moderate severity and its clinical characteristics. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2002;22:100-8
- 18) Sayers I, Sampson AP, Ye S, Holgate ST. Promoter polymorphism influences the effect of dexamethasone on transcriptional activation of the LTC4 synthase gene. *Eur J Hum Genet* 2003;11:619-22
- 19) Choi JH, Kim SH, Bae JS, Yu HL, Suh CH, Nahm DH, et al. Lack of an association between a newly identified promoter polymorphism (-1702G>A) of the leukotriene C4 synthase gene and aspirin-intolerant asthma in a Korean population. *Tohoku J Exp Med* 2006;208:49-56