

## 크론병의 유전학적 병인론; 중앙괴사인자-알파 유전자 다형성

경희대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>내과학교실, <sup>2</sup>병리학교실

이길연 · 김효종<sup>1</sup> · 지성길<sup>2</sup> · 오수명 · 윤 총 · 이기형

### Polymorphisms of the 5'-Flanking Region of the Human Tumor Necrosis Factor-alpha Gene in Korean Patients with Crohn's Disease

Kil-Yeon Lee, M.D., Hyo-Jong Kim, M.D.<sup>1</sup>, Sung-Gil Chi, Ph.D.<sup>2</sup>, Soo-Myung Oh, M.D., Choong Yoon, M.D., Kee-Hyung Lee, M.D.

Departments of Surgery, <sup>1</sup>Internal Medicine and <sup>2</sup>Pathology, Kyung Hee University Hospital, Seoul, Korea

**Purpose:** Recently, a key role of tumor necrosis factor (TNF) in the development of inflammatory bowel disease (IBD), especially Crohn's disease (CD), has emerged. In Japan, 3 single base pair polymorphisms in the 5'-flanking region of the TNF- $\alpha$  gene at position -1031, -863, and -857, which are related to high transcriptional promoter activity, have been identified in the Japanese CD patients. And the polymorphisms of the TNF- $\alpha$  gene at position -308, -238 have been reported in western CD patients. So, in order to find the same polymorphisms in Korean population and CD patients, the author evaluate the patients diagnosed with CD, ulcerative colitis (UC) and healthy controls (HCs).

**Methods:** Blood samples were obtained from 70 patients with CD, 72 patients with UC and 52 healthy controls. Polymorphisms in the TNF- $\alpha$  gene at their respective positions were analyzed by single strand conformational polymorphism (SSCP), and allele frequencies in CD & UC patients were compared with those in healthy controls.

**Results:** Allele frequencies of -1031C, -863A, and -857T in health controls were 18.3%, 8.7%, and 19.2%, respectively. Polymorphic allele frequencies of -1031C, -863A, -857T were 22.9%, 27.1%, and 24.3% in CD patients respectively. The frequencies at all 3 positions were higher in CD patients than in HCs. However, the frequency at -863A was statistically significant (P=0.000). The allele frequencies of -308A and 238A alleles were 0.7% and

3.6% in CD, 0.7% and 2.1% in UC, and 1.9% and 4.8% in HCs, respectively. The allele frequency of -1031C was significantly higher in B3 than in B2 (P=0.033).

**Conclusions:** Polymorphisms of 5'-flanking region of the TNF- $\alpha$  at positions -1031 (T/C), 863 (C/A) and -857 (C/T) may be associated with susceptibility of CD. *J Korean Soc Coloproctol* 2002;18:163-171

**Key Words:** TNF- $\alpha$  gene, Polymorphism, Crohn's disease (CD), Korea

중앙괴사인자-알파 유전자, 다형성, 크론병, 한국

### 서 론

최근 염증성 장질환(크론병 및 궤양성 대장염)에 대한 병인론 및 치료방법의 괄목할 만한 발전에도 불구하고 그 원인은 아직까지 명확하게 밝혀져 있지 않다. 환경적, 가족적, 그리고 유전적 요인 등 여러 원인들이 제안되고 있으며 유전적 요인과 환경적 요인간의 상호작용에 의한 다요인적 병인론이 일반적으로 받아들여지고 있다.

최근 분자생물학적 기술의 발달로 인해 염증성 장질환, 특히 크론병의 병인론에 있어서 유전학적 감수성(susceptibility)의 중요성이 발견되고 있다. 크론병의 유전적 성향은 역학적 조사에서 처음 제기되었다.<sup>1</sup> 염증성 장질환의 가계 내 집단발생은 몇몇 연구에서 잘 보고되었다.<sup>2,5</sup> 염증성 장질환을 가진 환자에 있어서 가족력은 6~20%에서 보이고 염증성 장질환 환자의 일차친척들(first degree relatives)은 일반인들보다 10에서 15배 정도의 상대적 위험도를 가진다. 보다 믿을 만한 데이터는 쌍생아 연구에서 보고되었는 바, 고전적인 쌍생아 연구에서 이란성에 비해 일란성 쌍생아에서 일치율(concordance rate)이 높게 나타난 것이다. 스웨덴에서 시행한 연구 결과 크론병을 가진 쌍생아에서 궤양성 대장염을 가진 쌍생아보다 일치율이 높아 궤양성 대장염에서보다 크론병에서 유전적 영향을 많이 받는다고 생각된다.<sup>6</sup> 크론병의 1.0이나 되는 높은 유전지수(heritable index)는 환경적 요인을 교

책임저자: 이기형, 서울시 동대문구 회기동 1번지  
경희대학교 부속병원 외과(우편번호: 130-702)  
Tel: 02-958-8266, Fax: 02-966-9366  
E-mail: keehlee@chollian.net

본 논문은 제53차 대한외과학회 추계통합학술대회에서 구연되었음.

정한 후에도 높은 수치를 유지했다. 영국에서의 보고에서도 이란성 쌍생아보다 일란성 쌍생아에서 그 일치율이 의미 있게 높았다.<sup>7</sup> 이를 종합하여 볼 때 크론병의 유전적 경향을 알 수 있다.

한편, 염증성 장질환, 특히 크론병의 병인론 연구에 있어 종양괴사인자의 핵심적 역할이 밝혀지고 있다. 종양괴사인자는 원래 체외에서 종양세포를 사멸시키는 능력이 있고 쥐에서 이식된 종양의 출혈성 괴사를 가져오는 단백질로 기술되었다.<sup>8</sup> 종양괴사인자는 발열, 쇼크, 조직 손상, 종양괴사, 식욕부진, 타면역조절물질의 유도, 세포 증식, 분화, 그리고 세포사멸 등 아주 다양한 장기 및 세포 수준에서의 반응을 일으킨다.<sup>9</sup> 또한 종양괴사인자의 병리학적 역할이 자가면역질환, 이식편대숙주병(graft versus host disease), 류마치스성 관절염, 그리고 크론병 등 많은 만성 질환에 연관되어 있음이 밝혀지고 있다.<sup>10</sup> 최근 크론병에서 중요한 친염증성 매개체로서 종양괴사인자-알파의 중요한 역할이 대두됨에 따라 종양괴사인자-알파를 목표로 하는 여러 치료방법이 개발되고 있다.<sup>11</sup>

따라서 이런 크론병의 유전적 경향과 종양괴사인자-알파의 병리적 역할을 고려해 볼 때 종양괴사인자-알파 유전자와 크론병의 연관성을 유추해 볼 수 있겠다. 실제로 1998년 Higuchi 등<sup>12</sup>의 일본인을 대상으로 한 연구에서 종양괴사인자-알파 유전자의 5'-flanking 부위에서 -1031 위치에서 T가 C로 대체된 -1031C, -863 위치에서 C가 A로 대체된 -863A, -857 위치에서 C가 T로 대체된 -857T 등의 다형성이 새롭게 발견되었고, 그 후 1999년 Negoro 등<sup>13</sup>은 크론병이 이들 다형성과 연관되어 있음을 보고하였다. 한편 서구의 크론병 환자에서는 종양괴사인자-알파 유전자의 같은 부위에서 -308A와 -288A 등의 일본과는 다른 다형성이 보고되고 있다.<sup>14-18</sup> 따라서 한국인의 염증성 장질환 환자에 있어서 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성에 대해 조사해 보고자 본 연구를 시행하였다.

## 방 법

### 1) 연구대상

1998년 5월부터 2000년 1월까지 경희대학교 부속병원에서 진단된 70명의 크론병 환자와 72명의 궤양성 대장염 환자의 혈액 2 ml를 채취하였다. 건강 대조군은 의과대학 학생과 병원 직원 중에서 자원하는 52명으로 하였고 동량의 혈액을 채취하였다. 모든 환자와 건강 대조군에 대하여 종양괴사인자-알파 유전자의 5'-flanking 부위에 있는 -1031, -863, -857의 세 위치에 대해 분석하였

다. 크론병과 궤양성 대장염의 진단은 임상 증상과 내시경적, 방사선학적, 그리고 조직학적 소견을 기준으로 하였다.

### 2) Genomic DNA의 추출

표준방법으로 림프구에서 genomic DNA를 추출하였다. 즉, 혈액 내 림프구를 1 M KCl, 1 M MgCl<sub>2</sub>, 100% Tween 20, 100% Nonidet P-40, and 2.5µg/ml proteinase K가 포함된 추출 완충액(buffer)에 55°C에서 한 시간 동안 방치(incubate)한다. Proteinase K는 95°C에서 10분간 가열함으로써 비활성화시키고 genomic DNA를 포함하고 있는 부유액을 -20°C에서 저장하였다. 추출된 DNA의 농도는 분광광도계(Schimidzu Scientific Instruments, Inc., Concord, CA)로 측정하였다.

### 3) 종합효소 연쇄반응(PCR, polymerase chain reaction) 증폭

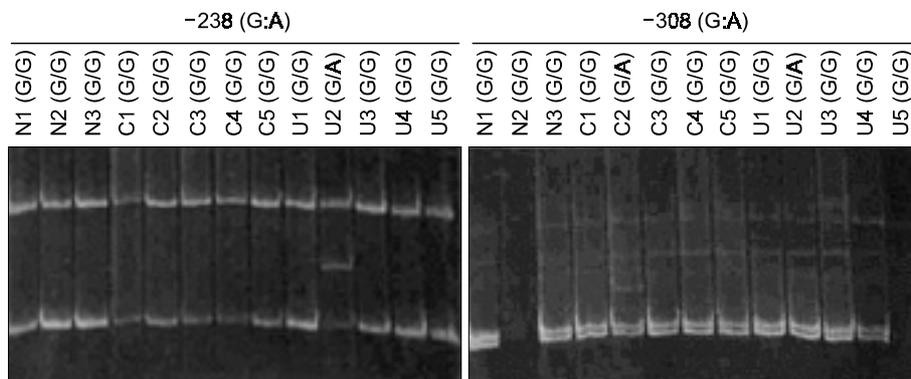
종양괴사인자-알파 유전자의 5'-flanking 부위의 다형성을 찾기 위하여 비방사성 지능 종합효소 연쇄반응-단일쇄 형태변환 다형성 분석(nonisotopic genomic PCR-SSCP analysis)을 사용하였다. Table 1에 있는 시발체(primer)를 이용하여 다형성이 있는 5부위를 증폭하였다. PCR은 200 ng의 genomic DNA를 template로 95°C (1 min), 60°C (0.5 min), 그리고 72°C (1 min)에서 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>-containing reaction buffer (PCR buffer II, Perkin Elmer-Cetus)를 사용하여 38회(cycles)를 시행하였다. PCR 생성물 10µl를 ethidium bromide (0.5 g/ml of 1×TBE)에 염색된 2% 한천 겔(agarose gel)에 용해시켜 자외선하에서 사진촬영을 하였다.

### 4) PCR-SSCP analysis

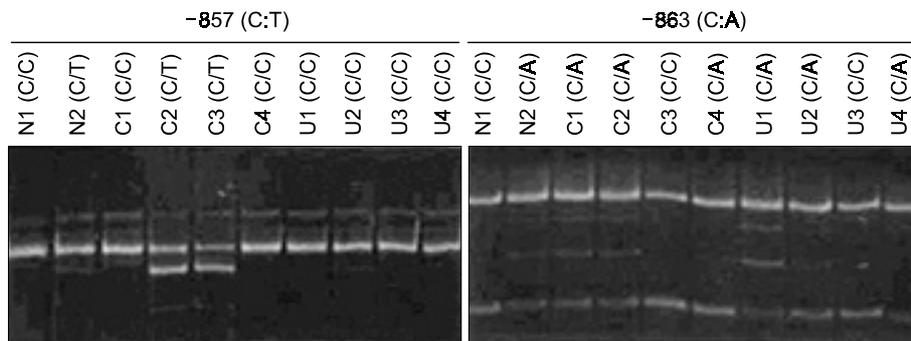
PCR 생성물 20µl를 5µl의 0.5 N Na OH, 10 mM EDTA 그리고 10µl의 denaturing loading buffer (95% formamide, 20 mM EDTA, 0.05% bromphenol blue, 그리고 0.05% xylene cyanol)를 혼합하였다. 95°C에서 5분간 가열한 뒤 각각 미리 4°C로 냉각된 well에 재빨리 sample을 loading 시키고 10% glycerol이 포함된 것과 되지 않은 두 개의 8% nondenaturing polyacrylamide 겔을 동시에 running하였다. 이 두 겔은 18~20°C에서 전기영동하였고 6~10°C에서 buffer-jacketed gel apparatus (DGGE-II; Aladin Enterprises, Inc., San Francisco, CA)에 다시 전기영동하였다. 460 볼트에서 4시간 전기영동 한 후 겔을 ethidium bromide로 염색하고 자외선하에서 사진촬영을 하였다.

**Table 1.** Oligonucleotide primers used for genomic PCR (All sequences are listed 5' to 3')

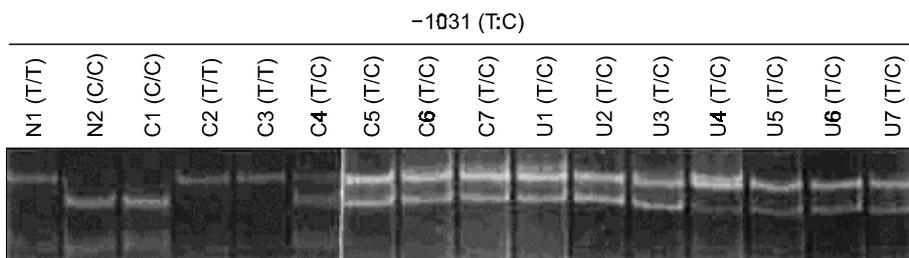
Primer	Polymorphism	Sequences	Orientation
TNF-1	-238	TTCAGCCTCCAGGGTCTAC	Sense
TNF-2		CCTTGGTGGAGAAACCCATG	Antisense
TNF-3	-308	CTCAGGACTCAACACAGCTT	Sense
TNF-4		CTTCTGGGCCACTGACTGAT	Antisense
TNF-5	-857	CGAGTATGGGGACCCCACT	Sense
TNF-6		GAGTGAAATCACCCCGGGA	Antisense
TNF-7	-863	GAAGGAAAAGTCAGGGTCT	Sense
TNF-8		TACATGGCCCTGTCTTCGTT	Antisense
TNF-9	-1031	GCTCAAAGGGAGCAAGAGCT	Sense
TNF-10		CTGTAACCCATTCTCAGAG	Antisense



**Fig. 1.** PCR-SSCP analysis for the -238 (G : A) and -308 (G : A) sequence polymorphisms in the TNF- $\alpha$  promoter. The target regions of the TNF- $\alpha$  promoter were amplified by PCR using lymphocyte genomic DNA obtained from normal healthy donor (N), Crohn's disease patients (C), and ulcerative colitis patients (U). Ten  $\mu$ l of PCR products were subjected to nonisotopic SSCP analysis and the gel was stained with ethidium bromide.



**Fig. 2.** PCR-SSCP analysis for the -857 (C : T) and -863 (C : A) sequence polymorphisms in the TNF- $\alpha$  promoter. The target regions of the TNF- $\alpha$  promoter were amplified by PCR using lymphocyte genomic DNA obtained from normal healthy donor (N), Crohn's disease patients (C), and ulcerative colitis patients (U). Ten  $\mu$ l of PCR products were subjected to nonisotopic SSCP analysis and the gel was stained with ethidium bromide.



**Fig. 3.** PCR-SSCP analysis for the -1031 (T : C) sequence polymorphisms in the TNF- $\alpha$  promoter. The target regions of the TNF- $\alpha$  promoter were amplified by PCR using lymphocyte genomic DNA obtained from normal healthy donor (N), Crohn's disease patients (C), and ulcerative colitis patients (U). Ten  $\mu$ l of PCR products were subjected to nonisotopic SSCP analysis and the gel was stained with ethidium bromide.

5) DNA sequencing analysis

상이한 SSCP 양상을 보인 PCR 생성물을 대상으로 염기서열 다형성을 확실히 하기 위해서 DNA sequencing을 하였다. TA cloning kit (Invitrogen, San Diego, CA)을 사용하여 PCR 생성물의 cloning을 하였고 적어도 3 clones가 동일한 SSCP 이상소견을 보인 것을 선택하여 염기서열을 보았다. Sequencing은 양 방향으로 시행하였다(Fig. 1~3).

6) 크론병의 분류

크론병 환자들을 비엔나 분류법, 즉 나이(Age, A1; <40세, A2;  $\geq$ 40세), 병변의 위치(Location, L1; 말단회장, L2; 대장, L3; 회장대장, L4; 상부위장관), 그리고 양상(Behavior, B1; non-stricturing non-penetrating, B2; stricturing, B3; penetrating)에 따라 분류하였다. 또한 크론병 환자들을 항문질환의 동반유무, 스테로이드 치료유무, 시작양상, 장외증상의 유무, 그리고 수술의 기왕력 유무 등으로 분류하였다. 스테로이드 치료는 첫 진단 후 5년 이내에 40 mg/day 이상의 PDL을 필요로 하는 경우로 정의하였고 수술의 기왕력은 진단 후 첫 5년간 누공, 천공이나 협착으로 수술한 경우로 정의하였다.

7) 통계분석

대립유전자의 빈도(allele frequencies)는 변이 대립유전자를 가진 염색체의 백분율로 표현했다. 대립유전자 빈도나 보유자 빈도를 카이제곱 검사와 Fisher's exact test을 이용하여 건강대조군과 비교하였다. 크론병의 임상양상에 따른 각 하위그룹 간의 비교는 카이제곱 검사를 사용하였다. P value 0.05 미만을 통계학적으로 의미 있는 것으로 판정하였으며 연관의 강도를 odds ratio로 강화하였다.

결 과

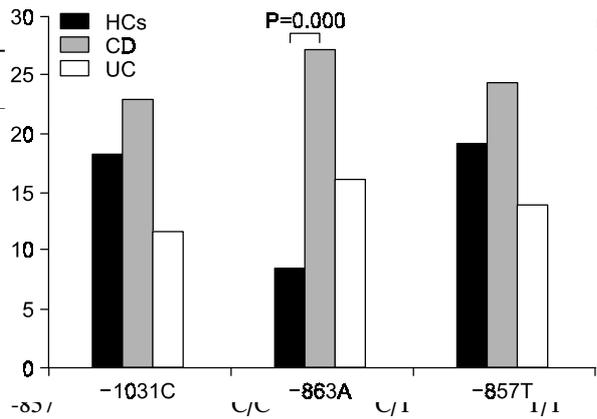
1) 크론병과 궤양성 대장염 환자에서 종양괴사인자-알파 유전자 다형성

Table 2에 종양괴사인자-알파 유전자의 각 위치별 다형성의 유전형(genotype)과 대립유전자 빈도가 요약되어 있다. -308A와 -238A의 빈도는 크론병에서 0.7%와 3.6%, 궤양성 대장염에서 0.7%와 2.1%로 너무 낮아서 크론병의 하위그룹 간의 비교는 시행하지 않았다.

다형성 -1031C, -863A, -857T의 대립유전자 빈도는 크론병에서 22.9%, 27.1%, 24.3%였고 궤양성 대장염에서 11.8%, 16.0%, 13.9%였으며 건강대조군에서는 18.3%, 8.7%, 19.2%였다. 크론병에서 모두 더 높은 빈도를 보였으나 -863A의 대립유전자 빈도만이 통계학적으로 유의하게(P=0.000) 건강대조군보다 높았다(Fig. 4). 그러나 궤양성 대장염 환자의 경우는 건강대조군과 별 차이를 보이지 않았다.

2) 비엔나 분류법에 따른 크론병 하위그룹에서의 종양괴사인자-알파 유전자 다형성

크론병 환자들을 비엔나 분류법, 즉 나이(Age, A1; <40세, A2;  $\geq$ 40세), 병변의 위치(Location, L1; 말단회장, L2; 대장, L3; 회장대장, L4; 상부위장관), 그리고 양상(Behavior, B1; non-stricturing non-penetrating, B2; stricturing, B3; penetrating)에 따라 분류하였다. 결과는 Table 3, 4, 5에 나와 있다. A2 (n=7)나 L1 (n=1)에 속하는 환자수가 대립유전자 빈도를 구하기에는 너무 작았다. -1031C의 빈도가 B2에서보다 B3에서 통계학적으로 유의하게(P=0.033) 높은 것을 제외하곤 통계적 유의성이 발견되지 않았으나 흥미롭게도 B1이나 B2에서보다 B3에서 -1031C, -863A, -857A의 빈도가 더 높게 나타났다.



**Fig. 1.** Allele frequencies of polymorphisms -1031C, -863A and -857T in the 5' flanking region of the TNF gene. The allele frequency of -863A was significantly higher in patients with Crohn's disease (CD) than healthy controls (HCs).  

Normal	50	2	0
CD	69	1	0
UC	71	1	0
-238	G/G	G/A	A/A
Normal	47	5	0
CD	65	5	0
UC	69	3	0

**Table 1.** The genotyping and allele frequencies of TNF polymorphisms in CD subgroups by behavior

Allele frequency (%)	OR*	95% CI†
Position	Genotype	Allele frequency (%)
-1031C	T/T	18.3
Normal (52)	T/C	22.9
B1 (89)	C/C	13.3
B2 (42)	C/C	14
-863A	C/C	19.2
Normal (19)	C/C	24.3
B1 (89)	C/C	13.3
B2 (42)	C/C	14
-857T	T/T	19.2
Normal	T/T	19.2
B1	T/T	19.2
B2	T/T	19.2
B3	T/T	19.2

\*Allele frequency of B3 is significant higher than B2. (odds ratio = 0.197; 95% confidence interval = 0.040~0.977).  
 †All of the above data are not statistically significant.

\*OR = odds ratio; † CI = confidence interval.

3) 그 밖의 분류에 따른 크론병 하위그룹에서의 종양괴사인자-알파 유전자 다형성

크론병 환자들을 항문질환의 동반유무, 스테로이드 치료유무, 시작양상, 장외증상의 유무, 그리고 수술의 기왕력 유무 등으로 분류하였으나 이들 하위그룹들 간의 다형성 빈도의 차이는 없었다. 과거에 수술의 기왕력이 있는 그룹에서 -1031C의 대립유전자 빈도가 더 높게 나타났지만 통계학적으로 유의하지 않았다(P=0.086).

고 찰

크론병 환자의 장점막에서 종양괴사인자-알파의 농도를 측정하여 보면 그 생산이 증가되어 있고 이를 근거로 한 항종양괴사인자 치료가 병의 활성도에 극적인 효과를 보이는 것으로 보고되고 있다.<sup>11,21</sup> 이러한 소견들은 종양괴사인자가 크론병에 어떠한 역할을 한다는 것을 의미한다. 또한 종양괴사인자-알파 유전자에 여러 가지 다형성이 보고되고 있고 이 중 몇 가지는 이미 크론병에서 연구되고 있다.<sup>14,15,22-24</sup> 하지만 그 결과가 서로 일치하지 않아 어떤 연구에서는 크론병과 종양괴사인자-알파 유전자의

다형성이나 haplotypes이 서로 연관이 있는 것으로 보고하고 있으나<sup>13,14,22</sup> 다른 집단을 대상으로 한 연구에서는 이와 다른 결과를 보고하고 있다.<sup>15,23,24</sup> 따라서 저자들은 한국의 염증성 장질환 환자와 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성과의 연관성, 그리고 크론병의 하위그룹에서 종양괴사인자-알파 유전자 다형성이 유전형-표현형 연관성에 관련이 있는지 알아 보고자 본 연구를 시행하였고 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째로, -1031C, -863A, -857T의 대립유전자 빈도가 건강 대조군에서보다 크론병에서 더 높게 나타났다. 하지만 -863A에서만 통계학적으로 유의하게 나타났다. 둘째, -308A, -238A의 빈도가 아주 낮게 나타났다. 셋째, -1031C가 B2에서보다 B3에서 통계적으로 유의하게 그 빈도가 높은 것을 제외하고 유전형-표현형의 특별한 관계는 없었다. 넷째, 비엔나 분류법에 의한 크론병의 분류 양상이 다른 연구와는 다른 결과를 나타냈다.<sup>31</sup> 다섯째, 궤양성 대장염 환자의 경우 크론병 환자나 건강 대조군에서보다 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성이 낮게 나타났다.

한국의 크론병 환자를 대상으로 한 본 연구에서는 -308A와 -238A의 빈도가 아주 낮게 나타났지만 서구에

**Table 5.** The genotype and allele frequencies of TNF polymorphisms in CD subgroups by location

Position	Genotype			Allele frequency (%)
	T/T	T/C	C/C	
-1031				
Normal (52)	36	13	3	18.3
L1 (3)	2	1	0	16.7
L2 (11)	5	6	0	27.3
L3 (32)	17	13	2	26.6
L4 (24)	17	6	1	16.7
-863				
Normal	C/C	C/A	A/A	
	43	9	0	8.7
L1	2	1	0	16.7
L2	4	7	0	31.8
L3	17	12	3	28.1
L4	12	12	0	25
-857				
Normal	C/C	C/T	T/T	
	35	14	3	19.2
L1	2	1	0	16.7
L2	8	2	1	18.2
L3	18	12	2	25
L4	14	7	3	27.1

All of the above data are not statistically significant.

서 발표된 문헌을 보면 그 결과가 일치되지는 않지만 크론병과의 연관이 있는 것으로 보고하고 있다.<sup>14-18</sup> 이렇게 한국과 서구의 결과가 서로 다른 이유를 설명하는 몇 가지 가설이 있다. 하나는 염증성 장질환은 몇 개의 유전자가 여러 환경적 요인들과의 상호작용에 의하여 그 질환의 표현형이 결정되는 복잡한 유전양식을 가지고 있기 때문에 어떤 종족에 있어서 몇몇 다형성이 특수한 환경적 요인과 함께 아주 중요한 역할을 하지만 다른 종족에서는 그렇지 않다는 것이다. 다른 가설은 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성과 크론병과의 연관은 이 다형성과 실제로 크론병을 일으키는 유전자간의 연관불균형(linkage disequilibrium)에 의한 것이라는 생각이다. 종양괴사인자-알파 유전자의 -308 위치의 다형성은 종양괴사인자-알파의 생산에 기능적인 중요성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있어<sup>25-27</sup> -308A가 -308G보다 2배의 전사율을 가지고 있는 것으로 나타났다.<sup>27</sup> 하지만 -308A의 존재가 크론병에 대한 감수성에 의미 있게 연관되어 있지 않다는 보고가 있고,<sup>28</sup> 최근의 몇몇 연구를 보면 종양괴사인자-알파 유전자와 가까운 곳에 위치한 현미부수체 표지자(microsatellite marker)와의 연계(linkage)를 보고하고 있다.<sup>14,29</sup> 이를 종합하여 볼 때, -308A와 -238A 외

의 다른 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성이 크론병의 감수성에 관여할 것으로 생각할 수 있는데, 최근에 종양괴사인자-알파 유전자의 새로운 다형성인 -1031C, -863A, -857T가 크론병의 감수성에 연관이 있다는 연구 결과가 발표되었다.<sup>12</sup> 그리고 Kawasaki 등<sup>30</sup>도 이 세 다형성이 크론병과 연관이 있다는 연구 결과를 발표하였으며 영국에서도 Kinouchi 등<sup>31</sup>이 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성 -1031C가 크론병의 감수성과 관련이 있는 것으로 발표하였다. 비록 본 연구에서는 -863A를 제외하곤 통계학적 유의성이 없었지만 세 다형성의 빈도가 건강대조군보다 크론병 환자에서 더 높게 나타났다. 그러므로 본 연구 역시 종양괴사인자-알파 유전자의 세 다형성이 크론병과 연관이 있음을 다시 한번 시사하고 있는 것이다.

그러나 어떤 연구자들은 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성이 크론병과 직접적으로 연관이 있는 것이 아니라 단지 다른 원인 유전자와의 연관불균형을 나타낸다고 주장하고 있다. 따라서 이런 다형성의 기능적 영향을 직접적으로 밝히는 것이 중요하며 이런 다형성이 크론병과 직접적인 연관이 있다는 몇몇 증거들이 보고되고 있다. 1998년 Higuchi 등<sup>12</sup>은 concanavalin A (Con A)에 의해서 활성화된 말초혈액의 단핵세포가 분비하는 종양괴사인자-알파의 양이 -1031C, -863A나 -857T 대립유전자를 하나라도 갖는 사람에서 그렇지 않은 사람보다 1.8배나 높은 것으로 보고하였다. 더구나 위의 다형성을 가진 사람에서 Con A에 대한 전사능력이 1.7배에서 2.0배나 증가하는 것으로 나타났다.<sup>12</sup> 이런 조건들을 종합하여 볼 때 상기한 다형성이 기능을 하고 있으며 더 높은 종양괴사인자-알파 생산을 통해 크론병의 감수성에 직접적으로 영향을 미치는 것으로 주장하였다.

하지만 저자들의 생각으로는 이러한 전사능력의 증대란 결과만으로는 종양괴사인자-알파 유전자의 다형성이 크론병의 직접적인 원인이라 하기 어렵다고 생각된다. 그 이유는 종양괴사인자-알파의 생산은 전사과정뿐만이 아니라 전사 후의 과정, 그리고 해독(translation)에 의해 조절되기 때문에 전사능력 증가란 한 요인만으로 종양괴사인자-알파의 생산증가를 설명할 수 없기 때문이다. 그러므로 종양괴사인자-알파 유전형, 종양괴사인자-알파 생산, 그리고 질병 간의 상호관계는 아주 복잡하며 종양괴사인자-알파의 생산에 가장 중요한 단계나 유전자를 단정하기란 쉽지 않을 것이다.

크론병과 유전형-표현형 관계의 이질성(heterogeneity)에 관해서는 몇몇 역학적 그리고 임상적인 데이터가 염증성 장질환이 이질성을 보여주고 있으며 가계 연구에

서 보면 같은 가계에서는 이환된 환자의 표현형이 비교적 동일하다는 것을 보고하였다.<sup>2,3</sup> 이런 결과들은 유전적 배경이 질병의 발생뿐만이 아니라 그 표현형에도 영향을 미친다는 것을 의미한다. 질병의 표현형에 관계하는 유전자는 질병을 일으키는 유전자와 다를 수 있다.<sup>17</sup> 6번 염색체 HLA 부위에 있는 중앙괴사인자-알파 유전자는 이런 유전형-표현형 관계를 찾기 위한 좋은 후보 가운데 하나이다. 따라서 여러 임상적 기준에 의한 크론병의 하위 그룹 간의 각 대립유전자의 다형성 빈도의 비교가 반드시 필요하다고 하겠다. 하지만 본 연구에서는 -1031C의 경우 B2보다 B3에서 그 빈도가 높다는 것 외에는 유의할 만한 차이점이 발견되지 않았다.

### 결 론

크론병은 한 가지 원인에 의한 단일 질환이 아니며 따라서 그 발생에 영향을 주는 원인은 여러 가지로 생각된다. 이에 민족적인 차이도 있는 것으로 보여 한국의 크론병 환자들은 서구인들보다 일본의 크론병 환자와 좀 더 유사한 중앙괴사인자-알파 유전자 다형성을 보였다. 즉 중앙괴사인자-알파 유전자의 promoter 부위에 있는 -1031C, -863A, -857T 등의 세 다형성이 크론병에 있어서 그 빈도가 건강 대조군보다 높게 나타났다. 비록 -863A만이 통계적으로 유의한 것으로 나타났지만 한국인에 있어 이 다형성이 크론병의 감수성에 관계하는 것으로 생각된다. 또한 중앙괴사인자-알파 유전자의 유전형은 크론병의 표현형에도 관계가 있어 -1031C가 B3보다 B2와 연관이 있는 것으로 생각된다.

### REFERENCES

1. Satsangi J, Jewell DP, Rosenberg WMC, Bell JI. Genetics of inflammatory bowel diseases. *Gut* 1994;35:696-700.
2. Colombel JF, Grandbastien B, Gower-Rousseau C, Plegat S, Evrard JP, Dupas JL, et al. Clinical characteristics of Crohn's disease in 72 families. *Gastroenterology* 1996; 111:604-7.
3. Bouma G, Poen AC, Gracia-Gonzalez MA, Schreuder GM, Felt-Bersma RJ, Meuwissen SG, et al. HLA-DRB1\*03, but not the TNFA-308 promoter gene polymorphism, confers protection against fistulising Crohn's disease. *Immunogenetics* 1998;47:451-5.
4. Bayless TM, Tokayer AZ, Polito JM II, Quaskey SA, Mellits ED, Harris ML. Crohn's disease: concordance for site and clinical type in affected family members-poten-

- tial hereditary influences. *Gastroenterology* 1996;111: 573-9.
5. Polito JM, Childs B, Mellits ED, Tokaya AZ, Harris ML, Bayless TM. Crohn's disease: influence of age at diagnosis on site and clinical type of disease. *Gastroenterology* 1996;111:580-6.
6. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988; 28:990-6.
7. Thompson NP, Driscoll R, Pounder RE, Wakefield AJ. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of British study. *BMJ* 1996;312:95-6.
8. Bazzoni F, Beutler B. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston: the tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996;334:1717-25.
9. Liu Z, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kB activation prevents cell death. *Cell* 1996;87:565-76.
10. Carballo E, Lai WS, Blackshear PJ. Feedback inhibition of macrophage tumor necrosis factor-production by tristetraprolin. *Science* 1998;281:1001-5.
11. Stack WA, Mann SD, Roy AJ, Heath P, Sopwith M, Freeman J, et al. Randomized controlled trial of CDP571 antibody to tumour necrosis factor-alpha in Crohn's disease. *Lancet* 1997;349:521-4.
12. Higuchi T, Seki N, Kamizono S, Yamada A, Kimura A, Kato H, et al. Polymorphism of the 5'-flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene in Japanese. *Tissue Antigens* 1998;51:605-12.
13. Negoro K, Kinouchi Y, Hiwatashi N, Takahashi S, Takagi S, Satoh J, et al. Crohn's disease is associated with novel polymorphisms in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology* 1999;117: 1062-8.
14. Plevy SE, Targan SR, Yang H, Fernandez D, Rotter JJ, Toyoda H. Tumor necrosis factor microsatellites define a Crohn's disease-associated haplotype on chromosome 6. *Gastroenterology* 1996;110:1053-60.
15. Bouma G, Xia B, Crusius JBA, Bioque G, Koutroubakis I, Von Blomberg BM, et al. Distribution of four polymorphisms in the tumor necrosis factor (TNF) genes in patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1996;103:391-6.
16. Plevy SE, Taylor K, De Woody KL, Schaible TF, Shealy D, Targan SR, et al. Tumor necrosis factor (TNF) microsatellite haplotypes and perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (pANCA) identify Crohn's disease (CD) patients with poor clinical response to anti-TNF monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1997;112:

- A1062.
17. Bouma G, Crusius BA, Garcia-Gonzalez MA, Meijer BU, Hellemans HP, Hakvoort RJ, et al. Genetic markers in clinically well defined patients with ulcerative colitis (UC). *Clin Exp Immunol* 1999;115:294-300.
  18. Louis E, Peeters M, Franchimont L, Seidel L, Fontaine F, Demolin G, et al. Tumor necrosis factor (TNF) gene polymorphism in Crohn's disease (CD): influence on disease behaviour? *Clin Exp Immunol* 2000;119:64-8.
  19. Dionne S, Hiscott J, D'Agata I, Duhaime A, Seidman EG. Quantative PCR analysis of TNF- and IL-1 mRNA levels in pediatric IBD mucosal biopsies. *Dig Dis Sci* 1997;42:1557-66.
  20. Reinecker HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP. Enhanced secretion of tumor necrosis factor-alpha, IL-6 and IL-1 beta by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 1993;94:174-81.
  21. Targan SR, Hanauer SB, Van Deventer SJH, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor for Crohn's disease. *N Engl J Med* 1997;337:1029-35.
  22. Louis E, Satsangi J, Roussomoustakaki M, Parkes M, Fanning G, Welsh K, et al. Cytokine gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 1996;36:705-10.
  23. Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK, Di Giovine FS, McDowell TL, Wilson AG, et al. Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterology* 1994;106:637-42.
  24. Heresbach D, Ababou A, Bourienne A, Alizadeh M, Quelvenec E, Pagenault M, et al. Tumor necrosis factor gene and microsatellite polymorphism in chronic inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin Biol* 1997;21:555-61.
  25. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effect of a polymorphism in the human tumor necrosis factor promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3195-9.
  26. Bouma G, Crusius JBA, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, et al. Secretion of tumor necrosis factor in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 1996;43:456-63.
  27. Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The 308 tumor necrosis factor-promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol* 1997;34:391-9.
  28. Koss K, Satsangi J, Fanning GC, Welsh KI, Jewell DP. Cytokine (TNF, LT and IL-10) polymorphisms in in-

---

flammatory bowel diseases and normal controls: dif-

ferential effects on production and allele frequencies. *Genes Immun* 2000;1:185-90.

29. Yang H, Plevy SE, Taylor K, Tyan D, Fischel-Ghodsian N, McElree C, et al. Linkage of Crohn's disease to the major histocompatibility complex region is detected by multiple non-parametric analyses. *Gut* 1999;44:519-26.
30. Kawasaki A, Tsuchiya N, Hagiwara K, Takazoe M, Tokunaga K. Independent contribution of HLA-DRB1 and TNF promoter polymorphisms to the susceptibility to Crohn's disease. *Genes Immun* 2000;1:351-7.
31. Kinouchi Y, van Simmons J, Heel D, Jewell D. Polymorphism at position 1031 in the TNF gene confers susceptibility to Crohn's disease. *Gut* 2000;46(Suppl. 11): A7 (Abstract)