

# 한국인에서의 TNF- $\alpha$ 유전자 다형성과 HLA/TNF- $\alpha$ 일배체형의 분포

서울대학교 의과대학 검사의학교실

박 윤 준 · 박 혜 진 · 박 명 희

## Polymorphisms in the TNF- $\alpha$ Gene and Extended HLA and TNF- $\alpha$ Haplotypes in Koreans

Yoon June Park, Hye Jin Park and Myoung Hee Park

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background:** Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) is known to play an important role in various conditions such as inflammation, autoimmunity, apoptosis, insulin resistance and sleep induction. Five single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been known to affect the transcriptional activities of TNF- $\alpha$ : -1,031T/C, -863C/A, -857C/T, -308G/A and -238G/A. **Methods:** We have investigated 5 SNPs of the promoter region of TNF- $\alpha$  gene, the distribution of 5-locus TNF- $\alpha$  haplotypes, and their haplotypic associations with previously typed HLA-A, -B and -DRB1 loci in 107 healthy unrelated Koreans. TNF- $\alpha$  SNPs were typed using PCR-single-strand conformation polymorphism (SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods. **Results:** The allele frequencies of -1,031C, -863A, -857T, -308A, and -238A, which are known as the high-producer-type, were 19.3%, 15.9%, 14.0%, 5.9%, and 2.9%, respectively. The frequency of -308A allele, known to be associated with autoimmune diseases, was 5.9% in Koreans which was lower than Caucasians (14~17%) and somewhat higher than Japanese (1.7%). Five most common TNF- $\alpha$  haplotypes (-1,031/-863/-857/-308/-238) comprised over 95% of total haplotypes: TCCGG (58.4%), CACGG (14.8%), TCTGG (13.7%), TCCAG (5.3%), and CCCGA (3.1%). Strong positive associations ( $P < 0.001$ ) were observed between TCCGG and B62; between CACGG and B51, DRB1\*0901; between TCTGG and B35, B54, B59, DRB1\*1201; and between TCCAG and A33, B58, DRB1\*0301, DRB1\*1302. Five most common extended haplotypes ( $> 3\%$ ) comprised around 16% of total haplotypes: A33-B58-TCCAG-DRB1\*1302, A24-B52-TCCGG-DRB1\*1502, A33-B44-TCCGG-DRB1\*1302, A24-B7-TCCGG-DRB1\*0101, and A11-B62-TCCGG-DRB1\*0406. The distribution of extended HLA and TNF- $\alpha$  haplotypes showed that most of HLA haplotypes were almost exclusively associated with particular TNF- $\alpha$  haplotypes. **Conclusion:** The results obtained in this study would be useful as basic data for anthropologic studies and disease association studies in Koreans. (*Immune Network* 2002;2(4):242-247)

**Key Words:** TNF- $\alpha$ , HLA, polymorphism, single nucleotide polymorphism (SNP), haplotype, Korean

### 서 론

TNF- $\alpha$  (종양괴사인자-alpha, tumor necrosis factor-alpha)는 염증에 관련되어 광범위한 활성을 나타내는 싸

이토카인 물질로 미생물 감염에 대한 방어작용 외에도 여러 종류의 염증성 질환과 자가면역질환의 병인에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(1,2). TNF- $\alpha$  유전자는 사람의 주조직적합복합체(major histocompatibility complex) 유전자군의 class III 영역에 속하는 유전자로 HLA-B 유전자(class I)와 HLA-DR 유전자(class II) 사이에 위치하므로 이들 유전자 간에는 강한 연관성이 있고,

책임저자 : 박명희, 서울대학교병원 진단검사의학과  
Ⓢ 110-744, 서울시 종로구 연건동 28  
Tel: 02-760-3388, Fax: 02-3672-3337  
E-mail: parkmhee@snu.ac.kr

각 인종간에 서로 다른 연쇄불평형(linkage disequilibrium) 현상을 나타내게 된다(3). TNF- $\alpha$  물질의 생물학적 활성과 염색체 상에서 TNF- $\alpha$  유전자의 위치로 볼 때 TNF- $\alpha$  유전자의 다형성이 HLA와 연관성을 보이는 일부 자가면역질환이나 감염성 질환에 관여할 가능성을 시사해 준다.

그동안 TNF- $\alpha$  유전자와 TNF- $\alpha$  물질 생산능과의 연관성에 대해서는 promoter 부위의 -238번과 -308번 염기서열의 변화와 TNF- $\alpha$  전사 활성(transcriptional activity)간의 상관관계가 보고되었다(3,4). 이러한 다형성은 특정 부위의 염기서열 1개가 다른 염기로 치환되는 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism: SNP)으로 -308A (G $\rightarrow$ A 치환)와 -238A (G $\rightarrow$ A 치환) 대립유전자는 전신성홍반성루푸스(systemic lupus erythematosus)의 특정 임상아형(5)이나 cerebral malaria(6), leishmania 감염증(7) 등의 질환감수성에 연관성을 보이는 것으로 보고되었다. 한편 -308A 대립유전자는 백인에서 자가면역질환과 연관성을 나타내는 것으로 잘 알려진 HLA-A1-B8-DR3-DQ2 일배체형과 연관되어 존재하며(3), 또한 고농도의 TNF- $\alpha$  물질을 생산하는 것으로 보고되었다(8). 이러한 -308A 대립유전자의 빈도는 미국 백인(17.2%)이나 이태리인(14.1%)에서는 15% 전후의 고빈도로 존재하고(5,9), -238A 대립유전자 빈도도 이태리인(6.3%), 남아프리카 흑인(9.0%) 등에서 비교적 높은 빈도로 존재한다(6,10). 그러나 -308A와 -238A 대립유전자는 일본인에서는 각각 1.7%, 2.0%의 낮은 빈도로 존재하여(11), 일본인에서는 TNF- $\alpha$  유전자 promoter의 다형성이 자가면역질환 등에 있어서 질환감수성 인자로 작용할 가능성이 적다고 생각되어 왔다. 그런데 최근에 일본인에서 TNF- $\alpha$  유전자 promoter 부위의 새로운 다형성이 발견되었는데, -1,031C (T $\rightarrow$ C 치환), -863A (C $\rightarrow$ A 치환), -857T (C $\rightarrow$ T 치환) 등이 이에 속한다. 이러한 대립유전자는 일본인에서 고빈도로 존재하고(각각 16.0%, 14.0%, 17.7%), 고농도의 TNF- $\alpha$  생산능을 나타내는 것으로 보고되었다(11). 일본인에서는 이들 TNF- $\alpha$  유전자 promoter 부위의 각 대립유전자와 HLA class I 및 class II 유전자와의 연관성과 일배체형에 관해서 최근에 분석되어 보고되었다(11,12).

TNF- $\alpha$  물질이 염증반응(2), apoptosis(13), 인슐린내성(14)과 수면추진(15) 등에 관여한다는 점을 고려해 볼 때 각종 질환에서 TNF- $\alpha$  물질 생산능과 연관되어 있는 TNF- $\alpha$  유전자 promoter 부위의 다형성에 관하여 연구해 볼 필요가 있다. 특히 HLA와 연관성을 보이는 각종 질환에서 HLA 이외에도 TNF- $\alpha$ 와의 연관성에 대한 관점에서 재조명해 볼 필요가 있다 하겠다. 이러한 시도로 최근에 일본인 기면병(narcolepsy) 환자에서 기존에 강한 연관성이 확인된 HLA-DR2(DRB1\*1501), DQ6(DQB1\*0602)와

는 무관하게 TNF- $\alpha$  유전자 promoter 다형성(-857T)이 기면병 발병에 독립적이고 추가적인 감수성 인자로 작용함이 확인되었다(16).

현재까지 한국인에서는 TNF- $\alpha$  유전자에 관한 연구가 거의 이루어지지 않았다. -308G/A 다형성 부위(17-19)와 -238G/A 다형성 부위(17)의 대립유전자 빈도에 대한 일부 보고가 있었을 뿐, 그 밖의 promoter 부위 다형성이나 HLA class I 및 class II 유전자와의 연관성에 대해서는 보고된 바가 없다. 본 연구는 한국인의 TNF- $\alpha$  대립유전자 및 TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도를 산정하고 HLA 일배체형의 자료와 합하여 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도를 구함으로써, 한국인에서 TNF- $\alpha$  유전자의 다형성과 각종 질환의 연관성에 대한 연구에 필요한 기초자료를 제공하고자 시도되었다.

## 대상 및 방법

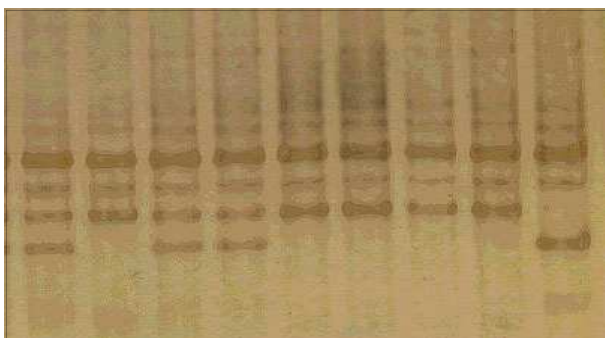
**대상.** HLA-A, B, DRB1 형별검사가 완료되어 있는 정상 한국인 107명의 DNA 검체를 이용하여 TNF- $\alpha$  유전자 promoter 부위의 단일염기다형성을 분석하였다. HLA-A, -B는 혈청학적 방법, -DRB1은 reverse SSO 및 PCR-single-strand conformation polymorphism (SSCP) 방법을 이용하여 분석된 결과를 사용하였다.

**TNF- $\alpha$  유전자 분석.** TNF- $\alpha$  유전자 promoter 부위의 다형성에 대해서는 TNF- $\alpha$  생산능과 밀접한 연관이 있다고 알려진 -1,031T/C, -863C/A, -857C/T, -308G/A, 238G/A 등 5개 부위의 SNP 다형성을 분석하였다. DNA 형별검사 방법은 기본적으로 PCR-SSCP (-1,031, -863, -857 부위)와 PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP)방법(-308, -238 부위)을 이용하였으며 Hohjoh 등의 방법(16)과 Wilson 등의 방법(8)을 약간 수정하여 사용하였다. 먼저 TNF- $\alpha$  유전자 promoter의 5개 부위를 4쌍의 primer 조합(-1,031, -863/-857, -308, -238)을 이용하여 증폭하였다(8,16). PCR 반응액은 10  $\mu$ l 반응액에 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.001% (w/v) gelatin, ~0.05  $\mu$ g genomic DNA, 20  $\mu$ M 각 dNTP, 10 pmol 각 primer, 0.25 units Taq polymerase (BioTherm DNA polymerase, GeneCraft, Munster, Germany)가 포함되도록 구성하였다. PCR 증폭은 PTC-200 thermal cycler (PTC-200, MJ Research, Waltham, MA, USA)를 이용하고 PCR 조건은 다음과 같이 시행하였다: 열변성(95°C 5분), 30 사이클 증폭(95°C 30초, 61°C 30초, 72°C 60초), 최종 신장(72°C 5분). PCR로 증폭된 산물의 SSCP 분석을 위해 PCR 산물을 formamide 용액(95% formamide, 20 mM EDTA, 0.25% bromphenol blue, 0.25% xylene cyanole FF)과 혼합하고 95°C에서 변성시켜 단일쇄 상태로 만들었다. -1,031 부위는 10% polyacrylamide gel (5% glycerol 함유)을 이용하여 10°C, 20 mA하에서

100분간, -863/-857 부위는 12.5% polyacrylamide gel을 이용하여 15°C, 20 mA하에서 60분간, 각각 전기영동시킨 후 silver 염색을 실시하여 SSCP band pattern을 표준 DNA의 SSCP band와 비교하여 대립유전자 형별을 결정하였다(Fig. 1). 표준 DNA는 외국의 연구자로부터 분양 받은 것과 정상 한국인 DNA 검체를 직접염기서열분석 방법으로 TNF- $\alpha$  유전자 다형성을 규명한 것을 사용하였다. RFLP 분석을 위해서는 상기 조건의 PCR로 증폭된 산물을 37°C에서 -308 부위는 *NcoI* (*NcoI* restriction enzyme, DC chemical, Sungnam, Korea), -238 부위는 *AvaII* (*AvaII* restriction enzyme, DC chemical, Sungnam, Korea) 제한효소 각각 5 unit로 처리한 후 15% acrylamide gel에 전기영동하여 절단되는 경우는 G, 절단되지 않는 경우는 A로 판정하였다(-308G: 80+127 bp, -308A: 107 bp; -238G: 18+51 bp, -238A: 69 bp).

**통계분석.** TNF- $\alpha$  유전자 promoter 각 부위의 대립유전자 빈도를 산정하고 이들 대립유전자가 동일한 염색체 위에 배열하여 구성하는 TNF- $\alpha$  일배체형(haplotype) 및 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 종류와 그 빈도에 대해 분석하였다. TNF- $\alpha$  일배체형에 대한 분석 및 TNF- $\alpha$  유전자와 HLA 유전자의 연관성에 대한 분석을 위해서는 maximum likelihood 방법을 사용하였는데, 제11차 국제조직 적합성위크샵에서 개발된 전산프로그램(20)을 이용하여 TNF- $\alpha$  대립유전자 빈도, TNF- $\alpha$  일배체형 빈도 및 연쇄 불평형 값, 그리고 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도 및 연쇄 불평형 값 등을 분석하였다. 각각의 HLA 유전자와 TNF- $\alpha$  일배체형이 연결되어 구성되는 2-유전자좌 일배체형의 유의성은 상기 전산프로그램으로 chi-square value를 계산하여 검정하였다.

1 2 3 4 5 6 7 8 9



**Figure 1.** SSCP profiles of PCR products containing TNF- $\alpha$  -1,031T/C SNP site. Lane 1: reference DNA of TC type=lanes 3 and 4, Lane 2: reference DNA of TT type=lanes 5-8, Lane 9: reference DNA of CC type.

**결 과**

**TNF- $\alpha$  대립유전자 빈도.** 107명에서의 검사 결과 TNF- $\alpha$  promoter 5개 부위의 SNP 다형성 중 TNF- $\alpha$  고생산형 (high-producer type)으로 알려져 있는 -1,031C, -863A, -857T, -308A, -238A 대립유전자 빈도는 각각 19.3%, 15.9%, 14.0%, 5.9%, 2.9%이었다(Table I). 한국인의 TNF- $\alpha$  고생산형 대립유전자의 빈도는 대체로 일본인에서 보고된 것과 유사한 결과였으나 -308A 대립유전자의 경우 5.9%로서 일본인의 1.7%에 비해 비교적 고빈도로 존재하였다(11).

**TNF- $\alpha$  5개 유전자좌의 일배체형 분포.** 한국인에서 관찰된 TNF- $\alpha$  5-유전자좌 일배체형(-1,031/-863/-857/-308/-238)은 TCCGG (58.4%), CACGG (14.8%), TCTGG (13.7%), TCCAG (5.3%), CCCGA (3.1%) 등 5종이었으며 이들 5종이 전체 일배체형의 95% 이상을 차지하였다 (Table II). 이중 가장 높은 빈도를 보인 일배체형은 5개 유전자좌가 모두 TNF- $\alpha$  저생산형으로 구성된 TCCGG로서 58% 정도를 차지하였고, 1개 유전자좌가 고생산형으로 이루어진 TCTGG와 TCCAG가 전체 일배체형의 19%를 차지하였다. 한편 2개 유전자좌가 고생산형으로 이루어진 CACGG와 CCCGA 역시 전체 일배체형의 18% 정도를 차지하였는데, 이들 2종의 일배체형은 상대적으로 높은 연쇄불평형 값을 보였다. 한편 일본인에서는 보고된 바 없는 CCCGG와 TACGG 등의 일배체형이 각각 2명과 1명에서 관찰되었다(일배체형 빈도 각각 0.9%, 0.5%).

**TNF- $\alpha$  일배체형과 HLA class I, II의 연관성.** TNF- $\alpha$  5-유전자좌 일배체형(-1,031/-863/-857/-308/-238)과 HLA class I 또는 class II 유전자로 이루어지는 2-유전자좌 일배체형의 유의성 검정을 통하여 유의한( $P<0.05$ ) 양성 연쇄불평형을 보이는 일배체형을 규명할 수 있었다(Table III). 이들 중에 강한 연쇄불평형( $P<0.001$ )은 TCCGG와 B62 간에, CACGG와 B51, DRB1\*0901 간에,

**Table I.** Polymorphisms of TNF- $\alpha$  gene in Koreans

Polymorphism	High producer allele	Allele frequency	
		Korean* (n=107)	Japanese† (n=271)
-1,031T/C	-1,031C	19.3%	16.0%
-863C/A	-863A	15.9%	14.0%
-857C/T	-857T	14.0%	17.7%
-308G/A	-308A	5.9%	1.7%
-238G/A	-238A	2.9%	2.0%

\*Present study, † Higuchi et al.(11)

TCTGG와 B35, B54, B59, DRB1\*1201 간에, 그리고 TCCAG와 A33, B58, DRB1\*0301, DRB1\*1302 간에 관찰되었다.

**HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 분포.** HLA-A, B, DR 일배체형과 TNF- $\alpha$  일배체형이 연결되어 이루어진 확장된 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도와 연쇄불평형 값을 Table IV에 제시하였다. 0.9% 이상의 빈도를 보인 일배체형은 총 32종으로 상당히 다양하였으며, 이 중에서 빈도 1% 이상이 15종으로 전체 일배체형의 34%를 차지하였다. 빈도 2% 이상도 8종, 3% 이상도 5종이 있었으며 이들 5종의 가장 흔한 일배체형이 전체 일배체형의 16%를 차지하였다.

**Table II.** Most common 5-locus TNF- $\alpha$  haplotypes (frequency >3%) in Koreans (n=107)

Haplotype* (-1,031/-863/-857/ -308/-238)	Frequency (%)	LD <sup>†</sup> (%)
TCCGG	58.4	10.2
CACGG	14.8	12.6
TCTGG	13.7	5.9
TCCAG	5.3	2.2
CCCGA	3.1	2.7
Total	95.3	

\*High-producer type alleles are in bold, <sup>†</sup> LD: linkage disequilibrium

HLA-A, B, DR 일배체형(자료 미제시)과 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 관계를 보면 두 일배체형의 빈도가 동일하거나 거의 유사하였다. 빈도 0.9% 이상의 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형 총 32종 중 23종의 빈도가 각각 해당하는 HLA 일배체형과 동일한 빈도를 나타내었다(예 A33-B58-TCCAG-DRB1\*1302 3.271%, A33-B58-DRB1\*1302 3.271%). 즉, 각종 HLA-A, B, DR 일배체형은 거의 예외 없이 각각 특정한 TNF- $\alpha$  일배체형과 연관되어 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형을 형성함을 알 수 있었다. 따라서 연쇄불평형 값에 있어서도 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형과 HLA 일배체형이 거의 유사하였고 전자가 후자에 비해 약간 높은 정도였다(예 A33-B58-TCCAG-DRB1\*1302 3.267%, A33-B58-DRB1\*

**Table III.** Significant positive associations between 5-locus TNF- $\alpha$  haplotypes and HLA alleles

Haplotype	Positive association ( $P < 0.05$ ) with*		
	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1*
TCCGG	A11	B7, B13, B46, B52, <b>B62</b>	DRB1*0101, *0406, *1405
CACGG	A26	B44, <b>B51</b> , B61	<b>DRB1*0901</b> , *1501
TCTGG	A2	<b>B35</b> , <b>B54</b> , <b>B59</b>	DRB1*0405, <b>*1201</b>
TCCAG	<b>A33</b>	<b>B58</b>	<b>DRB1*0301</b> , <b>*1302</b>
CCCGA	A2		

\*HLA alleles showing strong positive associations ( $P < 0.001$ ) are in bold.

**Table IV.** HLA/TNF- $\alpha$  haplotypes in Koreans (n=107)

HLA/TNF- $\alpha$ haplotype	HF* (%)	LD <sup>†</sup> (%)	HLA/TNF- $\alpha$ haplotype	HF* (%)	LD <sup>†</sup> (%)
A33-B58-TCCAG-DRB1*1302	3.271	3.267	A32-B44-CACGG-DRB1*0405	0.935	0.934
A24-B52-TCCGG-DRB1*1502	3.271	3.252	A2-B48-CCCGA-DRB1*1201	0.935	0.933
A33-B44-TCCGG-DRB1*1302	3.271	3.216	A24-B39-CACGG-DRB1*0803	0.935	0.932
A24-B7-TCCGG-DRB1*0101	3.271	3.208	A24-B46-TCCAG-DRB1*0803	0.935	0.930
A11-B62-TCCGG-DRB1*0406	3.204	3.152	A31-B51-CACGG-DRB1*1501	0.935	0.929
A30-B13-TCCGG-DRB1*0701	2.804	2.793	A2-B35-TCTGG-DRB1*1101	0.935	0.926
A2-B27-TCCGG-DRB1*0101	2.336	2.278	A26-B62-TCCGG-DRB1*0802	0.935	0.912
A2-B51-CACGG-DRB1*0901	2.243	2.177	A26-B61-TCCGG-DRB1*0901	0.935	0.895
A2-B54-TCCGG-DRB1*1501	1.869	1.823	A2-B46-TCCGG-DRB1*0803	0.935	0.879
A2-B51-TCTGG-DRB1*1201	1.752	1.728	A24-B35-TCCGG-DRB1*1501	0.935	0.876
A33-B58-TCCAG-DRB1*0301	1.402	1.401	A2-B61-TCCGG-DRB1*1405	0.935	0.867
A33-B44-CACGG-DRB1*0701	1.402	1.392	A2-B46-TCCGG-DRB1*0901	0.935	0.824
A2-B61-CACGG-DRB1*0901	1.402	1.364	A24-B61-TCCGG-DRB1*0901	0.935	0.819
A24-B62-TCCGG-DRB1*0406	1.402	1.293	A2-B62-TCCGG-DRB1*0901	0.935	0.677
A2-B62-TCCGG-DRB1*1405	1.402	1.284	A24-B44-TCCGG-DRB1*1302	0.932	0.841
			A33-B7-TCCGG-DRB1*0101	0.926	0.888
			A2-B61-TCCGG-DRB1*1401	0.917	0.880

\*HF: haplotype frequency, <sup>†</sup> LD: linkage disequilibrium

1302 3.209%).

0.9% 이상의 빈도를 보인 총 32종의 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형 중 20종에서 가장 흔한 TNF- $\alpha$  일배체형인 TCCGG와 연결되어 일배체형을 구성함을 알 수 있다. 서양인에서 TNF- $\alpha$  고생산형으로 자가면역질환과 연관성이 알려진 -308A를 포함하는 TCCAG 일배체형은 한국인에서는 A33-B58-DRB1\*1302, A33-B58-DRB1\*0301, A24-B46-DRB1\*0803 등 3종 HLA 일배체형과 특징적으로 연관되어 일배체형을 구성하였다.

## 고 찰

일본인에서 비교적 고빈도로 존재하는 것으로 최근에 알려진 고생산형 TNF- $\alpha$  대립유전자인 -1,031C, -863A, -857T 등의 빈도는 한국인에서 각각 19.3%, 15.9%, 14.0%로서 일본인과는 비슷한 빈도를 보였으며(Table I), 백인에서는 이들 3개 유전자좌의 다형성에 대한 보고가 없어 비교가 어려운 상태이다. -308A 대립유전자 빈도는 미국 백인이나 이태리인에서는 15% 전후의 고빈도로 존재하고(5,9), -238A 대립유전자 빈도 또한 이태리인이나 남아프리카 흑인 등에서 6~9% 전후의 비교적 높은 빈도로 존재하는 것으로 알려져 있다(6,10). 반면, 일본인에서는 -308A와 -238A 대립유전자가 각각 1.7%, 2.0%의 낮은 빈도로 존재하는 것으로 보고되었는데(11), 본 연구 결과에서 한국인에서는 각각 5.9%, 2.9%의 빈도를 나타내어(Table I), 일본인에서와 같이 한국인에서도 -308A와 -238A는 백인이나 흑인에 비해서는 빈도가 상당히 낮은 것을 알 수 있었다. 주목할만한 점은 백인에서 자가면역질환 등과의 연관성이 잘 알려진 -308A 대립유전자의 빈도가 한국인에서는 5.9%로서 일본인의 1.7%보다 비교적 높은 빈도로 존재한다는 점이라 하겠다.

한국인에서 -308A 대립유전자의 빈도는 3.1%(17), 12.2%(18), 91.4%(19) 등으로 상당히 다르게 보고되었다. 이러한 보고 중 -308A 대립유전자 빈도 91.4%(19)는 한국인에 대한 다른 두 보고(3~12%)와 현저한 차이를 보이는데, 아마도 -308G를 -308A로 잘못 보고한 것으로 생각되며 실제로는 8.6%의 -308A 대립유전자 빈도를 보인 것으로 판단된다. 이는 같은 논문에서 스코틀랜드인(21)에 대한 -308G의 빈도(79.3%)를 -308A의 빈도로 잘못 인용한 것으로 보아도 미루어 짐작할 수 있다. 본 연구 결과에서 얻은 5.9%의 -308A 대립유전자 빈도는 전술한 한국인에 대한 보고와 약간의 차이를 보였는데, 이는 각 연구의 분석대상이 충분히 크지 않은 데 기인한 것으로 생각된다.

5-유전자좌 TNF- $\alpha$  일배체형의 분석에서는 5종의 일배체형이 전체 일배체형의 95% 이상을 차지하여 다형성이 심하지는 않은 양상이었다(Table II). TCCGG의 경우 5개 유전자좌 모두 저생산형으로 이루어진 일배체형으

로서 가장 높은 빈도(58.4%)를 보였으나 연쇄불평형 값(10.2%)은 상대적으로 낮은 값을 보였다. 한편, 2개 유전자좌가 고생산형으로 이루어진 CACGG와 CCCGA 일배체형의 빈도는 각각 14.8%, 3.1%인데 연쇄불평형값은 각각 12.6%, 2.7%로서 상대적으로 강한 연쇄불평형을 보였다. 이러한 한국인의 TNF- $\alpha$  일배체형을 일본인에서 보고된 3-유전자좌 일배체형(-1,031/-863/-857)의 분포(12)와 비교한 결과 일배체형의 종류와 분포는 일본인에서 보고된 바와 대체로 유사한 양상을 보였다. 한편, 본 연구의 결과 한국인에서는 일본인에서 알려지지 않은 5-유전자좌 TNF- $\alpha$  일배체형(CCCGG, TACGG)을 소수에서 확인할 수 있었는데, 한국인의 TNF- $\alpha$  일배체형이 일본인에 비해 조금은 더 높은 다형성을 보임을 시사하는 바라 하겠다.

HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 분석 결과 가장 흔한 5종의 일배체형이 전체의 16% 정도를 차지하였는데, 그 분포를 보면 2% 이상 빈도를 보인 일배체형은 8종, 1% 이상 빈도를 보인 일배체형이 15종이었으며, 0.9% 이상 빈도를 보인 일배체형은 총 32종으로 나타나 상당히 심한 다형성을 보였다(Table IV). 일본인에서는 가장 흔한 5종의 일배체형이 전체의 27.8%를 차지하는 것으로 보고되었는데(12), 그 분포를 보면 A33-B44-TCC-DRB1\*1302와 A24-B52-TCC-DRB1\*1502 일배체형이 각각 11.1%와 7.5%로서 주종을 이루고 있으며, 2% 이상 빈도를 보인 일배체형이 5종에 불과하여 한국인에 비해 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형 분포에 있어서 다형성이 덜 심한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 한국인의 TNF- $\alpha$  일배체형의 분포가 일본인과 유사한 점을 고려할 때, 기존에 알려진 바와 같이 HLA 일배체형의 분포에 있어서 한국인이 일본인에 비해 더 심한 다형성을 보이는 것에 기인한 것으로 생각된다. 한편, TNF- $\alpha$  고생산형으로 백인에서 자가면역질환과 연관성이 알려진 -308A 대립유전자의 경우 백인에서는 A1-B8-DR3 일배체형과 연관되어 존재하는 것으로 보고되어 있으나(3), 한국인에서는 -308A를 포함하는 TCCAG 일배체형이 A33-B58-DRB1\*1302, A33-B58-DRB1\*0301, A24-B46-DRB1\*0803 등 3종 일배체형과 연관되어 일배체형을 구성하는 것으로 나타나 차이를 보였다.

HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도와 TNF- $\alpha$ 를 제외한 HLA 일배체형의 빈도를 비교한 결과 대부분의 경우에서 두 일배체형의 빈도가 동일하거나 매우 근접한 값을 나타낼 수 있었다. 즉, 대부분의 경우 TNF- $\alpha$ 와 HLA 유전자 사이에는 교차(crossover) 등과 같은 유전자 재조합(recombination)이 없이 강한 연관관계를 가지면서 특정한 HLA 일배체형은 거의 전적으로 특정한 TNF- $\alpha$  일배체형과 연관되어 확장된 일배체형을 형성하는 양상을 나타내었다. 반면, A2-B51-CACGG-DRB1\*0901, A2-B51-

TCTGG-DRB1\*1201, A2-B61-CACGG-DRB1\*0901 등과 같은 일배체형의 경우에는 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형이 상응하는 HLA 일배체형의 빈도의 75~80% 수준의 낮은 빈도를 보여 이들 HLA 일배체형의 20~25% 정도가 다른 종류의 TNF- $\alpha$ 와 일배체형을 이루는 것을 시사하는 소견이었다.

본 연구를 통하여 한국인의 TNF- $\alpha$  대립유전자 및 TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도를 밝혔으며, HLA 형별검사 자료를 토대로 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형 빈도와 함께 유의한 연쇄불평형을 보이는 일배체형을 제시하였다. 또한 본 연구의 TNF- $\alpha$  대립유전자의 빈도를 다른 인종과 비교하였고, TNF- $\alpha$  일배체형과 HLA/TNF- $\alpha$  일배체형의 빈도를 일본인과 비교하여 유사점과 차이점을 제시하였다. 본 연구의 결과는 향후 한국인에서 TNF- $\alpha$  및 HLA와 질환연관성에 대한 연구와 인류유전학적 연구 등의 분야에서 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- Brennan FM, Feldmann M: Cytokines in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 8;872-877, 1996
- Eigler A, Sinha B, Hartmann G, Endres S: Taming TNF: Strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Immunol Today* 18;487-492, 1997
- Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, van der Putte LB, Duff GW: An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor  $\alpha$  promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J Exp Med* 177;557-560, 1993
- D'Alfonso S, Richiardi PM: A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region. *Immunogenetics* 39;150-154, 1994
- D'Alfonso S, Colombo G, Della Bella S, Scorza R, Momigliano-Richiardi P: Association between polymorphisms in the TNF region and systemic lupus erythematosus in the Italian population. *Tissue Antigens* 47;551-555, 1996
- McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D: Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371;508-510, 1994
- Cabrera M, Shaw MA, Sharples C, Williams H, Castes M, Convit J, Blackwell JM: Polymorphism in tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 182;1259-1264, 1995
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW: Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor  $\alpha$  promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94;3195-3199, 1997
- Wingerchuk D, Liu Q, Sobell J, Sommer S, Weinschenker BG: A population-based case-control study of the tumor necrosis factor alpha-308 polymorphism in multiple sclerosis. *Neurology* 49;626-628, 1997
- Rudwaleit M, Tikly M, Khamashta M, Gibson K, Klinke J, Hughes G, Wordsworth P: Interethnic differences in the association of tumor necrosis factor promoter polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 23;1725-1728, 1996
- Higuchi T, Seki N, Kamizono S, Yamada A, Kimura A, Kato H, Itoh K: Polymorphism of the 5'-flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  gene in Japanese. *Tissue Antigens* 51;605-612, 1998
- Matsushita M, Tsuchiya N, Nakayama T, Ohashi J, Shibue T, Shiota M, Oka T, Yamane A, Tokunaga K: Allele typing of human TNFA 5'-flanking region using polymerase chain reaction-preferential homoduplex formation assay (PCR-PHFA): linkage disequilibrium with HLA class I and class II genes in Japanese. *Tissue Antigens* 54;478-484, 1999
- Rudin CM, Thompson CB: Apoptosis and disease: regulation and clinical relevance of programmed cell death. *Annu Rev Med* 48;267-281, 1997
- Peraldi P, Spiegelman B: TNF- $\alpha$  and insulin resistance: summary and future prospects. *Mol Cell Biochem* 182; 169-175, 1998
- Krueger JM, Fang J, Taishi P, Chen Z, Kushikata T, Gardi J: Sleep. A physiologic role for IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ . *Ann N Y Acad Sci* 856;148-159, 1998
- Hohjoh H, Nakayama T, Ohashi J, Miyagawa T, Tanaka H, Akaza T, Honda Y, Juji T, Tokunaga K: Significant association of a single nucleotide polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) gene promoter with human narcolepsy. *Tissue Antigens* 54;138-145, 1999
- Yea SS, Yang YI, Jang WH, Lee YJ, Bae HS, Paik KH: Association between TNF- $\alpha$  promoter polymorphism and Helicobacter pylori cagA subtype infection. *J Clin Pathol* 54;703-706, 2001
- Park KS, Kim MY, Mok JW: NcoI restriction fragment length polymorphism at -308 of the tumor necrosis factor alpha (TNFA) promoter region in Korean. *Jpn J Hum Genet* 42;241-247, 1997
- Kim HK, Han H, Choi HB, Pyo CW, Kim CC, Kim TG: Distribution of seven polymorphic markers and haplotypes within the human TNF gene cluster in Koreans. *Hum Immunol* 61;1274-1280, 2000
- Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T: Estimation of allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci. In: Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T eds.: HLA 1991 Vol. 1, p76-79, Oxford University Press, 1992
- Gallagher G, Eskdale J, Oh HH, Richards SD, Campbell DA, Field M: Polymorphisms in the TNF gene cluster and MHC serotypes in the west of Scotland. *Immunogenetics* 45;188-194, 1997