

# Leukotrienes C4 synthase와 cysteinyl leukotriene receptor 1 유전자 다형성과 한국 소아 천식 표현형 및 임상 지표와의 연관성 연구

성균관대학교 의과대학 소아과학교실, 한림대학교 의과대학 소아과학교실<sup>†</sup>, 인제대학교 의과대학 소아과학교실<sup>§</sup>  
울산대학교 의과대학 소아과학교실\*, 아산 생명과학연구소<sup>†</sup>

심정연 · 김병주\* · 송영화\* · 강미진<sup>†</sup> · 이소연<sup>†</sup> · 김효빈<sup>§</sup> · 유진호\* · 홍수종\*

## = Abstract =

### Association study of polymorphism in leukotriene C4 synthase and cysteinyl leukotriene receptor 1 genes with phenotype of asthma and clinical parameters in Korean children

Jung Yeon Shim, M.D., Byung-Joo Kim, M.D.\*, Young Hwa Song, M.D.\*, Mi-Jin Kang<sup>†</sup>  
So-Yeon Lee, M.D.<sup>†</sup>, Hyo-Bin Kim, M.D.<sup>§</sup>, Jinho Yu, M.D.\* and Soo-Jong Hong, M.D.\*

Department of Pediatrics, Sungkyunkwan University School of Medicine, University of Hallym College of Medicine<sup>†</sup>  
Inje University<sup>§</sup>, University of Ulsan College of Medicine\*, Asan Institute for Life Science<sup>†</sup>

**Purpose :** Cysteinyl leukotrienes are important proinflammatory mediators in asthma. Recently, it was suggested that a promoter polymorphism in the genes encoding for leukotriene C4 synthase (LTC4S), a key enzyme in the leukotriene synthetic pathway, and cysteinyl leukotriene receptor 1 (CysLTR1) might be associated with aspirin-intolerant asthma. We investigated whether polymorphisms in *LTC4S* and *CysLTR1* genes or their interactions were associated with the asthma phenotype, lung function, or bronchial hyperreactivity (BHR) in Korean children.

**Methods :** A total of 856 asthmatic children and 254 non-asthmatic controls were enrolled; a skin prick test, lung function test and bronchial provocation test were performed. Of those enrolled, 395 children underwent exercise challenge tests. The *LTC4S* A(-444)C and *CysLTR1* T(+927)C were genotyped by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis.

**Results :** Of those enrolled, 699 children were classified as having atopic asthma and 277 children, as having exercise-induced asthma (EIA). *LTC4S* and *CysLTR1* polymorphisms were not associated with atopic asthma, EIA, or asthma per se. Lung function and BHR were not significantly different between the wild type (AA or TT) and the variant (AC+CC or TC+CC) genotypes in asthmatics, atopic asthmatics, and EIA (+) asthmatics, while total eosinophil counts were higher in the variant type of *LTC4S* than in the wild type in atopic asthmatics. There were no associations between the gene-gene interactions of *LTC4S* and *CysLTR1* genotypes and the asthma phenotypes.

**Conclusion :** *LTC4S* A(-444)C and *CysLTR1* T(+927)C polymorphisms and their gene-gene interactions are not associated with asthma phenotype, lung function, or BHR in Korean children. (Korean J Pediatr 2009;52:680-688)

**Key Words :** Exercised-induced asthma, Atopic asthma, Leukotriene C4 synthase, Cysteinyl leukotriene receptor 1, Polymorphism

## 서 론

천식은 기도의 만성 염증성 질환으로 기류 장애와 기관지과민성을 특징으로 한다<sup>1)</sup>. 천식에서 기도의 염증 반응에 관여하는 여러 매개체 중에 류코트리엔(cysteinyl leukotrienes)은 매우 강력한 항염증(proinflammatory) 매개체로 기도평활근의 수축, 점액 분비, 점막 부종, 호중구나 호산구의 기도내 유도에 관여한다<sup>1)</sup>. 류코트리엔의 합성에는 크게 3가지 효소가 관여하는데 5-lipoxygenase (ALOX5), 5-lipoxygenase activating protein (ALOX5AP)

Received : 10 December 2008, Revised : 13 April 2009

Accepted : 22 May 2009

Address for correspondence : Soo-Jong Hong, M.D., Ph.D.

Department of Pediatrics Asan Medical Center University of Ulsan  
College of Medicine, 388-1 Poongnap-Dong, Songpa-Gu, Seoul 138-736,  
Korea

Tel : +82-2-3010-3379, Fax : +82-2-473-3725

E-mail : sjhong@amc.seoul.kr

This study was supported by MSD Academic Awards from the Korean Pediatric Society

와 LTC4 synthase (LTC4S)이다<sup>2)</sup>. 이 중 LTC4S는 주로 호산구와 비만세포의 세포막에서 표현되는 효소로서 LTA4에서 LTC4를 생성하는 과정에 가장 중요한 역할을 한다. LTC4S를 인코딩하는 유전자는 5번 염색체(5q35)에 위치하며, 이는 천식에 관여하는 여러 유전자들(5q31-33)과 가깝다<sup>3)</sup>.

LTC4S 유전자의 -444 bp에서 adenine이 cytosine으로 치환된 것은 처음 아스피린 유발 천식에서 확인되었고<sup>4)</sup>, 이후 LTC4S 다형성은 주로 아스피린 유발 천식을 대상으로 연구되었다. 아스피린 불내성 천식 환자의 기관지 조직 검사에서 LTC4S를 표현하는 세포가 정상인에 비해 증가되어 있고<sup>5)</sup>, LTC4S A(-444)C 유전형이 아스피린 불내성 천식의 76%에서 나온 반면 아스피린 내성 천식과 정상인에서는 42-44%에서만 보고된 것은<sup>4)</sup>, LTC4S 유전자 다형성과 아스피린 불내성 천식과의 연관성을 시사한다.

하지만 이와 반대로 LTC4S 유전자 C-444 allele 다형성과 천식의 표현형이 서로 연관이 없고<sup>6, 7)</sup>, 단지 천식 환자에서 C-444 allele이 있는 경우 1초간 노력성 호기유속(forced expiratory volume in 1 second, FEV<sub>1</sub>)이 더 낮아 천식의 표현형 보다는 폐기능에 관여하는 인자로서의 가능성이 제시되었다<sup>6)</sup>. 이와 다르게 폐기능에서도 운동 유발성 천식, 아토피 천식에서 LTC4S 유전자 다형성이 있는 경우 오히려 운동 유발 후 폐기능 감소율이 적고, 특히 아토피 천식에서 낮은 기관지과민성과 연관이 있음이 보고되어<sup>8)</sup>, LTC4S 유전자 다형성은 보고자마다 상반된 결과를 보였다.

류코트리엔은 크게 2개의 수용체, 즉 cysteinyl leukotriene receptor 1 (CysLTR1)과 cysteinyl leukotriene receptor 2 (CysLTR2)에 작용하는데, 이중 천식의 병태생리와 관련되는 증상은 주로 CysLTR1과 연관이 있다<sup>9)</sup>. 최근 CysLTR1 T(+927) C 다형성과 천식과의 연관성에 대해 몇몇 연구가 진행되어왔는데, LTC4S 다형성과 달리 한국 사람의 아스피린 불내성 천식과는 연관성이 없었고, 운동 유발성 천식에서도 류코트리엔 치료에 따른 반응과의 연관성이 없었다<sup>10, 11)</sup>. 영국인에서는 천식과의 연관성은 없었으나, 아토피의 심한 정도와 연관성이 있어 아토피 중증도를 예측할 수 있는 지표로서의 가능성이 제시되었다<sup>12)</sup>. 하지만 스페인에서 CysLTR1 유전자의 C allele 다형성이 천식과 아토피피부염을 모두 가지고 있는 경우 아토피피부염이 없는 천식 환자나 정상 소아에서 보다 높은 빈도를 보여 인종과 나이, 다른 알레르기 질환의 동반 여부에 따라 차이를 보여주었다<sup>13)</sup>.

LTC4S와 CysLTR1 유전자는 류코트리엔의 합성 및 작용에 매우 중요한 역할을 하는 후보 유전자로 이들 유전자의 다형성은 천식의 표현형 및 폐 기능이나 아토피와 연관이 있을 가능성이 있다. 그러나 지금까지 보고된 연구에 의하면 연구자마다 일관되지 않은 연구 결과를 보여주고 있으며, 특히 이 두 유전자의 동반 다형성에 대한 연구는 거의 없기 때문에<sup>14)</sup>, 한국 소아 천식에서 이들 유전자 다형성과 연관이 있는지 알아보고, 두 유전자 다형성이 상호작용을 하는 지와 실제 IgE농도 및 기관지과민성과 연관이 있는지 확인하고자 본 연구를 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

서울아산병원 소아 알레르기 클리닉에 2004년 9월부터 2007년 10월까지 내원한 856명의 천식 환자와 254 명의 천식이 없는 정상아를 대상으로 하였다. 천식의 진단은 미국 흉부학회의 기준<sup>15)</sup>에 따라, 최근 12개월 이내에 호흡곤란이나 천명의 병력이 있거나, 베타 2 항진제 흡입 후 15% 이상 FEV<sub>1</sub> 수치가 호전되고, 메타콜린 기관지 유발검사서 PC<sub>20</sub> 값이 16 mg/mL 미만인 경우로 정의하였다. 이들 중 알레르기 피부반응(Allergopharma, Reinbek, Germany) 검사 상 16개의 흔한 흡입항원 및 식품항원 (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, cat, dog, mugwort, grass, ragweed, alder, oak, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternate*, *Blatella germanica*, milk, soybean, egg white, peanut) 중 하나 이상에서 3 mm 이상의 팽진이 보이거나 6종(*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, cat, dog, mugwort, *Alternaria alternate*)의 형광효소면역분석법에 의한 ImmunoCAP System (Phadia AB, Uppsala, Sweden) 검사상 특이 IgE 수치가 0.35 kU/L 이상인 경우 아토피 천식으로 분류하였다<sup>16)</sup>. 아토피 천식은 699명, 비아토피 천식은 157명이었다. 정상 대조군은 천식의 과거력이 없으면서 비아토피성이고, 정상 폐기능과 기관지과민성이 없는 경우(PC<sub>20</sub> ≥16 mg/mL)로 정의하였다. 천식 환자 중 표준화된 운동 유발성 검사<sup>8)</sup>를 시행한 395 명 중 운동 후 FEV<sub>1</sub>이 15% 이상 감소한 환자를 운동유발성 천식(exercise-induced asthma, EIA)이라 정의하였고<sup>8)</sup>, 운동유발성 천식 환자는 277명, 운동유발성 천식이 없는 경우가 118명이었다.

혈청 총IgE는 ImmunoCAP을 이용하여 측정하였고, 총호산구수는 automatic blood-cell counter (XE-100, Sysmex Co., Kobe, Japan)를 이용하여 측정하였다; 정상치, 총 IgE <100 IU/mL, 총호산구수 <250/μL.

아토피 천식에서 비아토피 천식 및 대조군에 비해 FEV<sub>1</sub>, forced expiratory flow in 25-75% (FEF<sub>25-75%</sub>), LogPC<sub>20</sub> 값이 낮았고, 총IgE 농도, 총호산구수가 의미있게 증가되었다. 운동유발성 천식 환자에서 운동유발성 천식이 없는 환자에 비해 낮은 FEV<sub>1</sub>, FEF<sub>25-75%</sub>, LogPC<sub>20</sub> 값과 유의하게 높은 총IgE 농도, 총호산구수를 나타내었다(Table 1).

이 연구는 서울아산병원 윤리위원회 심의를 통과하였고, 부모의 동의를 받은 후 시행되었다.

### 2. 운동 유발 검사

운동 유발 검사는 7월 중순부터 11월 초순까지 오후 3시에서 5시 사이에 시행되었다. 표준화된 운동 유발 검사 방법에 따라, 환아들을 8분간 야외에서 구강호흡을 하며, 심박수가 나이에 따

**Table 1.** Demographics of the Total Study Population

Clinical parameter	Control (n=254)	Asthma (N=856)			
		Atopic (n=699)	Nonatopic (n=157)	EIA (+) (n=277)	EIA (-) (n=118)
Sex (M/F)	144/110	462/237	89/68	180/97	81/37
Age (years)	10.10±2.92	9.15±2.70*	8.42±2.81	9.71±2.41	9.94±2.65
LogTEC (/ $\mu$ L)	2.17±0.33	2.63±0.34*	2.33±0.35	2.65±0.33 <sup>†</sup>	2.46±0.39
Log total IgE (IU/mL)	1.53±0.50	2.48±0.48*	1.67±0.53	2.42±0.54 <sup>†</sup>	2.25±0.58
FEV <sub>1</sub> (%)	90.01±13.90	85.19±13.64*	89.04±14.90	84.43±13.78 <sup>†</sup>	87.38±12.69
FVC (%)	90.91±12.14	90.76±11.99	91.88±12.95	91.74±12.55	90.94±12.40
FEF <sub>25-75%</sub> (%)	96.48±22.22	79.02±24.40*	84.62±25.15	75.20±22.94 <sup>†</sup>	84.33±22.22
LogPC <sub>20</sub> (mg/mL)	1.38±0.10	0.34±0.52 <sup>†</sup>	0.55±0.51	0.23±0.55 <sup>†</sup>	0.57±0.56
Max. % fall in FEV <sub>1</sub> (%)	9.17±8.41	25.79±17.47*	18.95±13.93	33.37±15.63 <sup>†</sup>	8.19±3.93

\**P*<0.05 vs. Nonatopic asthma; <sup>†</sup>*P*<0.05 vs. EIA(-)  
Abbreviation : EIA, exercise-induced asthma

른 최대 심박수의 80%에 도달할 때까지 자유달리기를 하게 한 뒤, 운동유발 검사 직전, 운동 유발 검사 직후 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60분에 FEV<sub>1</sub>을 측정하였고, 운동유발 후 FEV<sub>1</sub>의 최대 감소율(maximum % fall in FEV<sub>1</sub> after exercise)은 {(운동 전 FEV<sub>1</sub>-운동 후 FEV<sub>1</sub>)/운동 전 FEV<sub>1</sub>}×100으로 계산하였다. 이 검사는 실외 온도 19±5°C, 습도 57±12%에서 시행되었고, 검사 전 FEV<sub>1</sub>이 예측치의 80% 이상인 천식 환아에서만 시행하였다. 최근 4주 이내 호흡기 감염을 앓았거나, 피부반응검사에서 꽃가루 알레르기가 나온 경우 운동유발검사 대상에서 제외하였다. 폐기능은 표준화된 spirometer (Microspiro HI-298, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

### 3. 폐기능 및 메타콜린 기관지 유발 검사

폐기능은 V<sub>MAX</sub>22 (Sensor Medics, Anaheim, CA, USA) 를 사용하였고, forced vital capacity (FVC), FEV<sub>1</sub>, FEF<sub>25-75%</sub>를 각각 측정하였다.

메타콜린 기관지 유발 검사는 전에 기술한 바와 같이<sup>11, 17)</sup> 메타콜린(Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 용액을 0.625 mg/mL 부터 시작하여 두 배씩 증량시키며 25 mg/mL 의 농도 까지 흡입시켰다. 각 농도 흡입 후 1분과 3분에 FEV<sub>1</sub>을 측정하여 흡입 전에 비해 FEV<sub>1</sub> 값이 20% 이상 감소하였을 때의 메타콜린 용액 농도를 PC<sub>20</sub>로 나타내었다. PC<sub>20</sub> <16 mg/mL일 때 기관지과민성이 있다고 하였고, 기관지과민성의 정도를 3단계 (PC<sub>20</sub> ≤1.4 mg/mL, 1.4 mg/mL <PC<sub>20</sub> ≤4.0 mg/mL, PC<sub>20</sub> >4 mg/mL)로 나누어 기관지과민성의 정도와 유전자 다형성과의 연관성을 알아보았다.

### 4. LTC4S 와 CysLTR1 유전자형 검사

환아들의 혈액에서 G-DEX II kit (Intron, Seoul, Korea)를 사용하여 genomic DNA를 분리하였다. 유전자다형성은 polymerase chain reaction (PCR)과 함께 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 방법으로 분석하였다. Fragments는 30 ng

genomic DNA와 1.875 mM의 dNTP, 1×PCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.25 mM MgCl<sub>2</sub>), 5 pmol의 각 프라이머(primer)와 0.5 units의 AmpliTaq Gold Taq polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 15  $\mu$ L의 혼합물을 만들어 증폭시켰다. Thermocycling conditions은 Gene-Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Norwalk, CT, USA)을 이용하여 먼저 95°C에서 12분간 denaturation을 하고, 95°C 30초, LTCS4 -444A/C는 60°C, CysLTR1 +927T/C는 55°C에서 1분 30초, 72°C에서 40초를 35회 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 5분간 확장시켰다. 3  $\mu$ L의 PCR 생성물은 1.5-2%의 아가로스 겔에서 확인하였다. PCR-RFLP 분석에 있어서 LTCS4 -444A/C는 primer로 5'-GCT GTG TGT GAA GGC GAG C-3'와 5'-TAC AAC TAC TAA GGC TGG CA-3'를 사용하여 증폭하였고, 제한효소로는 10 U *Msp* I (Promega, Madison, WI, USA)를 사용하였다. CysLTR1 +927T/C는 primer로 5'-CTC TCC TAT ATT TCT TTT CTG G-3'와 5'-CTA TAC TTT ACA TAT TTC TTC TCC-3'를 사용하여 시행한 후 여기에 제한효소 5 U *Hpy*188 I (New England BioLabs, Boston, MA, USA)를 처리하였다. 이후 LTCS4 -444A/C는 3% 아가로스 겔, CysLTR1 +927T/C 다형성은 2.5% 아가로스 겔에서 전기영동을 실시하였다.

LTC4S -444A allele은 388, 201 bp 조각으로 분리되었고, -444C allele은 388, 169, 32 bp 조각으로 분리되었다. CysLTR1 927T allele은 140 bp 조각이 있을 때 확인되었고, 927C allele은 97, 53 bp 조각으로 분리되었다(Fig. 1). RFLP 데이터를 검증하기 위해 대상군 중 20명의 DNA를 무작위로 뽑아 DNA sequencing을 시행하였는데, 모두 RFLP 결과와 일치하였다.

### 5. 통계처리

통계는 윈도우용 SPSS 12.0 버전(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였고, 모든 데이터는 평균 표준편차로 나타내었다. 각 군에서 폐기능, IgE, 총 호산구수의 평균값 비교는 T-test

와 ANOVA로 하였고, Post Hoc test로 Bonferroni 검사를 시행하였다. 각 유전자와 천식 간의 연관성을 보기 위해 나이와 성별을 보정하여 다중선형회귀 분석을 시행하였다. 모든 결과는  $P$  값이  $<0.05$ 일 때 통계적으로 의미 있다고 하였다.

**결 과**

**1. 유전자 다형성과 아토피 천식과의 연관성**

LTC4S A(-444)C의 변종형 유전자형 (AC+CC) 빈도는 아토피 천식에서 32.33%, 비아토피 천식에서 33.76%로 대조군 (33.07 %)과 차이를 보이지 않았다. AC 유전자형과 CC 유전자형이 아토피 및 비아토피 천식과 연관이 있는지 보기 위해 다중선형회귀분석을 시행하였으나 이들과의 연관성이 없었다.

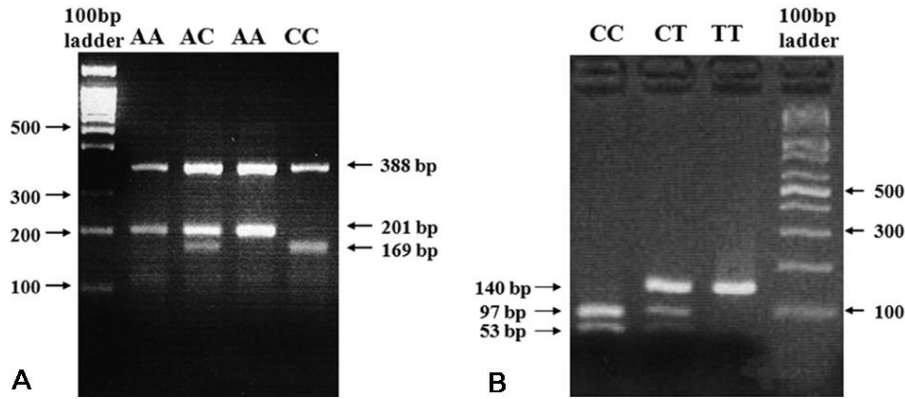
CysLTR1의 C allele 빈도도 아토피 천식(0.28), 비아토피 천식(0.31), 대조군(0.28) 간에 의미 있는 차이가 없었다. 변종형 유

전자형(TC/CC)이 모두 아토피 천식 및 비아토피 천식과 연관성이 없어서 CysLTR1 유전자 다형성이 아토피에 따른 천식의 표현형에 미치는 영향이 없음을 알 수 있었다(Table 2).

**2. 유전자 다형성과 운동유발성 천식과의 연관성**

LTC4S -444C allele 빈도는 운동유발성 천식 (0.18), 비운동유발성 천식(0.20) 및 대조군(0.18)에서 차이를 보이지 않았다. LTC4S 유전자 다형성의 빈도가 비운동유발성 천식에서 38.98%로 대조군(33.07%), 운동유발성 천식(33.21%) 보다 높은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다.

CysLTR1 +927C allele 빈도도 운동유발성 천식(0.29)과 비운동유발성 천식(0.26), 대조군(0.28)간에 의미있는 차이는 없었다. 변종형 유전자형(TC+CC)의 빈도가 비운동유발성 천식 (34.75 %)에서 운동유발성 천식(39.71%) 및 대조군(40.16%)에 비해 낮은 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다(Table 3).



**Fig. 1.** Analysis of the genotypes of (A) LTC4S and (B) CysLTR1 polymorphisms by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method.

**Table 2.** Allelic Frequencies of the LTC4S and CysLTR1 Polymorphisms in Atopic Asthmatics, Non-atopic Asthmatics, and Normal Controls

Genotype	Control N (%)	Atopic asthma		Non-atopic asthma	
		N (%)	aOR(95% CI)	N (%)	aOR(95% CI)
<b>LTC4S -444A/C</b>					
AA	170 (66.93)	473 (67.67)	1.00	104 (66.24)	1.00
AC	78 (30.71)	210 (30.04)	0.97 (0.71-1.33)	49 (31.21)	1.03 (0.67-1.59)
CC	6 ( 2.36)	16 ( 2.29)	0.96 (0.37-2.49)	4 ( 2.55)	1.09 (0.30-3.95)
AC+CC	84 (33.07)	226 (32.33)	0.97 (0.71-1.32)	53 (33.76)	1.03 (0.68-1.57)
Frequency (A)	0.82	0.83		0.82	
<b>CysLTR1 927T/C</b>					
TT	152 (59.84)	430 (61.52)	1.00	94 (59.87)	1.00
TC	60 (23.62)	149 (21.32)	0.88 (0.62-1.25)	30 (19.11)	0.81 (0.49-1.35)
CC	42 (16.54)	120 (17.17)	1.01 (0.68-1.50)	33 (21.02)	1.27 (0.75-2.14)
TC+CC	102 (40.16)	269 (38.48)	0.93 (0.69-1.25)	63 (40.13)	1.00 (0.67-1.50)
Frequency (T)	0.72	0.72		0.69	

Adjusted odds ratio (aOR) by age and sex. Logistic regression analysis was performed

**Table 3.** Allelic Frequencies of the *LTC4S* and *CysLTR1* Polymorphisms in EIA (+), EIA (-), and Normal Controls

Genotype	Control N (%)	EIA (+)		EIA (-)	
		N (%)	aOR(95% CI)	N (%)	aOR(95% CI)
<b>LTC4S -444A/C</b>					
AA	170 (66.93)	185 (66.79)	1.00	72 (61.02)	1.00
AC	78 (30.71)	83 (29.96)	0.98 (0.68-1.42)	44 (37.29)	1.33 (0.84-2.11)
CC	6 ( 2.36)	9 ( 3.25)	1.38 (0.48-3.96)	2 ( 1.69)	0.79 (0.16-4.01)
AC+CC	84 (33.07)	92 (33.21)	1.01 (0.70-1.45)	46 (38.98)	1.29 (0.82-2.03)
Frequency (A)	0.82	0.82		0.80	
<b>CysLTR1 927T/C</b>					
TT	152 (59.84)	167 (60.29)	1.00	77 (65.25)	1.00
TC	60 (23.62)	58 (20.94)	0.88 (0.58-1.34)	21 (17.80)	0.69 (0.39-1.22)
CC	42 (16.54)	52 (18.77)	1.13 (0.71-1.79)	20 (16.95)	0.94 (0.521.71)
TC+CC	102 (40.16)	110 (39.71)	0.98 (0.69-1.39)	41 (34.75)	0.79 (0.50-1.24)
Frequency (T)	0.72	0.71		0.74	

Adjusted odds ratio (aOR) by age and sex. Logistic regression analysis was performed

**Table 4.** Clinical Parameters According to Genotype of *LTC4S* and *CysLTR1* in Asthmatics, Atopic Asthmatics, and EIA (+)

Clinical parameters	All asthmatics		Atopic asthmatics		EIA	
	AA	AC+CC	AA	AC+CC	AA	AC+CC
<b>LTC4S -444A/C</b>						
LogTEC ( $\mu$ L)	2.57±0.38	2.61±0.33	2.62±0.36	2.67±0.30*	2.65±0.34	2.64±0.32
Log total IgE (IU/mL)	2.34±0.58	2.34±0.60	2.48±0.48	2.50±0.50	2.45±0.52	2.37±0.56
FEV <sub>1</sub> (%)	85.86±14.42	85.97±13.00	85.18±14.00	85.23±12.92	84.35±14.28	84.58±12.79
FVC (%)	91.15±12.4	90.58±11.65	90.91±12.15	90.46±11.70	92.04±12.81	91.16±12.07
FEF <sub>25-75%</sub> (%)	79.38±24.88	81.31±24.08	78.53±24.69	80.02±23.84	74.23±22.46	77.07±23.87
LogPC <sub>20</sub> (mg/mL)	0.38±0.57	0.41±0.45	0.32±0.57	0.40±0.44	0.20±0.61	0.29±0.42
Max.% fall in FEV <sub>1</sub> (%)	26.03±17.60	22.81±16.27	26.70±17.79	23.98±16.74	34.54±15.82	31.02±15.06
<b>CysLTR1 927T/C</b>						
	TT	TC+CC	TT	TC+CC	TT	TC+CC
LogTEC ( $\mu$ L)	2.59±0.35	2.57±0.38	2.64±0.33	2.62±0.37	2.65±0.33	2.65±0.35
Log total IgE (IU/mL)	2.32±0.60	2.37±0.56	2.47±0.49	2.51±0.48	2.41±0.53	2.43±0.55
FEV <sub>1</sub> (%)	86.58±13.88	84.80±14.03	85.89±13.55	84.05±13.76	85.59±13.67	82.69±13.82
FVC (%)	91.09±12.13	90.76±12.28	90.92±11.88	90.50±12.21	92.11±12.22	91.19±13.08
FEF <sub>25-75%</sub> (%)	80.65±24.38	79.03±25.00	79.74±24.09	77.85±24.92	77.22±24.11	72.22±20.87
LogPC <sub>20</sub> (mg/mL)	0.39±0.50	0.38±0.58	0.35±0.51	0.34±0.56	0.24±0.46	0.22±0.66
Max.% fall in FEV <sub>1</sub> (%)	24.36±17.26	25.77±17.12	25.39±17.54	26.43±17.40	33.28±15.59	33.50±15.76

\*P=0.04 vs. AA genotype in atopic asthmatics

Data for each genotype are expressed as mean ± standard deviation

### 3. LTC4S A(-444)C와 CysLTR1 T(+927)C유전자 다형성에 따른 임상 지표들의 비교

LTC4S의 -444C allele이 천식에서 임상적 지표에 영향을 미치는지 보기 위해 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식 환자에서 야생형 유전자형(AA)과 변종형 유전자형(AC+CC)간에 총호산구수, 총IgE 농도, 폐기능, LogPC<sub>20</sub>, 운동유발 후 최대 FEV<sub>1</sub> 감소율을 비교해보았다. 아토피 천식에서 혈중 총호산구 농도가 변종형 대립유전자가 있는 경우 야생형 대립유전자에 비해 의미 있게 높았다(P=0.04). FEF<sub>25-75%</sub>, LogPC<sub>20</sub> 값은 아토피 천식과 운동유발성 천식에서 변종형 대립유전자가 있는 경우 더 높았고, 운동유발 후 최대 FEV<sub>1</sub> 감소율도 변종형 대립유전자가 있는 경우 낮아서, LTC4S 유전자 다형성이 폐기능과 기관지과

민성을 보호해주는 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다.

CysLTR1 +927C allele에 따른 총호산구수, 총IgE 농도, 폐기능, LogPC<sub>20</sub>, 운동유발 후 폐기능 감소율을 각 천식 군에서 비교했을 때에도 CysLTR1의 변종형 대립유전자와 야생형 대립유전자 간에 통계적 차이는 없었다(Table 4).

### 4. LTC4S 유전자와 CysLTR1 유전자의 상호작용 (gene-gene interaction)

LTC4S 유전자와 CysLTR1 유전자의 상호작용이 천식의 표현형에 영향을 미치는지 보기 위해, 각 유전자의 유전자형을 서로 조합하여 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과의 연관성을 조사하였다. 즉 두 유전자 모두 야생형 유전자형(AA/TT)만 있는 경우를 group I, CysLTR1에 대한 변종형 대립유전자(AA/

**Table 5.** Combined Group Frequencies of the LTC4S and CysLTR1 Polymorphisms in Asthmatics, Atopic Asthmatics and EIA (+)

Groups*	Control N (%)	Asthma		Atopic asthma		EIA (+)	
		N (%)	aOR (95% CI)	N (%)	aOR (95% CI)	N (%)	aOR (95% CI)
I	104 (40.94)	352 (41.12)	1.00	292 (41.77)	1.00	110 (39.71)	1.00
II	66 (25.98)	225 (26.29)	1.01 (0.71-1.43)	181 (25.89)	0.98 (0.68-1.40)	75 (27.08)	1.07 (0.70-1.64)
III	48 (18.90)	172 (20.09)	1.06 (0.721-1.56)	138 (19.74)	1.02 (0.69-1.52)	57 (20.58)	1.12 (0.70-1.79)
IV	36 (14.17)	107 (12.50)	0.88 (0.57-1.36)	88 (12.59)	0.87 (0.561-1.36)	35 (12.64)	0.92 (0.54-1.57)

\* Groups, combined genotypes of LTC4S and CysLTR1

I: LTC4S (AA)/CysLTR1 (TT)

II: LTC4S (AA)/CysLTR1 (TC+CC)

III: LTC4S (AC+AC)/CysLTR1 (TT)

IV: LTC4S (AC+AC)/CysLTR1 (TC+CC)

Abbreviation : aOR, adjusted odds ratio by age and sex. Logistic regression analysis was perform

**Table 6.** Combined Group Effects of the LTC4S and CysLTR1 Polymorphisms in Asthmatics, Atopic Asthmatics and EIA (+)

Clinical parameters	LTC4S and CysLTR1			
	I	II	III	IV
Total asthma				
Log TEC (/ $\mu$ L)	2.57±0.36	2.57±0.40	2.63±0.33	2.57±0.34
Log total IgE (IU/mL)	2.31±0.60	2.37±0.54	2.33±0.60	2.36±0.60
FEV <sub>1</sub> (%)	86.74±14.28	84.47±14.56	86.26±13.08	85.47±12.91
FVC (%)	91.23±12.45	91.04±12.46	90.81±11.51	90.19±11.93
FEF <sub>25-75%</sub> (%)	80.79±24.02	77.19±26.08	80.38±25.15	82.89±22.22
Log PC <sub>20</sub> (mg/mL)	0.39±0.54	0.35±0.61	0.40±0.43	0.42±0.50
Max.% fall in FEV <sub>1</sub> (%)	25.82±17.44	26.33±17.90	21.95±16.74	24.52±15.31

Data for each genotype are expressed as mean±standard deviation.

\*Groups, combined genotypes of LTC4S and CysLTR1

I: LTC4S (AA)/CysLTR1 (TT)

II: LTC4S (AA)/CysLTR1 (TC+CC)

III: LTC4S (AC+AC)/CysLTR1 (TT)

IV: LTC4S (AC+AC)/CysLTR1 (TC+CC)

CT+CC)만 갖는 경우를 group II, LTC4S에 대한 변종형 대립 유전자(AC+CC/TT)만 갖는 경우를 group III, CysLTR1과 LTC4S에 대한 변종형 대립유전자(AC+CC/CT+CC)를 모두 갖는 경우 group IV로 하였다. 전체 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식에서 group II, III, IV의 오즈비가 group I과 의미 있는 차이를 보이지 않아서 이들 유전자의 상호작용이 천식의 표현형과 연관이 없음을 알 수 있었다(Table 5).

LTC4S 유전자와 CysLTR1 유전자 상호작용이 혈중 총호산구수, 총IgE 농도, 폐기능, LogPC<sub>20</sub>, 운동유발 후 폐기능 감소율에 영향을 미치는지 확인한 결과, 천식 환아에서 group II에서 FEV<sub>1</sub>, FEF<sub>25-75%</sub>, LogPC<sub>20</sub> 값이 낮은 경향을 보였으나 통계적 차이는 없었다(Table 6).

### 5. 유전자 다형성과 기관지과민성과의 연관성

기관지 천식 환아를 기관지과민성을 나타내는 PC<sub>20</sub> 값에 따라 3단계로 나누어 각 단계별로 LTC4S -444C allele과 CysLTR1 +927C allele 유전자 다형성 빈도를 대조군과 비교하였으나, 대조군과 기관지과민성의 심한 정도에 따라 나눈 천식군 간에 유전

자 다형성의 빈도 차이는 없었다. 기관지과민성에 따른 천식의 각 군에서도 LTC4S -444C allele 혹은 CysLTR1 +927C allele 오즈비가 야생형 대립유전자(AA, TT)에 비해 의미 있는 차이가 없었다(Table 7).

## 고 찰

본 연구 결과, LTC4S A(-444)C 다형성은 한국 소아 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과 연관성이 없음을 보여주었다. 더구나 천식의 표현형뿐만 아니라 폐기능이나 기관지과민성, 총 IgE, 총호산구수와도 연관성이 없었다. 유전자 다형성은 인종 또는 민족에 따른 차이를 보인다<sup>18)</sup>. 지금까지 LTC4S -444C 다형성과 천식과의 연관성에 대한 연구도, 대상 민족과 천식의 표현형에 따라 서로 다른 결과를 보였다. 즉, 백인 천식 환자를 대상으로 한 연구에서는<sup>6)</sup> 본 연구와 같이 LTC4S A(-444)C 다형성과 천식, 아토피, 총IgE와의 연관성은 없었다. 그러나 기관지과민성에 대해서는 PC<sub>20</sub> ≤4 mg/mL인 경우와 약한 연관성을 보였고, 대상군 수가 작기는 하지만 영국에서 심한 천식 환자를 대

**Table 7.** Association between the LTC4S and CysLTR1 Polymorphisms and Severity of Bronchial Hyperresponsiveness to Methacholine in Korean Children with Asthma

Genotype	Control N (%)	Asthma					
		PC <sub>20</sub> * >4.0		4.0 ≥ PC <sub>20</sub> >1.4		PC <sub>20</sub> ≤ 1.4	
		N (%)	aOR (95% CI)	N (%)	aOR (95% CI)	N (%)	aOR (95% CI)
<b>LTC4S -444A/C</b>							
AA	170 (66.93)	182 (68.42)	1.00	180 (67.42)	1.00	173 (65.53)	1.00
AC	78 (30.71)	77 (28.95)	0.92 (0.63-1.34)	80 (29.96)	0.97 (0.67-1.41)	86 (32.58)	1.08 (0.74-1.57)
CC	6 (2.36)	7 ( 2.63)	1.09 (0.36-3.31)	7 ( 2.62)	1.10 (0.36-3.34)	5 ( 1.89)	0.82 (0.25-2.74)
AC+CC	84 (33.07)	84 (31.58)	0.93 (0.64-1.34)	87 (32.58)	0.98 (0.68-1.41)	91 (34.47)	1.06 (0.74-1.53)
Frequency (A)	0.82	0.83		0.82		0.82	
<b>CysLTR1 927T/C</b>							
TT	152 (59.84)	162 (60.90)	1.00	164 (61.42)	1.00	162 (61.36)	
TC	60 (23.62)	56 (21.05)	0.88 (0.57-1.35)	54 (20.22)	0.83 (0.54-1.27)	53 (20.08)	0.83 (0.54-1.28)
CC	42 (16.54)	48 (18.05)	1.07 (0.67-1.71)	49 (18.35)	1.08 (0.68-1.72)	49 (18.56)	1.09 (0.68-1.74)
TC+CC	102 (40.16)	104 (39.10)	0.96 (0.68-1.36)	103 (38.58)	0.94 (0.66-1.34)	102 (38.64)	0.94 (0.66-1.34)
Frequency (T)	0.72	0.71		0.72		0.71	

\*PC<sub>20</sub>, methacholine concentration (mg/mL) to provoke a 20% fall in FEV<sub>1</sub>

상으로 한 연구에서도<sup>19)</sup> LTC4S A(-444)C 다형성이 심한 천식 환자에서 정상인에 비해 더 많은 빈도로 나타났으며, 유전자 다형성이 있는 경우 LTC4S 를 분비하는 호산구 수와 소변의 LTE4 분비가 증가하고 류코트리엔 수용체 길항제 투여 후 폐기능이 더 많이 호전되었다. 그러나 본 연구에서는 기관지과민성에 따른 LTC4S A(-444)C 및 CysLTR1 T(+927)C 다형성과의 연관성이 없어서 다른 외국의 연구와는 상반된 결과를 보였다. 콜롬비아인에서는 LTC4S A(-444)C 다형성이 천식과의 연관성은 없었지만, 아토피가 있는 사람에서는 CC 유전자형이 *Dermatophagoides pteronyssinus*에 대한 IgE 항체 농도 감소와 연관성이 있는 것으로 나타났다<sup>20)</sup>. 그러나 본 연구에서는 총IgE 농도와 연관성이 없었다.

호주의 백인 천식 환자를 대상으로 한 연구에서 LTC4S 유전자 다형성은 천식 자체와는 약한 연관성을 보이나, 천식의 중증도와 연관성이 없었고 아스피린 불내성 천식과도 연관성이 없었다<sup>21)</sup>. 또한 일본인 중등증 천식 환자에서 LTC4S C(-444) allele 보인자의 경우 A(-444) allele 만 있는 경우보다 류코트리엔 수용체 길항제에 대해 폐기능이 더 좋아졌으나, 중등증 천식과 LTC4S A(-444)C 다형성 간에 연관성이 없고, 천식의 중증도와도 연관성이 없었다<sup>22)</sup>. 미국의 백인 천식 환자를 대상으로 한 연구에서도 LTC4S A(-444)C 다형성과 아스피린 불내성 천식, 아스피린 내성 천식과의 연관성이 없었다<sup>7)</sup>.

LTC4S A(-444)C 와 운동유발성 천식에 대한 연구는 별로 보고된 바가 없다. 운동유발성 천식에서 류코트리엔 분비가 많아지고, 류코트리엔 수용체 길항제가 운동유발성 천식의 증상을 호전시킨다는 사실은 운동유발성 천식의 병태생리에 류코트리엔이 깊이 관여함을 알 수 있게 해준다. 이번 연구에서 운동유발성 천식 환자들은 총IgE, 총호산구수가 운동유발성 천식이 없는 환아

들에 비해 더 높았고, FEV<sub>1</sub>, FEF<sub>25-75%</sub>, LogPC<sub>20</sub> 값이 더 낮아서, 운동유발성 천식 환자들이 중증도가 심한 아토피 천식 환자들로 구성되어 있음을 알 수 있다. 본 연구에서는 영국의 심한 천식 환자들을 대상으로 했던 연구<sup>19)</sup> 결과와 달리 LTC4S A(-444)C 다형성과 중증도가 큰 운동유발성 천식간에 연관성을 보이지 않았다. 그러나 이전에 보고된 한국의 운동유발성 천식 환자를 대상으로 한 연구에서는 이번 연구 결과와 달리 LTC4S 유전자의 AC 유전자형은 AA 유전자형에 비해 운동유발 후 최대 FEV<sub>1</sub> 감소를 낮추어, C allele 이 있는 경우 운동유발성 천식의 중증도에 영향을 줄 수 있음을 시사하였다<sup>8)</sup>. 또한 아토피 천식에서는 LTC4S A(-444)C 다형성이 있는 경우 기관지과민성이 감소하여 C allele이 폐기능과 기관지과민성을 보호하는 인자로 작용할 가능성을 시사하였다<sup>8)</sup>. 그러나 본 연구는 LTC4S 유전자 다형성을 보았던 연구 중 가장 많은 대상군 수를 포함하고 있어 이전의 연구들에 비해 의미하는 바가 더 크다고 할 수 있다. 또 다른 연구로, 한국 소아 운동유발성 천식에서 LTC4S A(-444)C 다형성 에 따라 montelukast 치료에 대한 반응을 살펴본 결과 서로 간에 연관성이 없는 것으로 나타났다<sup>11)</sup>. 이상의 결과로 미루어 한국 소아에서 LTC4S A(-444)C 다형성은 천식 및 운동유발성 천식의 발생 또는 아토피 및 기관지과민성의 중증도와는 관련이 없음을 시사한다.

이렇게 유전자 다형성에 관한 연구마다 차이를 보이는 이유는 인종이 다른 것도 있지만 대상군의 수와 보고자 했던 천식의 표현형이 다르고, 천식의 표현형을 선정하는 기준이 연구자마다 다른 것에 기인하는 것으로 생각된다. 본 연구에서 CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성은 소아 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과 모두 연관성이 없는 것으로 나타났다. CysLTR1은 G-단백결합 막전위(transmembrane) 수용체로서 주로 기도 평활근

세포, 호산구, 대식세포에서 발견되고, 아라키돈산 대사산물인 류코트리엔과 결합하여 혈관투과성의 증가, 점액생성, 염증세포의 동원, 기도평활근의 수축 등 천식의 병태생리에 매우 중요한 역할을 한다. 류코트리엔은 LTD4>LTC4>LTE4 순으로 CysLTR1과 결합을 하는데, 류코트리엔은 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식 환자의 기도에서 모두 증가되어 CysLTR1 유전자 다형성이 천식의 표현형 및 기관지과민성이나 폐기능과 연관이 있을 가능성이 제기되었다<sup>1)</sup>.

CysLTR1 유전자는 X 염색체(Xq13-21)에 위치하는 것으로 확인되었고, 최근 927T->C의 다형성이 발견된 이후 주로 아스피린 불내성 천식에서 연구되었다<sup>9, 10)</sup>. 한국의 아스피린 불내성인 천식 환자를 대상으로 CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성을 조사하였는데, 아스피린 불내성 천식과의 연관성이 없었고<sup>10)</sup>, 일본의 아토피 천식과 알레르기 비염 소아를 대상으로 한 연구에서도 CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성과의 연관성이 없었다<sup>23)</sup>. 하지만 스페인의 백인 소아를 대상으로 한 연구에서는 천식과 아토피피부염이 모두 있는 남아에서 C allele 빈도가 정상인이나 아토피피부염이 없는 천식 소아보다 더 높게 나왔다<sup>13)</sup>. 이 연구에서 흥미롭게도 여자에서는 이런 연관성이 없어서 유전자 다형성이 인종 뿐 아니라 성별에 따른 차이를 보이고, 천식과 동반된 다른 알레르기 질환에 의해서도 영향을 받을 수 있었다. 반면 영국의 백인 천식 가족을 대상으로 한 연구에서는 927 T allele이 여자에서 아토피 중증도 점수와 연관성을 보였으나 남자에서는 연관성이 없었고, 천식과의 연관성은 남녀 모두에서 없었으며, 폐기능, 기관지과민성, 총IgE 수치와도 연관성이 없어 본 연구에서와 비슷한 결과를 보여주었다<sup>12)</sup>.

이번 연구에서 유전자-유전자 상호작용에 의한 연관성을 보기 위해 LTC4S A(-444)C 유전자형과 CysLTR1 T(+927)C 유전자형을 조합하여 천식과의 연관성을 조사하였다. 그러나 유전자 각각의 결과와 마찬가지로 유전자-유전자 상호 작용이 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과의 연관성이 없어서, 이들 유전자 -444 bp와 +927 bp의 염기 치환은 천식의 표현형과 폐기능에 중요한 유전체 산물을 생성하는데 주된 역할을 하는 것으로 생각되지 않는다. 다른 유전자-유전자 상호 작용과 천식의 연관성에 관한 연구는 스페인에서 백인 천식 환자를 대상으로 한 것으로 LTC4S A(-444)C 유전자형과 CysLTR1 T(+927)C 유전자형을 조합해보았을 때 남자 천식 환자에서 CysLTR1 927 C allele과 LTC4S -444 A allele의 조합이 많았으나 통계적인 의미는 없었다<sup>14)</sup>. 본 연구에서도 성별에 따른 차이를 보이지는 않았다.

본 연구는 지금까지의 LTC4S A(-444)C, CysLTR1 T(+927) C 유전자형과 천식과의 연관성을 보는 연구 중에서 가장 많은 천식 환자를 대상으로 했고, 특히 지금까지 거의 연구가 되지 않았던 운동유발성 천식과의 연관성을 조사했다는 점과 두 유전자의 상호 작용과 천식과의 연관성을 보았다는 점에서 의미가 있다. 하지만 본 연구의 제한점으로 각 유전자에서 하나씩의 single nucleotide polymorphism (SNP)만을 본 점, 대상군의

수가 LTC4S A(-444)C, CysLTR1 T(+927)C 유전자형 다형성을 본 연구들 중에서는 가장 많으나 향후 수가 더 많으면 좋겠고, 특히 운동유발성 천식 환자 군의 수가 적었다는 점 등이다.

결론적으로 LTC4S A(-444)C, CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성은 천식과 연관성이 없고, 폐기능이나 기관지과민성, 총IgE, 총 호산구수 와도 연관성이 없어 천식 표현형을 예측하거나 중증도를 반영하지는 않을 것으로 생각된다. 아마도 천식은 하나의 유전자에 의해 나타나는 질병이 아니라 여러 유전자의 상호 작용과 환경적 요소가 복합적으로 작용하여 나타나기 때문으로 생각되며, 향후 천식에 관여하는 여러 후보 유전자를 대상으로 유전자 다형성 연구가 필요하다고 생각된다.

## 요 약

**목적** : 류코트리엔은 천식의 병태생리에 중요한 항염증 매개체이며, 천식이나 운동유발성 천식에서 증가되어 있다. Leukotriene C4 synthase (LTC4S)의 A(-444)C 유전자 다형성과 cysteinyl leukotriene receptor 1 (CysLTR1) T(+927)C 유전자 다형성이 한국 소아의 천식, 아토피 천식 및 운동유발성 천식과 연관이 있는지 알아보고, 폐기능, 기관지과민성, 총IgE 치에 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

**방법** : 총 856명의 천식 환자와 254명의 천식이 없는 정상아를 대상으로 하여 피부반응검사, 폐기능, 메타콜린 기관지 유발검사, 총 IgE 검사를 실시하였고, 천식 환자를 아토피 천식(699명), 운동유발성 천식(277명)으로 나누어 유전자 다형성과의 연관성을 조사하였다. LTC4S A(-444)C, CysLTR1 T(+927)C 유전자형은 PCR-restriction fragment length polymorphism 방법으로 분석하였다.

**결과** : LTC4S A(-444)C 및 CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성은 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과의 연관성이 없었고, 폐기능, PC<sub>20</sub>, 총IgE에도 차이를 보이지 않았다. 아토피 천식에서 총 호산구수는 변종형 LTC4S 유전자형에서 야생형 보다 높았다. LTC4S A(-444)C와 CysLTR1 T(+927)C의 유전자-유전자 상호 작용도 천식, 아토피 천식, 운동유발성 천식과의 연관이 없었다.

**결론** : 한국 소아 천식의 표현형, 폐기능, 기관지과민성, 총IgE 농도는 LTC4S A(-444)C와 CysLTR1 T(+927)C 유전자 다형성, 혹은 유전자-유전자 상호작용과 연관이 없는 것으로 생각된다.

## References

- 1) Crowther SD, Rees PJ. Current treatment of asthma--focus on leukotrienes. *Expert Opin Pharmacother* 2000;1:1021-40.
- 2) Sayers I, Barton 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.
- 3) Bigby TD, Hodulik CR, Arden KC, Fu L. Molecular cloning of the human leukotriene C4 synthase gene and assignment to chromosome 5q35. *Mol Med* 1996;2:637-46.
  - 4) Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997;350:1599-600.
  - 5) Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, *et al.* Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest* 1998; 101:834-46.
  - 6) Sayers I, Barton S, Rorke S, Beghe B, Hayward B, Van Eerdeghe 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.
  - 7) 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.
  - 8) Kim HB, Lee SY, Shim JY, Kim JH, Kang MJ, Hong SJ. The leukotriene C4 synthase (A-444C) promoter polymorphism is associated with the severity of exercise-induced asthma in Korean children. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1191-2.
  - 9) Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM, *et al.* Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature* 1999;399:789-93.
  - 10) 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.
  - 11) Lee SY, Kim HB, Kim JH, Kim BS, Kang MJ, Jang SO, *et al.* Responsiveness to montelukast is associated with bronchial hyperresponsiveness and total immunoglobulin E but not polymorphisms in the leukotriene C4 synthase and cysteinyl leukotriene receptor 1 genes in Korean children with exercise-induced asthma (EIA). *Clin Exp Allergy* 2007;37:1487-93.
  - 12) Hao L, Sayers I, Cakebread JA, Barton SJ, Beghe B, Holgate ST, *et al.* The cysteinyl-leukotriene type 1 receptor polymorphism 927T/C is associated with atopy severity but not with asthma. *Clin Exp Allergy* 2006;36:735-41.
  - 13) Arriba-Mendez S, Sanz C, Isidoro-Garcia M, Davild I, Laffond E, Horeno E, *et al.* 927T>C polymorphism of the cysteinyl-leukotriene type-1 receptor (CYSLTR1) gene in children with asthma and atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:323-8.
  - 14) Sanz C, Isidro-Garcia M, Davila I, Moreno E, Laffond E, Lorente F. Analysis of 927T> C CYSLTR1 and -444A > C LTC4S polymorphisms in patients with asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006;16:331-7.
  - 15) Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:225-44.
  - 16) Joseph-Bowen J, de Klerk N, Holt PG, Sly PD. Relationship of asthma, atopy, and bronchial responsiveness to serum eosinophil cationic proteins in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1040-5.
  - 17) Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, *et al.* Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309-29.
  - 18) Garcia-Martin E. Interethnic and intraethnic variability of NAT2 single nucleotide polymorphisms. *Curr Drug Metab* 2008;9:487-97.
  - 19) Sampson AP, Siddiqui S, Buchanan D, Howarth PH, Holgate ST, Holloway JW, *et al.* Variant LTC(4) synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response to zafirlukast. *Thorax* 2000;55 Suppl 2:S28-31.
  - 20) Acevedo N, Vergara C, Mercado D, Jiménez S, Caraballo L. The A-444C polymorphism of leukotriene C4 synthase gene is associated with IgE antibodies to Dermatophagoides pteronyssinus in a Colombian population. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:505-7.
  - 21) 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.
  - 22) Asano K, Shiomi T, Hasegawa N, Nakamura H, Kudo H, Matsuzaki T, *et al.* Leukotriene C4 synthase gene A(-444)C polymorphism and clinical response to a CYS-LT(1) antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics* 2002;12:565-70.
  - 23) Zhang J, Migita O, Koga M, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E. Determination of structure and transcriptional regulation of CYSLTR1 and an association study with asthma and rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:242-9.