

집먼지진드기 감작과 HLA-DRB1 유전형의 연관

서울대학교 의과대학 내과학교실*, 소아과학교실†

서울대학교 의학연구원 알레르기 및 임상면역연구소‡

손지웅* ¶ · 정재원* ¶ · 이병재* ¶ · 김윤근* ¶ · 조상현* ¶ · 민경업* ¶ · 고영률† ¶ · 김유영* ¶

Association of HLA-DRB1 genotype with sensitivity to house dust mite

Jee-Woong Son, Jae-Won Chung, Byung-Jae Lee, Yun-Keun Kim, Sang-Heon Cho

Kyung-Up Min, Young-Yull Koh, and You-Young Kim

Department of Internal Medicine, Department of Pediatrics,

Seoul National University College of Medicine;

Institute of Allergy and Clinical Immunology, Seoul National University Medical Research Center

Background : It is known that HLA molecule can restrict specific IgE responses, but few studies have documented the association between HLA and sensitization to house dust mite(HDM).

Objective : To evaluate whether a specific HLA type can be a risk or protective factor for the development of HDM sensitivity.

Methods : Total 146 subjects were genotyped for HLA-DRB1 using PCR-SSP technique and HDM sensitivity, determined by skin prick test using two mite allergens, *D. pteronyssinus* (Dp) and *D. farinae* (Df). Subjects were grouped according to Dp or Df sensitivity and linkage analysis between HDM sensitivity and HLA-DRB1 genotype was performed.

Results : The data revealed higher allele frequencies of DRB1*07 in Dp or Df sensitive groups compared to in-sensitive groups (11.6% vs. 2.6% in Dp, 11.5% vs. 3.3% in Df group, $p < 0.05$), but the other allele frequencies showed no difference.

Conclusion : There was a significant association between HLA-DRB1*07 genotype and HDM sensitization. These results indicate that antigen presentation by HLA class II molecule restricts the development of specific IgE response to HDM.

Key word : atopy, house dust mite, HLA, DRB1

서 론

기관지천식과 알레르기성 비염의 발생에는 유전적 소인과 환경적 인자 모두가 중요한 역할을 하며 특히 항원에 대한 알레르기 염증반응이 가장 중요한 병태생리 현상으로 알려졌다. 환경적

인 요소인 항원에 의해 알레르기성 염증반응이 발생하느냐 하는 것은 개체의 유전적인 소인에 의해 좌우되는 것으로 이해되고 있는데, 특정한 항원을 인지하고 이 항원에 대해 면역반응을 일으키는 소인이 있는 개체에서 알레르기 염증반응

* 원주소:한림의대 강동성심병원 내과

* 본 연구는 97년도 보건과학기술연구개발사업(HMP-96-M-1-1006)의 지원으로 이루어졌음

통신저자:서울의대 내과 민경업

접수:98년 11월 1일, 통과:99년 3월 30일

이 발생한다. 결국 특정 알레르겐에 대한 개개인의 반응성이 알레르기 질환의 발생에 있어서 가장 중요한 요소 중 하나라고 할 수 있다.

제 2형 조직적합항원(Class II MHC molecule)은 T세포 수용체에 항원을 전달하는 기능을 담당하는 면역유전 분자로서 항원의 인식 과정에 중요한 역할을 하여 알레르기 질환에서 특이 IgE 반응을 조절할 수 있는 것으로 알려져 있으며 알레르기 질환 뿐 아니라 여러 면역질환에서도 특정한 항원에 대한 면역반응을 결정하는 유전 인자이다. 1970년대 초에 HLA와 두드러기속 항원인 *Amb a V*에 대한 특이 IgE 반응성 간에 연관이 있음이 보고된¹⁾ 이후 두드러기속 항원에 관해서는 비교적 일치되는 추시 연구 결과들이 보고되었으며²⁻⁵⁾ TDI와 아스피린 유발성 기관지천식 등에서 특정 HLA유형이 위험 인자 혹은 방어 인자로서 작용할 수 있음이 증명되었다^{6,7)}. 또한 최근에 아토피가 특정 HLA유형과 강한 연관이 있다는 보고가 있었으나⁸⁾ 가장 중요한 흡입 항원인 집먼지진드기와 HLA 유형간의 연관에 관해서는 현재까지 뚜렷한 증거가 없다.

이에 본 저자들은 한국인 아토피 가족을 대상으로, 제 2형 조직적합항원의 과가변부위(hypervariable region)를 부호화(coding)하고 있는 유전 영역인 HLA-DRB1의 유전형과 집먼지진드기 감작간의 연관을 분석하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

서울대학교병원 소아과 알레르기 클리닉을 방문한 38명의 소아 환자(proband)를 무작위 선정하고 그의 부모 76명과 형제(sibling) 40명을

포함한 총 154명을 대상으로 하였다. 대상인은 모두 대한민국에서 출생한 한국인으로 남자가 84명(54.5%), 여자가 70명(45.5%)이었다. 평균 연령은 24.1 ± 14.8 (Mean $\pm$ SD)세로, 4세부터 49세까지 분포하였는데 소아환자(proband)의 연령의 평균은 9.30 ± 2.60 세였으며 형제군(sibling)은 9.64 ± 4.04 세, 부모는 38.2 ± 3.75 세였다(Table 1).

2. 피부단자시험

대상 전원에게 두 종의 집먼지진드기 항원(*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*) 및 곰팡이 항원 (*Alternaria*, *Aspergillus*), 잔디화분 항원 (grass pollen mixture), 나무화분 항원 (tree pollen mixture), 잡초화분 항원 (mugwort pollen, ragweed pollen), 고양이털 항원 (cat fur), 및 바퀴벌레 항원 (cockroach) 등 총 10종의 혼합 흡입성 항원으로 피부단자시험을 시행하였다. 양성 대조액으로는 1.0 mg/ml 농도의 히스타민, 음성 대조액으로는 희석액을 사용하였으며, 피부단자시험 양성은 항원에 의한 팽진의 크기가 히스타민에 의한 팽진의 크기 이상인 경우로 정의하였다.

3. DNA 분리

대상인의 전주와 정맥(antecubital vein)에서 5cc를 채혈하여 EDTA tube에 넣은 후 DNA extraction kit (Guachem, UK)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 먼저 5mM MgCl₂, 320mM sucrose, 10mM Tris-HCl, 1% Triton X-100을 이용하여 시약-1을 만들고, 400mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 60mM EDTA, 1% SDS를 이용

Table 1. Characteristics of study subjects

	Probands	Siblings	Parents	Total
Total Number	38	40	76	154
Age(Mean $\pm$ SD), years	9.3 $\pm$ 2.6	9.6 $\pm$ 4.0	38.2 $\pm$ 3.75	24.1 $\pm$ 14.8
Sex(M/F)	24/14	22/18	38/38	84/70

하여 시약-2를 만든 다음 전혈 5cc에 시약-1 10cc를 첨가한 후 5분간 혼합하였다. 이후 실온, 1,300g에서 5분간 원심분리하고 상층액을 버린 후 시약-2를 340 μ l를 첨가하여 잘 혼합하여 1.5cc polypropylene microcentrifuge tube로 옮겼다. 다음 5M sodium perchlorate 100 μ l를 첨가하고, 이를 20분간 37°C에서 잘 혼합한 뒤 다시 20분간 65°C 항온수조에 방치하였다. 이후 chloroform 560 μ l를 첨가한 후 20분간 잘 혼합하여 microtube로 옮기고 1,300g에서 1분간 원심분리하였다. 여기에 silica suspension을 45 μ l 첨가하여 다시 4분간 1300g에서 원심분리한 후 에틸알코올 900 μ l를 첨가하여 잘 혼합시키고, 5분간 4,000g에서 원심분리하여 DNA를 분리하

였다. 분리된 DNA는 260nm에서 UV absorption을 측정하여 DNA 농도를 측정하였다.

4. HLA-DRB1 유전형 결정

HLA 유전형은 sequence specific primer를 이용한 PCR기법 (PCR-SSP)으로 결정하였는데, 10개의 5'-primer와 13 개의 3'-primer를 조합하여 17 종류의 primer mix를 만든 후에 검체당 17개의 분리된 PCR 반응을 수행하여 HLA-DRB1 대립유전자(allele)의 증폭을 유도한 뒤 증폭이 일어난 아형을 판정하였다(Fig. 1).

1) PCR primers

PCR 반응시의 내부 양성대조 primer로서 5'-primer로는 DRB1 유전자 exon 3의 5'-end의 codon 173-179 sequence를 이용하였고, 3'-primer로는 exon 4의 5'-end의 codon 193-200 sequence를 이용하였다. 이들 sequence specific primer들과 내부 양성대조 primer는 Olerup 등⁹⁾이 low resolution DR typing에 사용한 sequence를 기준으로 (주)바이오니아(충북 청원)에 의뢰하여 제작하였으며 그 염기서열은 table 2에 나타내었다.

2) PCR 반응

PCR 반응은 100 ng의 genomic DNA를 dNTP 200 μ M, sequence specific primer 1 μ M, control primer 0.2 μ M, PCR buffer [50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 10mM Tris-Cl (pH 8.3), 0.001% gelatin], Taq polymerase 0.5 unit (Takara, Japan)와 함께 총부피 25 μ l의 PCR 반응 혼합물을 만든 후에 TP3000 thermal cycler (Takara, Japan)에 넣고 94°C에서 20초간 denaturation, 65°C에서 50초간 annealing, 그리고 72°C에서 20초간 extension 하는 것을 1 cycle로 총 30 cycle의 반응을 거쳐 증폭시켰다.

3) PCR 결과 분석

PCR 증폭을 통해 얻어진 DNA 10 μ l를 etidium bromide가 포함된 1% agarose gel에 6x

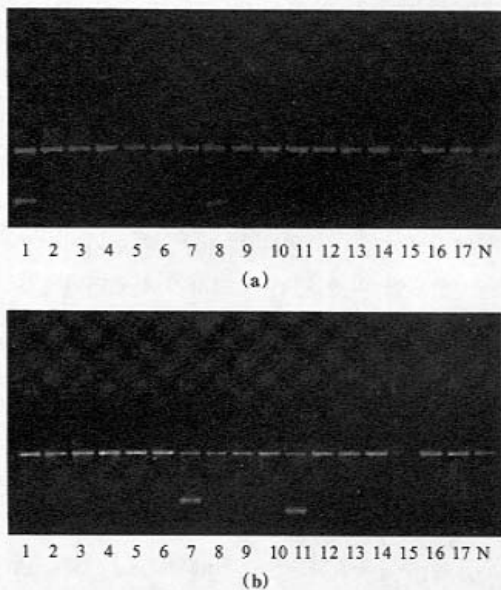


Fig. 1. HLA-DRB1 genotyping by PCR amplification with sequence specific primers (PCR-SSP)
1:DRB1*01 2:DRB1*15 3:DRB1*16 4:DRB1*03
5:DRB1*0301 6:DRw18 7:DRB1*04 8:DRB1*11
9:DRB1*12 10:DRB1*1301 11:DRB1*1302
12:DRB1*1401 13:DRB1*1402 14:DRB1*07
15:DRB1*08 16:DRB1*09 17:DRB1*10

(a)PCR products show amplified sequences of alleles DRB1*01 and DRB1*07.

(b)PCR products show amplified sequences of alleles DRB1*04 and DRB1*10.

loading buffer 2 μ l를 섞어 loading한 후 100V에서 30분간 전기영동한 뒤 UV transilluminator에 gel을 놓고 polaroid camera를 이용하여 사진을 찍고 band를 확인하여 HLA-DRB1 유전형을 결정하였다.

5. 통계분석

각 대립유전자의 빈도를 *D. pteronyssinus* 감작군과 비감작군, *D. farinae* 감작군과 비감작군으로 나누어 비교하였는데, 모든 HLA-DRB1 대립유전자에 대해서 2x2 표를 만들어 감작군과 비감작군의 대립유전자 양성 및 음성 빈도를 기록하고 통계분석은 Chi square test를 시행하였다. 기대치가 5 미만인 경우에는 Fisher의 직접확률계산법을 이용하였다. P값이 0.05 이하인 경우에 유의하다고 판정하였다.

결 과

전체 대상군 154명 중 8명(5.2%)을 제외한 146명에서 PCR-SSP방법에 의한 HLA-DRB1 유전형 판정을 성공적으로 수행할 수 있었다. 두 가지 집먼지진드기 항원에 대한 피부시험 결과 *D. pteronyssinus* 양성군은 56명, 음성군은 90명이었고, *D. farinae* 양성군은 54명, 음성군은 92명으로 전체의 40% 정도가 집먼지진드기에 감작되어 있었다. 감작군과 비감작군 사이의 성별 분포는 차이가 없었으나 비감작군의 평균 연령이 27.3 세로서 감작군 21.1 세에 비해 약간 높았다.

D. pteronyssinus 와 *D. farinae* 항원에 대한 피부시험 양성군 및 음성군에서 HLA-DRB1 대립유전자의 빈도를 table 3과 table 4에 요약하였

Table 2. Sequence of genotype-specific primers

Primer Name	5'-Sequence	3'-Sequence
DRB1 *01	5'TTGTGGCAGCTTAAGTTTGAAT ³	5'CTGCACTGTGAAGCTCTCAC ³ 5'CTGCACTGTGAAGCTCTCCA ³
DRB1 *15	5'TCCTGTGGCAGCCTAAGAG ³	5'CCGCGCCTGCTCCAGGAT ³
DRB1 *16	5'TCCTGTGGCAGCCTAAGAG ³	5'AGGTGTCCACCGCGGCG ³
DRB1 *03	5'TACTTCCATAACCAGGTAGGAGA ³	5'TGCAGTAGTTGTCCACCCG ³
DRB1 *0301	5'GACGGAGCGGGTGC GGTA ³	5'CTGCACTGTGAAGCTCTCCA ³
DRw18†	5'TACTTCCATAACCAGGAGGAGA ³	5'CTGCACTGTGAAGCTCTCAC ³
DRB1 *04	5'GTTTCTTGGAGCAGGTAAACA ³	5'CTGCACTGTGAAGCTCTCAC ³ 5'CTGCACTGTGAAGCTCTCCA ³
DRB1 *07	5'CCTGTGGCAGGGTAAGTATA ³	5'CCCGTAGTTGTGTCTGCACAC ³
DRB1 *08	5'AGTACTCTACGGGTGAGTGTT ³	5'CTGCAGTAGGTGTCCACCAG ³
DRB1 *09	5'GTTTCTTGAAGCAGGATAAGTTT ³	5'CCCGTAGTTGTGTCTGCACAC ³
DRB1 *10	5'CGGTTGCTGGAAAGACGCG ³	5'CTGCACTGTGAAGCTCTCAC ³
DRB1 *11	5'GTTTCTTGGAGTACTCTACGTC ³	5'CTGGCTGTTCCAGTACTCCT ³
DRB1 *12	5'AGTACTCTACGGGTGAGTGTT ³	5'CACTGTGAAGCTCTCCACAG ³
DRB1 *1301	5'TACTTCCATAACCAGGAGGAGA ³	5'CCCGCTCGTCTTCCAGGAT ³
DRB1 *1302	5'GTTTCTTGGAGTACTCTACGTC ³	5'TGTTCCAGTACTCGGCGCT ³
DRB1 *1401	5'GTTTCTTGGAGTACTCTACGTC ³ 5'AGTACTCTACGGGTGAGTGTT ³	5'TCTGCAATAGGTGTCCACCT ³
DRB1 *1402	5'TACTTCCATAACCAGGAGGAGA ³	5'TCCACCGCGGCCCGCC ³
Negative Control	5'TGCCAAGTGGAGCACCCAA ³	5'GCATCTTGTCTGTGCAGAT ³

† DRw18 primer amplified alleles of genotype DRB1*0302, 1302, 1305, 1402 and 1403.

다. 유전형 분류 중 DRB1*15와 DRB1*16은 과거의 혈청형 분류의 DR2에 해당하는데 본 연구 결과에서는 DRB1*16 대립유전자의 빈도가 3/146(2.1%)로 매우 낮아 DRB1*15의 빈도와 합하여 계산하고 DRB1*02로 표기하였다. 같은 이유로 DRB1*1301과 DRB1*1302, 그리고 DRB1*1401과 1402의 빈도를 합하여 계산하였고 각각 DRB1*13과 DRB1*14로 표기하였다. 이 외에도 DRB1*0301, DRB1*08, DRB1*10 에서 대립유전자의 빈도가 5%이하로 관찰되었다.

집먼지진드기 항원에 의한 피부시험상 양성군과 음성군으로 나누어 HLA-DRB1 대립유전자의 빈도를 비교하였을 때 *D. pteronyssinus* 양성군에서 DRB1*07 대립유전자형의 빈도는 25.0%로 음성군의 빈도 7.8%에 비해 상대위험도 3.95(95% 신뢰구간: 1.48~10.53)로 유의하게 증가되어 있었다. 한편 *D. farinae* 양성군에서도 DRB1*07 대립유전자의 빈도는 25.9%로 비감작군의 빈도 7.6%에 비해 상대위험도 4.25 (95% 신뢰구간: 1.59~11.34)로 유의하게 증가되

어 있었다. 이외의 다른 대립유전자들에서는 두 군 사이에 유의한 빈도 차이를 관찰할 수 없었다.

고 찰

기관지천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 등의 알레르기 질환의 발생에 유전적인 경향이 있다고 오래 전부터 알려졌다. 그 유전양상은 아직까지 규명되지 않았다. 최근 분자생물학의 발전에 힘입어 아토피 및 기관지 천식의 유전인자에 대한 후향적 접근이 활발히 이루어지고 있지만 아직까지 질환의 뚜렷한 유전자는 확인되지 않고 있으며 여러 다양한 후보유전자 영역에 대한 연관이 보고되고 있으나 연구자에 따라 상이한 결과를 나타내고 있다. 그 이유는 아토피 질환의 표현형을 정의하기가 어렵고, 아토피 질환의 발생이 성별이나 연령과 같은 요소에 의해 변화하는 특성이 있으며, 질환의 발현에 원인 알레르겐의 노출이나 대기오염, 바이러스에 의한 감염 등과 같은 환경요소가 영향을 미치는 등의

Table 3. DRB1 allele frequencies and sensitivity to *D. pteronyssinus*

<i>D. pteronyssinus</i>					
Alleles	Sensitive group		In-sensitive group		p-value
	n	%	n	%	
DRB1*01	5	8.9%	9	8.9%	NS
DRB1*02	7	12.5%	19	21.1%	NS
DRB1*03	3	5.4%	5	5.6%	NS
DRw18 †	21	37.5%	25	27.8%	NS
DRB1*04	19	33.9%	33	36.7%	NS
DRB1*11	3	5.4%	9	10.0%	NS
DRB1*12	10	17.9%	23	25.6%	NS
DRB1*13	5	8.9%	8	8.9%	NS
DRB1*14	6	10.7%	20	22.2%	NS
DRB1*07	14	25.0%	7	7.8%	P<0.05
DRB1*09	11	19.6%	11	12.2%	NS
DRB1*10	5	8.9%	8	8.9%	NS
Totals(n)	56		90		

† The primer of DRw18 amplified alleles of genotype DRB1*0302, 1302, 1305, 1402, and 1403. The allele frequencies of DRB1*08, DRB1*10, DRB1*0301 were less than 5% (data are not shown). NS: not significant

이유로 인해 유전학적 접근이 어렵기 때문이다. 호흡기를 침범하는 단일유전자 변이에 의한 유전 질환 중 가장 흔한 질병인 낭성섬유증(cystic fibrosis)의 유병률이 가장 흔하게 볼 수 있는 인종의 경우에서도 2,500 명당 1 명 이하인 점을 감안하면 기관지천식과 같이 5-10%의 높은 유병율을 보이는 질환은 단일 유전자에 의해서 발생하는 것이 아니라 여러 유전인자가 다양하게 질환의 발생에 영향을 미치는 것으로 생각되고 있다. 또한 기관지천식이나 알레르기성 비염과 같은 질환은 유전학적으로 동일한 한 가지 질환이기 보다는 임상적으로나 병태생리적으로 공통된 특징을 공유하는 질환군으로서, 유전학적으로는 복잡 다양한 질환들의 묶음으로 이해할 수 있을 것이다.

현재 아토피의 후보유전자로 제시되고 있는 유전자 영역으로는 IgE 수용체 유전자가 위치한 11q13 영역, 제 2형 조직적합항원 분자 유전자가 위치하고 있는 6p21 영역, T세포수용체 유전자가 위치하고 있는 7p15, 7q35영역, IL-4 등

사이토카인 유전자가 밀집되어 있는 5q31영역 등 매우 다양하다¹⁰⁾. 이중 제 2형 조직적합항원은 항원전달세포에 의해 처리된 외부의 항원을 T림프구로 전달하는 기능을 하므로 알레르기성 염증반응 과정 중 항원 인식과정을 좌우할 것으로 생각하고 있다. 많은 증거들이 이를 뒷받침하고 있는데 가장 잘 알려진 것은 두드러기속 화분 항원과 HLA의 연관이다.

1970년대 초 두드러기속 화분에 의한 계절성 알레르기성 비염 환자의 가족을 대상으로 한 연구에서 두드러기속 화분 항원에 대한 IgE 반응성과 HLA-A, HLA-B haplotype이 연관이 있음이 보고되었고¹¹⁾ 이로부터 HLA 복합체가 이 항원에 대한 면역반응을 조절한다는 가설이 제기되었다. 면역반응을 조절하는 이 유전자를 최초에는 IrE유전자로 명명하였었는데 후에 IrE유전자가 HLA-B locus에서 동원체(centromere) 쪽에 위치함이 밝혀졌고^{3,11)} 이 유전자는 제 2형 조직적합항원 분자를 부호화하고 있는 HLA-DR 유전자인 것으로 규명되었다^{5,12)}. 이후의 많은 연

Table 4. DRB1 allele frequencies and sensitivity to *D. farinae*

<i>D. farinae</i>					
Alleles	Sensitive group		Insensitive group		p-value
	n	%	n	%	
DRB1*01	5	9.3%	9	8.7%	NS
DRB1*02	8	14.8%	18	19.6%	NS
DRB1*03	3	5.6%	5	5.4%	NS
DRw18 †	20	37.0%	26	28.3%	NS
DRB1*04	15	27.8%	37	40.2%	NS
DRB1*11	3	5.6%	9	9.8%	NS
DRB1*12	11	20.4%	22	23.9%	NS
DRB1*13	5	9.3%	8	8.7%	NS
DRB1*14	6	11.1%	20	21.7%	NS
DRB1*07	14	25.9%	7	7.6%	P<0.05
DRB1*09	11	20.4%	11	12.0%	NS
DRB1*10	5	9.3%	8	8.7%	NS
Totals(n)	54		92		

† The primer of DRw18 amplified alleles of genotype DRB1*0302, 1302, 1305, 1402, and 1403. The allele frequencies of DRB1*08, DRB1*10, DRB1*0301 were less than 5% (data are not shown). NS: not significant

구에서 두드러기속 화분에서 뿐 아니라 *Lolium perenne* 화분¹³⁾, 자작나무 화분¹⁴⁾ 등에서도 항원 감작과 HLA-DR 사이에 연관이 있음이 알려졌다.

그러나 기관지천식 및 알레르기성 비염의 가장 중요한 원인 항원인 집먼지진드기에 대한 감작과 HLA의 연관에 관한 증거는 부족한 실정이다. HLA-DR locus의 유전자인 DRB1, DRB3, DRB5 유전자에 의해서 집먼지진드기 항원의 인식과정이 조절된다는 연구 보고가 있었지만¹⁵⁾ T 세포 클론을 이용한 체외실험 결과였고, 천식이 나 아토피가 특정 HLA형과 연관이 있다는 보고는 있었지만¹⁶⁾ 집먼지진드기 항원에 대한 감작과의 연관에 관한 연구에서는 부정적인 결과가 보고된 바 있다¹⁶⁾.

본 연구의 가장 큰 의미는 기존의 연구에서 입증하지 못한 집먼지진드기 항원 감작과 HLA-DR 유전형간의 연관을 증명하였다는데 있다. 이론적으로는 HLA-DR 유전형과 항원 감작간에 연관이 있음이 분명한데 비해 긍정적인 증거가 없었던 이유는 집먼지진드기에는 최소한 30여종의 항원결정기가 있어¹⁷⁾, 집먼지진드기의 항원성이 화분 항원에 비해 더 복잡하고 다양하기 때문인 것으로 생각된다. 또 다른 원인으로 연구 대상의 다양성이 연구의 결과에 영향을 미쳤을 것으로 생각되는데, HLA-DR 유전형이 다양할수록 상대적으로 특정 유전형의 빈도가 낮아지므로 유의한 차이를 찾아내기가 어려워진다. 이런 점을 고려할 때 비교적 순수한 인종을 대상으로 연구를 하였을 때 긍정적인 결과를 찾을 수 있는 확률이 높다고 할 수 있으며 한국인 아토피 가족을 대상으로 한 본 연구에서 연관의 증거를 얻은 것도 그런 장점에 의한 것으로 생각할 수 있다.

HLA형과 아토피 또는 알레르기 질환의 연관을 연구한 기존의 국내보고로는 기관지천식과 아토피성 피부염 환자에서의 HLA-A, B, C 혈청형 분석(serotyping)을 통하여 환자군과 정상대조군 사이의 유의한 분포차이를 볼 수 없었다고

보고한 정¹⁸⁾ 등의 연구. 김¹⁹⁾ 등이 기관지천식, 알레르기성 비염, 담마진 등 제 1형 과민반응을 나타내는 질환군과 정상군에서 역시 HLA-A, B, C 혈청형을 분석하여 두 군간의 차이를 분석한 보고, 그리고 대상 환자군을 기관지천식 환자로 좁혀 피부반응 검사의 양상과 혈청 IgE 항체의 상승을 기준으로 분류하여 HLA-A, B, C 항원의 분포를 비교 분석한 김²⁰⁾ 등의 연구를 들 수 있다.

본 연구는 기존 국내 연구에서 시행하지 못했던 HLA-DR 형 결정을 수행하였으며 기존 방법과 달리 혈청형 방법에 의해서가 아니라 유전형 방법을 통해 HLA-DRB1형을 결정하였다. 최근에는 분자생물학적 방법의 발전으로 HLA형 결정은 대부분 유전형 방법을 이용하며 HLA에 대한 명명법도 유전형으로 통일되고 있다. HLA 유전형을 결정하는 기법으로는 본 연구에서 사용한 PCR-SSP 기법 이외에도 PCR-SSO, DNA-RFLP 방법 등이 있다. PCR 기법을 바탕으로 한 PCR-SSP와 PCR-SSO는 DNA-RFLP 방법에 비해 간단하고 경제적이면서도 정확도에서 뒤지지 않으므로 대부분의 실험실에서 이용하고 있다. PCR-SSP방법은 결정하고자 하는 유전형 종류 만큼의 독립된 PCR반응이 필요하기 때문에 많은 양의 시료 DNA를 필요로 한다는 단점이 있으나 비교적 신속하게 결과를 확인할 수 있으며 정밀한 유전형 결정을 위해서는 primer의 수를 늘리면 되는 장점이 있어 고해상도 유전형 결정(high resolution typing)이나 긴급을 요하는 경우에 선호되는 방법이다.

본 연구에서 HLA-DRB1유전자를 선택하여 유전형과 항원 감작간의 연관 분석을 시행하였는데, 그것은 HLA-A, B, C에 관하여는 기존의 국내 보고¹⁸⁻²⁰⁾가 있는 것도 한 가지 이유나 더 중요한 사실은 이론적으로 DRB1 유전자는 항원과 결합하는 제 2형 조직적합항원 분자의 과가변부위(hypervariable portion)를 부호화하고 있다는 점이다. 제 2형 조직적합항원 분자는 알파

와 베타, 두 개의 펩타이드 사슬로 구성되어 있는데 DRB1 유전자는 이중 베타 사슬의 과가변 부위를 부호화하고 있으며 DR locus의 유전자중 가장 변이성이 높은 유전자이다.

그러나 DR locus 이외에도 항원 감작과의 연관성이 보고되기도 하는데 국내 연구결과 중 김¹⁹⁾ 등의 보고에서는 제 1형 과민반응 질환군과 정상인군 사이에 HLA-A, B, C 혈청형 분포의 차이는 없었으나 원인 항원별로 HLA항원의 분포를 조사한 바 집먼지에 감작된 예에서 B5와 B7의 빈도가 각각 55%와 15%로서 비감작군의 20%와 4%에 비해서 높았다고 하였다. 김²⁰⁾ 등은 기관지천식 환자군 및 혈청 IgE치의 증가군 혹은 감소군에서 HLA-Cw3, HLA-A10, HLA-B12 항원의 분포가 차이가 있고 특히 혈청 IgE치가 1,000 IU/ml 이상이었던 환자군에서 HLA-B12 항원의 분포가 의미있게 증가하였다고 보고하였다. HLA-A, B, C 좌에 대한 국내 기존의 연구 보고에서의 연관성과 HLA-DR 좌에 대한 본 연구의 DRB1*07 유전형과 집먼지진드기 감작의 연관성이 각각 독립적인 연관의 결과일 수도 있으나 HLA-A, B, C, DR 좌의 유전자들이 염색체상의 짧은 거리에 밀집되어 있음을 고려하면 인접한 좌의 연관에 의해 영향을 받았을 가능성도 고려하여야 하겠다. 이론적으로는 DR좌가 가장 큰 영향력을 가질 가능성이 높다고 생각되나 본 연구를 포함하여 현재까지의 연구 결과로는 결론을 내릴 수 없어 이에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각한다.

본 연구에서 집먼지진드기 이외의 다른 흡입성 항원에 대해서도 피부단자시험을 시행하였으나 집먼지진드기 항원에 비해 피부반응 양성률의 빈도가 현저히 낮아 통계적 검증을 시행하지 못하였으며 빈도가 5% 이하로 매우 낮았던 일부 DRB1 유전형에서도 통계적 검증을 시행하지 못했다. 감작 빈도가 낮은 항원과의 연관 분석이나 고해상도 유전형 결정을 위해서는 대상인원을 대폭 확대하여 연구를 수행하는 것이 필요하나 현

실적으로 매우 어려운 일이다.

HLA-DRB1*07의 유전형을 가지고 있는 경우 상대위험도(odds ratio)가 4배의로 높았지만 DRB1*07 유전형을 가진 모두가 집먼지진드기에 감작되지는 않았다. 이것은 집먼지진드기의 항원성이 매우 다양하고 복잡하기 때문일 것으로 생각되지만 그 이외의 다른 요소가 관여함을 배제할 수 없다. 특히 IgE 항체의 생성은 HLA분자/항원 복합체와 T세포 수용체간의 상호작용에 의해서 결정되게 되므로 HLA분자뿐만 아니라 T세포 수용체도 항원 인식과정에 관여하게 된다. 그러한 증거로써 최근의 연구에서 Moffatt 등²¹⁾은 영국 및 호주인을 대상으로 T세포 수용체-알파의 유전형과 특히 IgE 반응간에 연관이 있음을 증명하고 이는 T세포수용체-알파 영역의 유전자가 특히 IgE 반응을 조절하는 증거라고 주장하였다.

현재까지의 증거로는 HLA 분자 및 T세포수용체 유전자 모두가 항원 인식과정에 중요할 것으로 생각하며, 어느 것이 상대적으로 중요한지는 판단할 수 없다. 향후 이에 대한 많은 연구가 있어야 하며, 특히 동일 연구 대상에서 두 유전자 각각과 항원 감작의 연관 강도를 비교 평가하는 것이 필요할 것으로 생각한다.

결론

한국인 아토피 가족을 대상으로 제 2형 조직적합항원 분자를 부호화하고 있는 유전 영역인 HLA-DRB1의 유전형과 집먼지진드기 감작간의 연관성을 분석한 바 DRB1*07 유전형과 집먼지진드기 항원 감작간에는 유의한 연관이 관찰되었다. DRB1*07 유전형은 집먼지진드기 감작에의 위험인자로 작용한다고 할 수 있으며 이것은 제 2형 조직적합항원 분자의 과가변 부위의 형태에 따라서 특히 IgE 반응이 제한되거나 증강될 수 있음을 시사하는 증거이다.

참 고 문 헌

- 1) Levine RB, Stember RH, Fotino M: Ragweed hayfever: genetic control and linkage to HL-A haplotypes. *Science* 178:1201-3, 1972
- 2) Yoo T-J, Flink RJ, Thompson JS: The relationship between HLA antigens and lymphocyte response in ragweed allergy. *J Allergy Clin Immunol* 57:25-8, 1976
- 3) Mendell NR, Blumenthal MN, Amos DB, Yunis EJ, Elston RC: Ragweed sensitivity: segregation analysis and linkage to HLA-B. *Cytogenet Cell Genet* 22:330-4, 1978
- 4) Marsh DG, Hsu SH, Roebber M, Ehrlich-Kautzky E, Freidhoff LR, Meyers DA, et al.: HLA-Dw2: a genetic marker for human immune response to short ragweed pollen allergen Ra5. I. Response resulting primarily from natural antigenic exposure. *J Exp Med* 155:1439-51, 1982
- 5) Marsh DG, Freidhoff LR, Ehrlich-Dautsky E, Bias WB, Roebber M: Immune responsiveness to *Ambrosia artemisiifolia* (short ragweed) pollen allergen Amb a VI is associated with HLA-DR5 in allergic humans. *Immunogenetics* 26:230-6, 1987
- 6) Bignon JS, Aron Y, Ju LY, Kopferschmitt MC, Garnier R, Mapp C, et al.: HLA class II alleles in isocyanate-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 149:71-5, 1994
- 7) Lymphany PA, Welsh KI, Christie PE, Schmitz-Schumann M, Kemeny DM, Lee TH: An analysis with sequence-specific oligonucleotide probes of the association between aspirin-induced asthma and antigens of the HLA system. *J Allergy Clin Immunol* 92:114-23, 1993
- 8) Aron Y, Desmazes-Dufeu N, Matran R, Polla BS, Dusser D, Lockhart A, et al.: Evidence of a strong, positive association between atopy and the HLA class II alleles DR4 and DR7. *Clin Exp Allergy* 26:821-8, 1996
- 9) Olerup O, Zetterquist H: HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 39:225-35, 1992
- 10) Sandford A, Weir T, Pare P: The genetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 153:1749-65, 1996
- 11) Blumenthal MN, Amos DB, Noreen H, Mendell NR, Yunis EJ: Genetic mapping of Ir locus in man: linkage to second locus of HLA. *Science* 184:1301-3, 1974
- 12) Zwollo P, Ehrlich-Dautsky E, Scharf SJ, Ansari AA, Ehrlich HA, Marsh DG: Sequencing of HLA-D in responders to short ragweed allergen, Amb a V. *Immunogenetics* 33:141-51, 1991
- 13) Ansari AA, Freidhoff LR, Meyers DA, Bias WB, Marsh DG: Human immune responsiveness to *Lolium perenne* pollen allergen Lol p III is associated with HLA-DR3 and DR5. *Hum Immunol* 25:59-71, 1989
- 14) Fischer GF, Pickl WF, Fae I, Ebner C, Ferreira F, Breiteneder H, et al.: Association between IgE response against Bet v I, the major allergen of birch pollen, and HLA-DRB alleles. *Hum Immunol* 33:259-65, 1992
- 15) O'Hehir RE, Mach B, Berte C, Greenlaw R, Tiercy JM, Bal V, Lechler RI, et al.: Direct evidence for a functional role of HLA-DRB1 and -DRB3 gene products in the recognition of *Dermatophagoides* spp. by helper T lymphocytes. *Int Immunol* 2:885-92, 1990
- 16) Holloway JW, Doull I, Begishvili B, Beasley R, Holgate ST, Howell WM: Lack of evidence of a significant association between HLA-DR, DQ, DP genotypes and atopy in families with HDM allergy. *Clin Exp Allergy*

26:1142-9, 1996

- 17) Hill MR, Newton MR, Hart BJ: Comparative IgE responses to extracts of five species of house dust mite, using western blotting. Clin Exp Allergy 23:110-6, 1993
- 18) 정지윤, 감명숙, 김정수, 신동학: 기관지천식과 아토피성 피부염에 대한 HLA형의 연구. 알레르기 1:98-104, 1981
- 19) 김홍태, 김항재, 이인걸, 이성우, 김능수: 제 1형 과민반응환자에서의 HLA항원분포. 알레르기 3:131-7, 1983
- 20) 김경래, 김원호, 이현철, 홍천수, 이상용: 한국인 기관지천식 환자에 있어서의 HLA항원분포에 관한 연구. 알레르기 4:21-30, 1984
- 21) Moffatt MF, Hill MR, Cornelis F, Schou C, Faux JA, Young RP, et al.: Genetic linkage of T-cell receptor a/d complex to specific IgE responses. Lancet 23:464-70, 1994