

사상체질과 아토피성 질환 유전자의 다형성(IL-4 polymorphism)에 관한 연관성 연구

김선형* 김희정* 홍정미* 윤유식* 고병희* 최선미*

Abstract

A study on the correlation between Sasang constitution and IL-4 polymorphism

Kim Sun-hyung* · Kim Hee-jeong* · Hong Jeong-mi* · Yoon Yoo-sik* · Koh Byung-hee* · Choi Sun-mi*

*Korea Institute of Oriental Medicine

Purpose

This study was carried out to investigate the correlation between Sasang constitution and IL-4 polymorphism of Atopy gene.

Methods

1. We have selected 165 cases of DNA samples from individuals with proven history of Atopy symptom and Sasang constitution.

2. The IL-4 589C-T polymorphism was genotyped by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis.

Result

They were divided six groups as the history of atopy and age. There is no group shown statistical correlation in the result of constitutional IL-4 polymorphism typing.

Conclusion

1. In the total groups, IL-4 polymorphism(589C-T change of 5q31-33 position) were noted 0.727 on Soumin, 0.790 on Soyangin and 0.809 on Taeumin. It was larger on Taeumin, but there is no statistical difference between.

2. In the Atopy groups, IL-4 polymorphism(589C-T change of 5q31-33 position) were noted 0.682 on Soyangin, 0.750 on Taeumin and 0.807 on Soumin. It was larger on Soumin, but there is no statistical difference between constitution.

Key Word : atopy, asthma, IL-4 polymorphism, sasang constitution, gene

* 한국한의학연구원

교신저자 : 김선형 (주소) 서울 강남구 청담동 129 한국한의학 연구원 (전화) 02-3442-1994

I. 緒 論

체질간의 상호관계를 유전학적인 도구로서 규명해보려는 노력은 지속적으로 시도되고 있다.

현재 가장 많이 시도되고 있는 방법은 특정 질병이나 질환군을 나타내는 유전자의 다형성을 대상으로, 체질간에 유의성이 있는 가를 살펴보는 방법이다. ACE¹⁾²⁾, β-Π¹⁾, HLA³⁾, MTHFR⁴⁾ 유전자등이 체질간에 연관성 여부가 연구된 유전자들이다.

아토피 질환은 알러지성비염 천식 아토피 피부염등을 광범위하게 포함하고 있는 질환⁵⁾으로 동의수세보원에서 특정체질의 특정 병증을 연관을 언급한 것은 없다. 그러나 한의학적인 피부질환의 원인을 풍열(風熱)이라고 보는 설에 입각하여, 사상체질 중에서도 풍열로 병이 오기 쉬운 체질에서 발병하는 빈도수가 높다고 추정된다. 넓은 범위에서 태음인의 양독 조열병, 소양인의 양독발반 유주단독 등이 그 범위에 속한다. 그러나 임상례가 보고된 것을⁷⁾ 살펴보면 그 이외에 병증에서도 발견된 것을 알 수 있어 다양성이 인정된다. 또한 사상체질과는 매우 다르지만 팔체질이론에 따르면 아토피성 질환은 금양(金陽)이라는 독특한 체질에서만 온다고 단언하기도 한다⁸⁾.

본 연구에서는 유전학에서 아토피성 질환 관계되어서 SNP가 밝혀져 있는 유전자 중 IL-4 5q31-33 위치의 Typing을 통해서 아토피성 질환이 사상체질 중 특정 체질과 연관성이 있는가를 살펴보고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구대상

체질이 감별된 사람으로 아토피성 질환(아토피, 천식, 알러지성비염)의 병력 유무가 확인된 사람 55명

1. 한국한의학연구원 사상체질정보은행 구축 프로그램에 참여한 사상체질정보공여자중에서 QSCCⅡ를 근거로 해서 체질지수가 높은 사람을 약100명씩 연령별로 무작위 추출

2. 연구원에 문진 chart와 전화 설문을 통하여 아토피성 질환의 병력을 확인한 후 병력의 유무가 확인된 사람만을 대상으로 DNA선정 (각 체질별 55명 결정)

성별, 연령별 분포는 아래 표 1과 같다.

표 1. 성별·연령별 분포

나이	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60이상	계
남	3	35	8	6	9	3	64
여	7	51	6	22	14	1	101
계	10	86	14	28	23	4	165
명(%)	(6.1)	(52.1)	(8.5)	(17.0)	(13.9)	(2.4)	(100)

2. 연구 방법

1) 유전자 채취

모든 피험자들을 대상으로 손끝에서 란셋을 이용해 약 200μl의 혈액을 채취하여 준비된 EDTA 용액이 담긴 tube에 넣고 실험시 까지 냉장보관하였다. DNA 추출은 QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 실시하였다. Protease 20μl에 채취한 혈액 200μl를 넣은 후, Lysis buffer 200μl를 첨가하여 잘 혼합한 다음 56℃에서 10분간 반응시킨다. 반응 후 알코올(99.99%) 200μl를 넣고 잘 섞는다. 이를 준비된 QIAamp spin column에 넣고 6000×g에서 1분간 원심분리하여 column에 걸러진 부분만 취한 후 Washing Buffer로 washing한다. 두 번째 washing할 때 20,000×g에서 3분간 원심분리해 Washing buffer에 녹아있는 알코올 성분이 충분히 날아갈 수 있도록 한다. 다시 column에 Elution buffer를 넣고 이를 6000×g에서 1분간 원심분리하여 이를 취하여 냉장 보관하였다.

2. 실험방법

1. IL-4(Interleukin-4) polymorphism 검색법

Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 방법을 사용하였다. PCR 혼합액은 200ng의 분리된 DNA 주형(template)과 IL-4 up, down primer 각각 1pmol, 0.25mM dNTP, 2mM MgCl₂, 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1unit의 Taq DNA polymerase이며 IL-4 gene (GeneBank accession number M23442)의 PCR primers는 Noguchi et al.(1998)을 참조하였다 (5'-TAA ACT TGG GAG AAC ATG GT-3', 5'-TGG GGA AAG ATA GAG TAA TA-3').

이를 중합효소연쇄반응기(GeneAmp PCR system 2700, USA)에 넣고 수행하는데 PCR 조건은 다음과 같다. 95°C에서 5분간 전처리(pre-denaturation)를 하고, 95°C에서 1분간 변성(denaturation), 53°C에서 1분간 결합(annealing)시키며, 72°C에서 1분간 확장(extension)시키는 과정을 35회 반복하고 최종적으로 72°C에서 5분간 확장(last-denaturation)하였다.

PCR 산물 5 μ l를 ethidium bromide가 첨가된 2.5% agarose gel에 전기영동(electrophoresis)하여 band를 확인하여 PCR product가 195bp에서 나타나면 PCR이 제대로 된 것으로 판단하였다. PCR 산물 10 μ l에 AvaII enzyme (Takara Shuzo co., LTD, Japan) 5unit과 10배 반응완충용액을 총용량이 30 μ l 되게끔 혼합시킨 후 37°C 항온수조에 넣고 2시간이상 반응시켰다. 반응후 산물 10 μ l를 ethidium bromide가 첨가된 3% agarose gel에 전기영동하여 band를 확인하였다.

IL-4 유전자의 다형성 판독은 band를 관

찰하여 177bp, 18bp band가 나타나면 CC homozygotes, 195bp, 177bp, 18bp band가 나타나면 CT heterozygotes, 195bp band만 나타나면 TT homozygotes로 판독하였다.

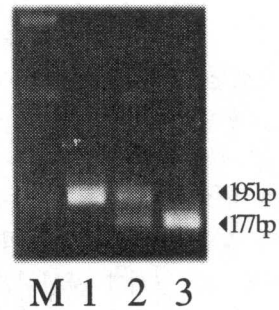


Fig. 1. Detection of [C590T] polymorphism of the IL-4 gene promoter using PCR-RFLP. M=100bp DNA ladder :

lane 1, homozygote for the T allele (TT) ;

lane 2, heterozygote for the wild type allele and the T allele (CT) ;

lane 3, homozygote for the wild type allele (CC)

2. 체질과 IL-4 polymorphism 검색 결과 비교 및 통계방법

IL-4 polymorphism에서 나온 유전자 Typing의 결과를 아래 네가지 군으로 나누어 통계를 내어서 유의성을 살펴 보았다. (각 인원은 결과의 표 2-9.를 참조)

첫째 . 체질 만이 감별된 전체군

둘째 . 체질이 감별된 군중에서 아토피성 질환의 병력이 있는 군

셋째 . 체질이 감별된 군중에서 아토피성 질환의 병력이 없는 군

넷째 . 연령별로 체질이 감별된 군

다섯째 . 연령별로 체질이 감별된 군중에서 아

토피성 질환의 병력이 있는 군
여섯째. 연령별로 체질이 감별된 군중에서 아
토피성 질환의 병력이 없는 군

Ⅲ. 결 과

1. IL-4 유전자 다형성과 체질분포(전체)

아토피 질환의 유병력을 고려하지 않고 체
질만을 고려한 집단에서 IL-4 유전자 다형성
의 분포는 전체적으로는 Type TT는 58.2%
이고, Type CT는 38.8%이고, Type CC는
3.0%였다. (표 2.)

각 체질별로는 Type TT, Type CT, Type
CC가 소음인에게서 50.9% 43.6% 5.5% .
소양인에게서는 60.0 % 38.2% 1.8%, 그리
고 태음인에게서는 63.6% 34.5% 1.8%였
다. 이들의 교차분석 (Pearson Chi-Square)
결과로는 표 3. 에서와 같이 세 체질간에 유
전자 다형성의 차이는 없었다.(p=0.56)

T-allele은 타체질보다 소음인에게서 작은
빈도로 나타났으나 유의성은 없었다.

2. 아토피성 질환의 유병력이 있는 사 람 중에서의 IL-4 유전자 다형성과 체질분포

IL-4 유전자 다형성의 분포는 같이 전체적
으로는 Type TT는 55.9 %이고, Type
CT는 38.2 %이고, Type CC는 5.9 %였다
(표 4.)

각 체질별로는 Type TT, Type CT, Type
CC가 소음인에게서 61.5% 38.5% 0%이고,
소양인에게서는 45.5 % 45.5% 9.1%, 그리
고 태음인에게서는 60.0 % 30.0% 10.0%였
다. 이들의 교차분석 (Pearson Chi-Square)
결과로는 표 5.에서와 같이 세 체질간에 유
전자 다형성의 차이는 없었다.(p= 0.76)

T allele소양인에게서 타체질보다 적게 나
타났으나 유의성은 없었다.

3. 아토피성 질환의 병력이 없는 사 람 중에서 IL-4 유전자 다형성과 체 질분포

IL-4 유전자 다형성의 분포는 전체적으로는
Type TT는 58.5%이고, Type CT는 38.9
%이고, Type CC는 2.3%였다. (표 6.)

각 체질별로는 Type TT, Type CT, Type
CC가 소음인에게서 47.6% 45.2% 7.1%이
고, 소양인에게서는 64.4 % 36.4% 0%, 그
리고 태음인에게서는 64.4% 35.6% 0.0%였
다 이들의 교차분석 (Pearson Chi-Square)
결과로는 표 7. 에서와 같이 세 체질간에 유
전자 다형성의 차이는 없었다.(p=0.08)
T allele은 소음인에게서 타체질보다 적게 나
타났으나 유의성은 없었다.

4. 연령별로 체질이 감별된 군

10-20대 30-40대 50-60대 모두에서 사
상체질과 IL-4 유전자 다형성과의 유의적인
차이는 없었다(표 8.).

5. 연령별로 체질이 감별된 군에서 아 토피성 질환의 병력이 있는 군과 IL-4 유전자 다형성

10-20대 30-40대 50-60대 모두에서 사
상체질과 IL-4 유전자 다형성과의 유의적인
차이는 없었다(표 9).

6. 연령별로 체질이 감별된 군에서 아 토피성 질환의 병력이 없는 군과 IL-4 유전자 다형성

10-20대 30-40대 50-60대 모두에서 사
상체질과 IL-4 유전자 다형성과의 유의적인
차이는 없었다.(표 10)

표 2. IL-4 유전자 다형성과 체질분포

		Polymorphism			Total	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC		
체질	소음인	28(50.9%)	24(43.6%)	3(5.5%)	55(100.0%)	0.727
	소양인	33(60.0%)	21(38.2%)	1(1.8%)	55(100.0%)	0.790
	태음인	35(63.6%)	19(34.5%)	1(1.8%)	55(100.0%)	0.809
		96(58.2%)	64(38.8%)	5(3.0%)	165(100.0%)	

표 3. IL-4 유전자 다형성과 체질간의 교차분석 결과

	Value	df	Sig
Pearson Chi-Square	3.006	4	0.557
Likelihood Ratio	2.900	4	0.575
Linear-by-Linear Association	2.377	1	0.123
N of Valid Cases	165		

표 4. 아토피성 질환의 병력이 있는 사람 중에서 IL-4 유전자 다형성과 체질분포

		Polymorphism			Total	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC		
체질	소음인	8(61.5%)	5(38.5%)		13(100.0%)	0.807
	소양인	5(45.5%)	5(45.5%)	1(9.1%)	11(100.0%)	0.682
	태음인	6(60.0%)	3(30.0%)	1(10.0%)	10(100.0%)	0.750
		19(55.9%)	13(38.2%)	2(5.9%)	34(100.0%)	

표 5. 아토피성 질환의 병력이 있는 사람 중에서 IL-4 유전자 다형성과 체질간의 교차분석

	Value	df	Sig
Pearson Chi-Square	1.892	4	0.756
Likelihood Ratio	2.595	4	0.628
Linear-by-Linear Association	0.261	1	0.609
N of Valid Cases	34		

표 6. 아토피성 질환의 병력이 없는 사람 중에서 IL-4 유전자 다형성과 체질분포

		Polymorphism			Total	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC		
체질	소음인	20(47.6%)	19(45.2%)	3(7.1%)	42(100.0%)	0.702
	소양인	28(64.4%)	16(36.4%)	0(0.0%)	44(100.0%)	0.818
	태음인	29(64.4%)	16(35.6%)	0(0.0%)	45(100.0%)	0.822
		77(58.8%)	51(38.9%)	3(2.3%)	131(100.0%)	

표 7. 아토피성 질환의 병력이 없는 사람 중에서 IL-4 유전자 다형성과 체질간의 교차분석

	Value	df	Sig
Pearson Chi-Square	8.305	4	0.081
Likelihood Ratio	8.807	4	0.066
Linear-by-Linear Association	4.158	1	0.041
N of Valid Cases	131		

표 8. 각 연령별로 분석한 사상체질과 IL-4 유전자 다형성

		Polymorphism			Total	p value	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC			
10-20대	소음인	20(45.5%)	23(52.3%)	1(2.3%)	44(100.0%)	0.437	0.716
	소양인	16(59.3%)	11(40.7%)		27(100.0%)		0.796
	태음인	16(64.0%)	8(32.0%)	1(4.0%)	25(100.0%)		0.800
30-40대	소음인	4(66.7%)	1(16.7%)	1(16.7%)	6(100.0%)	0.504	0.750
	소양인	10(62.5%)	5(31.3%)	1(6.3%)	16(100.0%)		0.781
	태음인	13(65.0%)	7(35.0%)		20(100.0%)		0.825
50-60대	소음인	4(80.0%)		1(20.0%)	5(100.0%)	0.151	0.800
	소양인	7(58.3%)	5(41.7%)		12(100.0%)		0.792
	태음인	6(60.0%)	4(40.0%)		10(100.0%)		0.800

표 9. 연령별로 체질이 감별된 군에서 아토피성 질환의 병력이 있는 군과 IL-4 유전자 다형성

		Polymorphism			Total	p value	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC			
10-20대	소음인	4(44.4%)	5(55.6%)		9(100.0%)	0.487	0.722
	소양인	4(66.7%)	2(33.3%)		6(100.0%)		0.833
	태음인	3(50.0%)	2(33.3%)	1(16.7%)	6(100.0%)		0.667
30-40대	소음인	2(100.0%)			2(100.0%)	0.525	1.000
	소양인	1(33.3%)	1(33.3%)	1(33.3%)	3(100.0%)		0.500
	태음인	2(66.7%)	1(33.3%)		3(100.0%)		0.833
50-60대	소음인	2(100.0%)			2(100.0%)	0.082	1.000
	소양인		2(100.0%)		2(100.0%)		0.500
	태음인	1(100.0%)			1(100.0%)		1.000

표 10. 연령별로 체질이 감별된 군에서 아토피성 질환의 병력이 없는 군과 IL-4 유전자 다형성

		Polymorphism			Total	p value	Frequency of the T allele
		TT	CT	CC			
10-20대	소음인	16(45.7%)	18(51.4%)	1(2.9%)	35(100.0%)	0.486	0.714
	소양인	12(57.1%)	9(42.9%)		21(100.0%)		0.785
	태음인	13(68.4%)	6(31.6%)		19(100.0%)		0.842
30-40대	소음인	2(50.1%)	1(25.0%)	1(25.0%)	4(100.0%)	0.099	0.625
	소양인	9(69.2%)	4(30.8%)		12(100.0%)		0.687
	태음인	11(64.7%)	6(35.3%)		17(100.0%)		0.823
50-60대	소음인	2(66.7%)		1(33.3%)	3(100.0%)	0.095	0.667
	소양인	7(70.0%)	3(30.0%)		10(100.0%)		0.850
	태음인	5(55.6%)	4(44.4%)		9(100.0%)		0.778

IV. 고 찰

알레르기는 1906년 von Pirquet가 정의한 말로 altered energy, altered activity, altered reactive 라고 표현하였으나 이 현상의 기본은 항체-항원 반응을 나타내는 것이라 하였다. 아토피는 1923년 Coca와 Coke이 처음 정의한 말로 유전적으로 내려오는 이상한 질병(strange disease)이라 하였고, 기관지 천식, 알레르기성 비염 아토피 피부염을 아토피성 질환에 포함시키고 아토피의 유전성을 강조하였다. 1965년 IgE가 발견되면서 아토피는 특이적 및 비특이적 IgE를 많이 생성시키는 신체 상태를 말하는 것으로 되었다⁵⁾.

유전학적으로 IgE의 형성에 여러 가지 염색체의 다형성(Polymorphism)이 관련이 있다고 발표되고 있으며⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾, 현재에는 IL-4와 β 2AR(β -adrenergic)가 많이 언급되고 있다. IL-4에서 SNP(Single Nucleotide Polymorphism)를 나타내는 위치는 5q31-33 사이에 존재하며, 589C→T의 변환에 의한 변이이다. 이러한 까닭으로 본 연구에서는 IL-4의 5q31-33에서 589C→T변화를 관찰한 것이다¹¹⁾.

T allele은 Thymine의 빈도수치를 나타내는 것으로서 크게 나타날수록 cytosine에서 Thymine으로 변이(C-589T)가 많이 이루어졌다는 의미로 볼 수 있다.

보통 SNP를 관찰하는 일반적인 연구에서는 질병군과 정상군을 대조군으로 삼아 실험을 하지만 여기서는 발현할 수 있는 가능성을 보는 것이므로 아토피성 질환의 집단군 보다는 정상이지만 전체 체질군에 얼마나 변이된 SNP를 많이 가지고 있는가를 본 것이다.

일반적으로 아토피성 피부염의 임상 양상은 연령에 따라서 1. 유아기(2개월-2세) 2. 소아기(2-10세) 3. 사춘기 및 성인기로 구별되며 연령에 따라서 각각 피부질환의 발현 형태가 다르다. 아토피성 질환의 개인력이 약 50%, 가족력이 약 70%에서 동반된다고 보고 되어

있지만, 우리나라의 경우 환자 및 부모가 실제로 아토피의 병력을 기술하는 경우는 이보다 훨씬 낮은 것 같다. 천식의 초발 연령은 약 2.4세로 기술되어 있고, 알레르기의 초발연령은 정확한 보고는 없지만 10세 전후로 생각되며 따라서 아토피피부염 천식 알레르기성 비염의 순서로 아토피성 질환이 진행되는 것 같다¹²⁾.

연령에 따른 기관지 천식의 유병률은 10세 이하에서는 남아가 여아에 비하여 천식 유병률이 2배 정도 높게 관찰되고, 사춘기에 도달하면 성별에 따른 차이가 없어졌다가 40세 이후의 연령에서는 여자가 남자보다 높은 유병률을 보인다. 또한 천식의 약 25%는 40세 이후에 처음으로 천식 증세가 발생하고 이들 중 여자가 차지하는 비율이 남자에 비해서 월등하게 많다¹³⁾. 즉 그 40대 이전에 발병이 되지 않더라도 유전학적으로 아토피성 질환의 잠재성을 갖고 있는 것을 의미한다고 보겠다. 본 연구에서 연령대별로 다시 살펴본 것은 이러한 의미가 있다고 하겠다.

이상의 연구 결과를 종합해 보면 IL-4 유전자 다형성과 체질간에는 유의성 있는 차이점이 나타나지 않았다.

그러나 전체적으로 볼 때 소양인이나 태음인에게 있어서의 Tallele이 소음인 보다 유의적 차이는 없지만 높은 것을 볼 수 있다.

앞으로의 연구에서는 아토피성 질환은 유전력이 강한 질환이므로 각 체질별로 가족력을 참조하고 유전자 분석이 된 집단에 대하여 전향적 코호트를 실시하는 것도 예방의학적 측면에서 의미가 있을 것 같다.

V. 결 론

체질과 아토피성 질환 유전자의 연관성을 살펴 보고자, 유전학적으로 아토피성 질환을 유발할 수 있는 IL-4 polymorphism(5q31-33 위치의 589C→T 변이)을 각 체질별로 Typing 하고 통계처리 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. IL-4 polymorphism(5q31-33 위치의 589C→T 변이)는 T allele가 전체군에서 소음인 0.727 소양인은 0.790 태음인은 0.809로 나타나서 태음인의 T allele가 약간 높은 것이 보였으나 체질별로 유의성 있는 차이는 없었다.

2. IL-4 polymorphism는 T allele가 아토피성 질환이 있는 군에서는 소양인은 0.682 태음인은 0.750로 소음인은 0.807로 나타나서 소음인의 T allele가 약간 높은 것으로 나타났다으나 체질간의 유의성은 없었다.

참 고 문 헌

1. 최선미 등. 사상체질정보은행 구축 및 유전자 분석에 관한 연구. 서울. 한국한의학회 연구원 2001: 82-122
2. 주종천. ACE 유전자 다형성과 사상체질 및 뇌경색의 관련성 연구. 원광대학교. 2001
3. 지상은 등. HLA typing을 이용한 체질유전자 분석에 관한 연구. 사상체질의학회지 2001:13(1): 177-181
4. 이수경 등. 사상체질의 유전적 다형성 연구. 사상체질의학회지 2001 : 13(2) : 177-181
5. 홍천수 등. 우리나라에서 아토피는 증가하고 있는가?. Journal of the Korean Society of Allergology Vol.15 No.3 1995: 300
6. 안보국 등. 소음인 광항정기산의 항 Allergy 작용. 사상체질의학회지 2001: 13(2): 177-181
7. 권도원. 팔체질건강법. 고려원미디어
8. Emiko Noguchi et al. Haplotypes of the IL-4 gene and SNPs in the intergene Sequence between the IL-4 and IL-13 gene are associated with atopic asthma Human Immunology 62, 2001: 1251-1257
9. 이진성. 아토피성질환의 유전학적 접근. Journal of the Korean Society of Allergology 15(1) 1995: 6 10. Ian P Hall. Interleukin-4 receptor a gene variants and allergic disease. University Hospital of Nottingham, Nottingham, UK, 2002,1:6-8
11. R.M, Scarel-Caminage, P.C. Trevilatto. Frequencies of the -330(T→G)IL-2 and-590(T→C)IL-4gene polymorphisms in a population from south-eastern Brazil. Blackwell Science Ltd, European Journal of immunogenetics 2002: 29: 293-296.
12. 김규한, 아토피피부염의 임상양상 및 치료, Journal of the Korean Society of Allergology 15(1) 1995:10-20
13. 서울대학교. 아토피 질환의 발생에 있어서 유전 및 환경적인 영향에 대한 역학 연구. 서울. 보건복지부 : 1999: 8-9