

한국인 백혈병과 부조직적합항원 유전자형의 연관성

가톨릭대학교 의과대학 ¹미생물학교실, ²가톨릭조혈모세포은행, ³가톨릭조혈모세포이식센터

박민지¹ · 최희백² · 윤호열² · 최은정² · 김수연² · 김희제³ · 엄기성³
이 석³ · 김동욱³ · 이종욱³ · 민우성³ · 김춘추³ · 김태규^{1,2}

Susceptibility of Leukemia according to the Genotype of Minor Histocompatibility Antigens in a Korean Population

Min-Ji Park¹, Hee-Baeg Choi², Ho-Yeol Yoon², Eun-Jeong Choi², Su-Yeon Kim², Hee-Je Kim³, Ki-Sung Eom³, Seok Lee³, Dong-Wook Kim³, Jong-Wook Lee³, Woo-Sung Min³, Chun-Choo Kim³ and Tai-Gyu Kim^{1,2}

¹Department of Microbiology, College of Medicine, ²Catholic Hematopoietic Stem Cell Bank, ³The Catholic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Center, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background: In the search for susceptibility genes responsible for leukemia, genetic studies involving HLA association have been in progress extensively since the first report on its effect on the disease. Here we investigated the genetic associations of different leukemias with 4 autosomal mHags, HA-1, -2, -8 and HB-1. In particular, HB-1 is one of the leukemia-associated minor histocompatibility antigens (mHags) that is significantly expressed by Epstein-Barr virus-transformed- and tumor cells of all B lineage acute lymphoblastic leukemia (ALL).

Methods: A simultaneous genotyping method using PCR sequence-specific primers against HA-1, -2, -8 and HB-1 was developed, and their allelic frequencies in 139 healthy controls and 36 leukemia patients were observed. To compare genotype, phenotype, and gene frequencies of mHags with healthy controls, leukemia patients were classified into sub groups of ALL, acute myeloid leukemia (AML), and chronic myeloid leukemia (CML).

Results: The genotype frequencies of HA-1, -2 and -8 were not significantly different from healthy controls in every group of leukemia patients. However, the HB-1 H genotype was significantly increased in leukemia patients ($P=0.03$, OR=1.82, CI=1.08~3.06), particularly in AML ($P=0.01$, OR=2.4, CI=1.21~4.76) as compared with healthy controls.

Conclusion: Our results suggested that the genotype of HB-1 H may be associated with leukemia, particularly with AML. In further study, it is necessary to confirm the association of HB-1 with other leukemias in a larger group of patients, and to identify the underlying mechanism of HB-1 responsible for the occurrence of leukemia. (*Korean J Hematol* 2007;42:15-23.)

Key Words: Leukemia, Minor histocompatibility antigens, Korean

접수 : 2006년 11월 10일, 수정 : 2006년 11월 14일

승인 : 2006년 11월 16일

교신저자 : 김태규, 서울시 서초구 반포동 505번지

☎ 137-701, 가톨릭대학교 의과대학 면역미생물

학교실, 가톨릭조혈모세포이식센터

Tel: 02-590-1216, Fax: 02-3476-7355

E-mail: kimtg@catholic.ac.kr

본 연구는 보건복지부 바이오보건기술개발사업(01-PJ10-PG6-01GN16-0005)에 의하여 이루어진 것임.

Correspondence to : Tai-Gyu Kim

Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, Catholic Hematopoietic Stem Cell Bank, The Catholic University of Korea

505, Banpo-dong, Seocho-gu, Seoul 137-701, Korea

Tel: +82-2-590-1216, Fax: +82-2-3476-7355

E-mail: kimtg@catholic.ac.kr

서론

백혈병은 인체의 조혈계에서 발생하는 악성 혈액질환의 하나이다. 이러한 질병은 백혈구가 성숙하는 조혈 과정에 장애가 생겨 발생한 미성숙 악성 백혈구가 골수에서 증식하는 것으로, 전체 골수 조혈모세포의 20% 이상을 악성 백혈구가 차지하게 되며 병태에 따라 급성과 만성으로, 세포의 종류에 따라 골수성과 림프구성으로 크게 4가지 유형으로 분류하고 있다. 2005년 보건복지부 암 발생 통계집과 2001년 통계청 사망 원인별 통계연보에 따르면, 한국인의 백혈병 발병률은 인구 10만 명당 남성 4.51명, 여성 3.66명이고, 2001년에는 전체 사망원인의 0.6%에 해당하는 1,455명이 백혈병으로 사망하였다. 한국인에서 백혈병 발생빈도는 골수성백혈병이 60.4%, 림프구성백혈병이 26.8%로 골수성백혈병이 더 높은 빈도로 나타났다. 그 중에서도 급성골수성백혈병(acute myeloid leukemia, AML)이 43.2%로 가장 높은 빈도를 나타냈으며, 급성림프구성백혈병(acute lymphoblastic leukemia, ALL)이 23.9%, 만성골수성백혈병(chronic myeloid leukemia, CML)이 16%로 높은 빈도를 보였다. 백혈병은 대부분의 환자에서 구체적인 발병 원인을 알아낼 수 없으나, 유전적 환경적 인자를 포함한 여러 가지 요인이 복합적으로 관여한다고 여겨진다. 한국인에서 발병하는 백혈병 중 가장 발병률이 높은 급성골수성백혈병의 경우 다운증후군, 클라인펠터증후군, 리-프라우메니증후군 등의 유전적 질병에서 발병률이 증가하며,^{1,2)} 벤젠, 방부제, 제초제와 같은 화학물질과,³⁾ 방사선,⁴⁾ 바이러스,⁵⁾ 알킬화합물이나 제2형 토포아이스오머레이즈 억제제(topoisomerase-II inhibitors)와 같은 항암제⁶⁾에의 노출도 급성골수성백혈병의 발병률을 증가시킨다고 보고되었다. 또한 1964년 쥐의 주조직적합복합체인 H-2^k가 자연발생적 혹은 바이러스 감염에 의한 백혈병의 발병을 증가시킨다는 연구가 보고된 후,⁷⁾ 인체조직적합항원을 포함한 백혈병의 감수성 유전자를 찾아내는 연구가 많이 진행되었다. 특히 인체 주조직적합항원 HLA-DRB4는 많은 다른 인종 집단에서 여러 가지 주요 백혈병과 일관된 연관성이 있다고 보고되었다.⁸⁻¹⁰⁾

부조직적합항원은 세포막에 위치한 HLA class I 혹은 class II 분자를 통하여 제시되는 다형성 세포 내 단백질에서 유래한 펩티드로, 조혈모세포이식 후 공여자와 수혜자 사이의 부조직적합항원 유전자형 차이가 이식편대 숙주반응(graft-versus-disease, GVHD)과 이식

편대 백혈병효과(graft-versus-leukemia, GVL)의 발생과 연관성이 있음이 보고되면서,¹¹⁻¹³⁾ 조혈모세포 이식을 받은 다양한 인종의 백혈병 환자에서 그 유전자형이 동정되었다.^{14,15)} 사람의 부조직적합항원은 많은 수가 존재하나, 현재까지 동정된 유전자는 HA-1, -2, -8과 HB-1와 같은 상염색체성 부조직적합항원과 Y 염색체에서 암호화되는 몇몇 남성 특이적인 부조직적합항원을 포함하여 20개도 되지 않는다. 그 중 HB-1은 EBV에 감염된 B세포와 B세포 계열의 급성림프구성백혈병 세포의 모든 아형 세포(pro-B-ALL, common-B-ALL, pre-B-ALL, B-ALL)에 제한적으로 발현된다고 보고된 바 있다.^{16,17)} 이를 통해 부조직적합항원 HB-1이 백혈병과 유의한 연관성을 지닐 것으로 추측하였다.

따라서 본 연구는 백혈병 환자 및 정상인에서 4가지 상염색체성 부조직적합항원인 HA-1, -2, -8과 HB-1의 다양성을 조사하고, 백혈병 환자를 병태와 세포 종류에 따라 분류하여 각 부조직적합항원과의 연관관계를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험대상

가톨릭대학교 조혈모이식센터에 내원한 36명의 한국인 백혈병 환자를 연구 대상으로 하였다. 백혈병 환자는 급성골수성 20명, 급성림프구성 12명, 만성골수성 4명으로 구성되었다. 대조군으로는 가톨릭대학교 의과대학에 재학 중인 정상 한국인 139명을 대상으로 하였다. 본 연구는 모든 연구 대상으로부터 유전체 연구를 위한 동의서와 가톨릭대학교 윤리위원회로부터 심의를 받았다.

2. DNA추출

DNA의 추출은 AccuPrep Genomic DNA Extraction kit (Bioneer corporation, Daejeon, Korea)를 이용하여 이루어졌으며 이를 요약하면 다음과 같다. 혈액 1mL에서 RBC lysis buffer를 이용하여 림프구를 분리한 후 이를 PBS 200uL에 현탁시키고 proteinase K (20ug/mL) 20uL와 binding buffer (GC) 200uL를 첨가하여 60°C에서 10분 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 isopropanol을 100uL 첨가해주고 이 반응액을 binding column으로 옮겨준 후 washing buffer (W1, W2)를 이용하여 세척한다. 세척된 column에 증류수를 200uL 넣어준 후 원심분리시켜 DNA를 추출한다. 추출된 DNA를

spectrophotometer를 이용하여 농도를 측정 한 후 100 ng/uL의 농도로 하여 부조직적합항원의 유전자형을 분석하기 위한 PCR의 주형으로 사용하였다.

3. 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1의 형별

정상한국인 139명과 백혈병 환자 36명에 대한 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 대립유전자 형별은 PCR-SSP 방법을 사용하여 실시하였다. 약술하면 DNA 시료 (100ng/uL), TDMH (10X PCR buffer (670mM Tris base, 166mM ammonium sulphate, 1% Tween 20),

25mM dNTP, 25mM MgCl₂, distilled H₂O), mHags specific primers (0.5uM), internal control primers (0.075uM), 1U Taq- polymerase (Intron Biotechnology, Seongnam, Korea), 그리고 증류수를 섞은 혼합액 20uL 을 95°C에서 30초, 62°C에서 40초, 72°C에서 30초 동안 10회 반복, 95°C에서 30초, 57°C에서 40초, 72°C에서 30초 동안 25회 반복하여 각 부조직적합항원의 유전자 부위를 증폭하였다. 증폭된 PCR생산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

Table 1. Primer sets for genotyping of HA-1, HA-2, HA-8, and HB-1

Name	Primer	Sequence (5'-3')	Product size
HA-1	H Forward	ACT TAA GGA GTG TGT GCT GCA	179bp
	R Forward	ACT TAA GGA GTG TGT GTT GCG	
	Reverse	CCT CAG AGC CTT AGC TGT CA	
HA-2	V Forward	GCT CCT GGT AGG GGT TCA C	203bp
	M Forward	GCT CCT GGT AGG GGT TCA T	
	Reverse	CTT CCT TCT CCA CTC TCA GC	
HA-8	R Forward	TCT AAC ACT TTG TCC AGA GTT C	257bp
	P Forward	TCT AAC ACT TTG TCC AGA GTT G	
	Reverse	ACT TGG TTG GCC TGG CTC TT	
HB-1	H Forward	ATT CTT TTC TAT AGG TTC TCT GC	446bp
	Y Forward	ATT CTT TTC TAT AGG TTC TCT GT	
	Reverse	CTG TGC TTG GTA GCC ATT	
Internal*	Forward	CCT TCC CAA CCA TTC CCT TA	768bp
	Reverse	GTC CAT GTC CTT CCT GAA GCA	

*Homo sapiens growth hormone 2 gene (GH2, NM_022557).

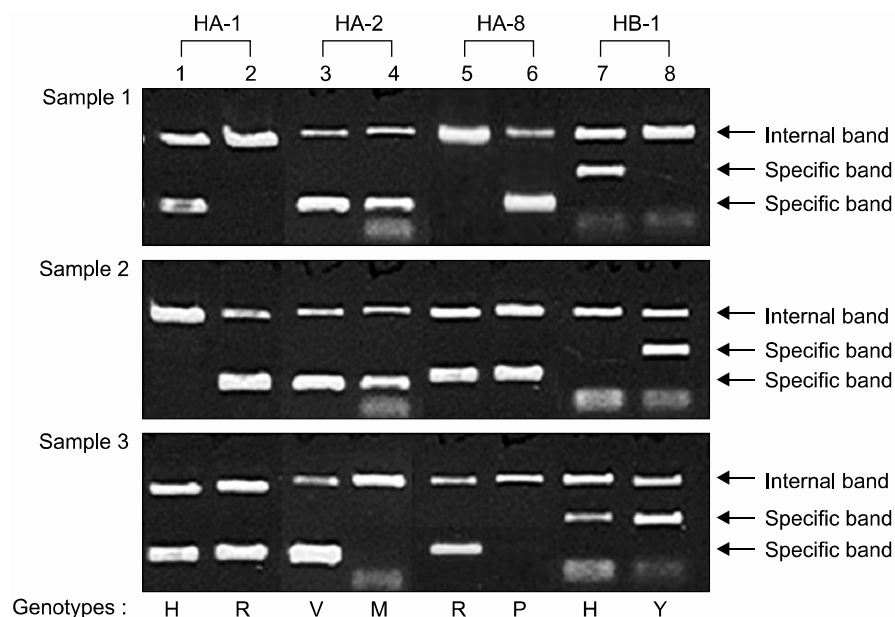


Fig 1. Genotyping of HA-1, -2, -8 and HB-1 by PCR-SSP. Lane 1: H type for HA-1, lane 2: R type for HA-1, lane 3: V type for HA-2, lane 4: M type for HA-2, lane 5: R type for HA-8, lane 6: P type for HA-8, lane 7: H type for HB-1, lane 8: Y type for HB-1. Each type of mHags HA-1, -2, -8 and HB-1 of the three samples was as follows; sample 1: HH (HA-1), VM (HA-2), PP (HA-8), HH (HB-1); sample 2: RR (HA-1), VM (HA-2), RP (HA-8), YY (HB-1); sample 3: HR (HA-1), VV (HA-2), RR, (HA-8), HY (HB-1).

4. 자료 분석

검사 결과의 통계적 유의성은 대상이 5에 이상인 경우는 chi-square 검정으로 시행하였고, 5에 이하인 경우는 2-tailed Fisher's exact test를 이용하였다. P 값이 0.05 미만인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. PCR-SSP 방법을 이용한 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 유전자형 분석

유전자형 분석을 위해 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 각각의 대립 유전자형에 대한 프라이머 세트

가 고안되었다. 하나의 프라이머 세트는 부조직적합항원의 특이적인 다형성 부위를 포함하는 프라이머와 공통적인 부위만을 포함하는 프라이머로 구성된다(Table 1). Fig. 1과 같이 하나의 대상에 대하여 4개의 부조직적합항원의 유전자형을 동시에 동정하였다.

2. 정상 한국인과 백혈병 환자의 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 대립유전자형 분포

정상 한국인 139명과 백혈병 환자 36명에 대하여 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 대립유전자의 빈도를 조사하였다(Fig. 2). HA-1 유전자는 정상 한국인에서 HR 53.2%, RR 33.9%, HH 12.9%의 순으로, 백혈병 환자에서 HR 66.7%, RR 25%, HH 8.3%의 순으로, 양군 간에 동일한 순으로 분포하였으며, 유의한 차이는

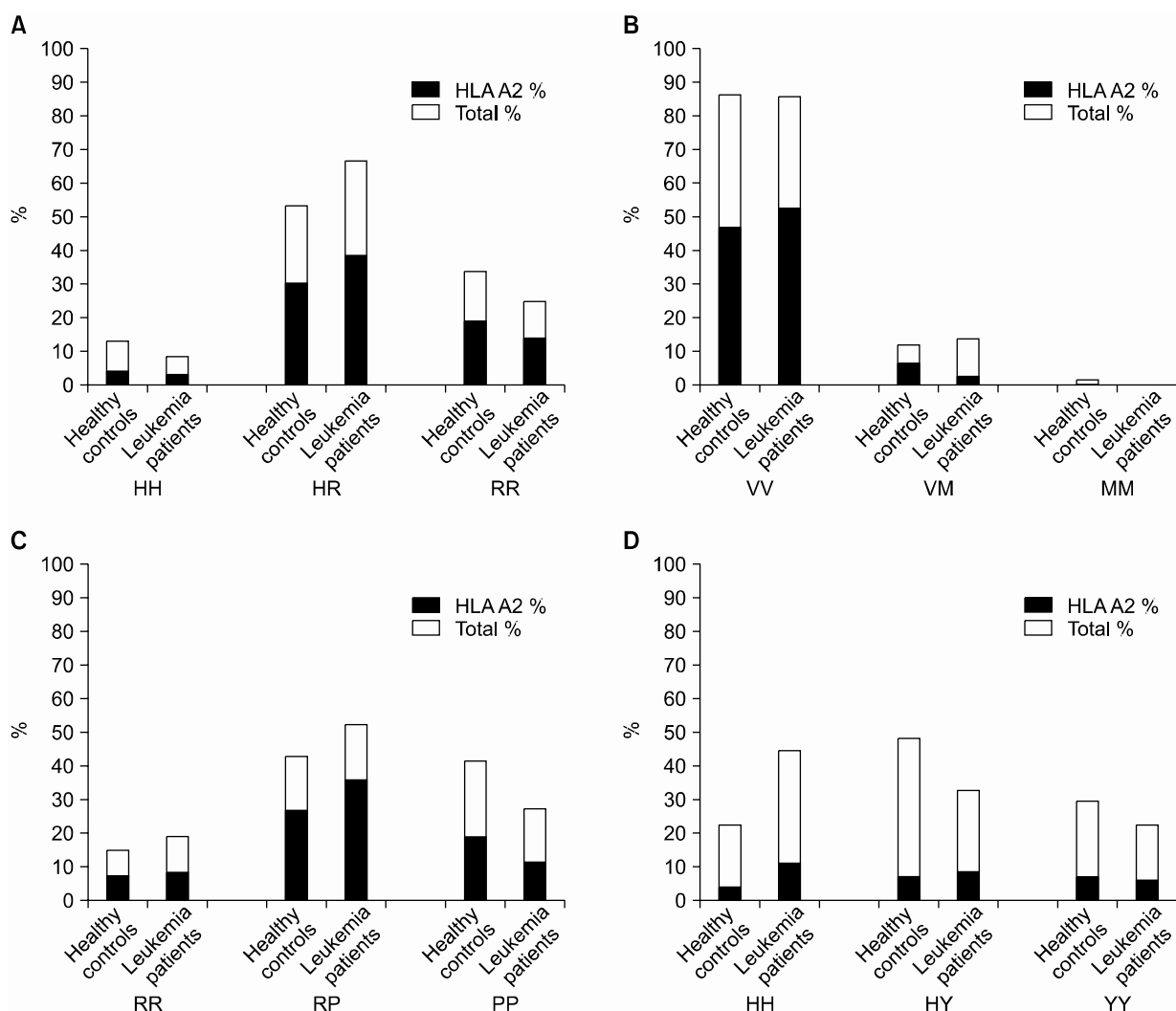


Fig. 2. Allelic frequencies of HA-1, -2, -8 and HB-1 in healthy controls (n=139) and patients with leukemia (n=36) in the Korea.

나타나지 않았다. HA-2 유전자는 정상 한국인과 백혈병 환자 집단 모두에서 HA-2 V 대립유전자가 HA-2 M 대립유전자에 비해서 압도적으로 빈도가 높았으며, HA-2 MM 유전자형은 정상 한국인 2명에서 발견되었다. 또한 HA-2 유전자의 경우에도 정상 한국인과 백혈병 환자 사이의 유의한 빈도 차이는 나타나지 않았다. HA-8 유전자는 정상 한국인에서 RP 43.1%, PP 41.8%, RR 15.1%의 순으로, 백혈병 환자에서 RP 52.8%, PP 27.8%, RR 19.4%의 순으로 분포하였다. 이때 HA-8 PP 유전자형이 정상 한국인에 비해 백혈병 환자 집단에서 낮은 빈도를 보이는 경향을 나타냈으나 통계적인 유의성은 없었다.

또한 이들 HA-1, -2와 -8 유전자는 HLA-A2 분자를 통하여 제한적으로 제시되므로, 정상 한국인과 백혈병 환자에서 각각 HLA-A2 양성인 집단으로 분류하여 이들 부조직적합항원의 유전자형 빈도를 조사하였다. 전체 정상 한국인과 백혈병 환자에서 HLA-A2의 빈도는 각각 53.2%와 55.6%로 비슷한 양상을 보였다. 이를 각각의 부조직적합항원의 유전자형별로 세분하여 정상인과 백혈병 환자 사이의 유의성을 조사하였다. HA-1의 경우 정상 한국인과 백혈병 환자의 HLA-A2 양성인 빈도는 HH 유전자형에서 각각 30%, 33.3%이며, HR 유전자형은 56.8%, 58.3%, RR 유전자형에서 55.3%, 55.6%로 분포하였으며, 양 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 정상 한국인과 백혈병 환자의 HLA-A2 양성인 빈도는 HA-2의 경우 VV 유전자형에서 각각 54.1%, 61.3%, VM 유전자형에서 52.9%, 20%로 VM 유전자형에서 양 군 간에 약 30%의 차이가 났으나, HA-2

의 유전자 분포가 VV 유전자형에 집중되어 있는 관계로 VM 유전자형의 실제 개체 수가 적어 통계적으로 유의한 차이는 없었다. HA-8 유전자는 RR 유전자형에서 47.6%, 42.9%, RP 유전자형에서 63.3%, 68.4%, PP 유전자형에서 44.8%, 40%로 모두 양 군 간에 비슷한 양상을 보였다.

HB-1 유전자는 정상 한국인에서 HY 48.2%, YY 29.5%, HH 22.3%의 순으로, 백혈병 환자에서 HH 44.4%, HY 33.3%, YY 22.3%의 순으로 분포하였다. 이때 HB-1 HH 유전자형이 정상 한국인에 비해 백혈병 환자 집단에서 높은 빈도를 보이는 경향을 나타냈으며, 통계적으로 유의하였다($P=0.008$, $OR=2.8$, $CI=1.32\sim5.91$). 또한 HB-1은 HLA-B44 분자를 통하여 제한적으로 제시되므로, 정상 한국인과 백혈병 환자에서 각각 HLA-B44 양성인 집단으로 분류하여 이들 부조직적합항원의 유전자형 빈도를 조사하였다. 정상 한국인과 백혈병 환자의 HLA-B44 양성인 빈도는 HH 유전자형에서 16.1%, 25%, HY 유전자형에서 14.9%, 25%, YY 유전자형에서 24.3%, 25%로 어느 유전자형에서도 양 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

3. 정상 한국인에 대한 백혈병 환자의 분류에 따른 부조직적합항원 HA-1, -2, -8과 HB-1 유전자형, 표현형, 유전자 빈도

백혈병 환자는 병태와 세포종류에 따라, 급성림프구성, 급성골수성, 만성골수성으로 분류하여 부조직적합항원의 유전자형, 표현형, 유전자의 빈도를 각각 정상 한국인 집단과 비교하였다. HA-1, -2와 -8 유전자의 유

Table 2. Genotype and phenotype frequencies of HA-1 in healthy controls and patients with leukemia in Korea

Genotype frequency n (%)						
Locus	Healthy controls		Leukemia patients			
		(n=139)	Total (n=36)	ALL (n=12)	AML (n=20)	CML (n=4)
HA-1	HH	18 (12.9)	3 (8.3)	0 (0)	3 (15)	0 (0)
	HR	74 (53.3)	24 (66.7)	10 (83.3)	11 (55)	3 (75)
	RR	47 (33.8)	9 (25)	2 (16.7)	6 (30)	1 (25)
	H	92	27	10	14	3
	R	121	33	12	17	4
Gene frequency n (%)						
	H	110 (39.6)	30 (41.7)	10 (41.7)	17 (42.5)	3 (37.5)
	R	168 (60.4)	42 (58.3)	14 (58.3)	23 (57.5)	5 (62.5)

Table 3. Genotype and phenotype frequencies of HA-2 in healthy controls and patients with leukemia in Korea

Genotype frequency n (%)						
Locus	Healthy controls		Leukemia patients			
	(n=139)	Total (n=36)	ALL (n=12)	AML (n=20)	CML (n=4)	
HA-2	VV	120 (86.3)	31 (86.1)	12 (100)	15 (75)	4 (100)
	VM	17 (12.3)	5 (13.9)	0 (0)	5 (25)	0 (0)
	MM	2 (1.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	V	137	36	12	20	4
	M	19	5	0	5	0
Gene frequency n (%)						
	V	257 (92.4)	67 (93.1)	24 (100)	35 (87.5)	8 (100)
	M	21 (7.6)	5 (6.9)	0 (0)	5 (12.5)	0 (0)

Table 4. Genotype and phenotype frequencies of HA-8 in healthy controls and patients with leukemia in Korea

Genotype frequency n (%)						
Locus	Healthy controls		Leukemia patients			
	(n=139)	Total (n=36)	ALL (n=12)	AML (n=20)	CML (n=4)	
HA-8	RR	21 (15.1)	7 (19.4)	3 (25)	4 (20)	0 (0)
	RP	60 (43.2)	19 (52.8)	6 (50)	10 (50)	3 (75)
	PP	58 (41.7)	10 (27.8)	3 (25)	6 (30)	1 (25)
	R	81	26	9	14	3
	P	118	29	9	16	4
Gene frequency n (%)						
	R	102 (36.7)	33 (45.8)	12 (50)	18 (45)	3 (37.5)
	P	176 (63.3)	39 (54.2)	12 (50)	22 (55)	5 (62.5)

전자형, 표현형, 유전자의 빈도는 정상 한국인과 비교했을 때 모든 백혈병 분류 집단에서 통계적인 유의성을 찾을 수 없었다(Table 2~4). HB-1 유전자는 HB-1 HH 유전자형이 전체 백혈병 환자에서 정상 한국인과 유의한 차이를 보였으며($P=0.008$, $OR=2.8$, $CI=1.32\sim 5.91$), 표현형에서 HB-1 Y가 정상 한국인과 전체 백혈병 환자 사이에 유의한 차이를 보였다($P=0.008$, $OR=0.36$, $CI=0.17\sim 0.76$). 또한 유전자 빈도에서도 HB-1 H 유전자가 백혈병과 연관성이 있음을 나타냈다($P=0.03$, $OR=1.82$, $CI=1.08\sim 3.06$). 또한 전체 백혈병 환자를 병태와 세포종류에 따라 분류하여 정상 한국인과의 HB-1 유전자의 유전자형, 표현형, 유전자 빈도를 비교

하였을 때, 특히 급성골수성백혈병과 연관성을 나타냈다. 유전자형 빈도에서는 HB-1 HH 유전자형($P=0.008$, $OR=3.48$, $CI=1.39\sim 8.77$)이, 표현형 빈도에서는 HB-1 Y ($P=0.008$, $OR=0.29$, $CI=0.12\sim 0.72$)가 정상 한국인과 급성골수성백혈병 환자 사이에 유의한 차이를 보였으며, 이를 유전자 수준에서 분석하여도 HB-1 유전자는 급성골수성백혈병($P=0.01$, $OR=2.4$, $CI=1.21\sim 4.76$)에 유의하게 연관되어 있었다(Table 5).

고 찰

백혈병은 구조적적합항원과의 유의한 연관성을 확

Table 5. Genotype and phenotype frequencies of HB-1 in healthy controls and patients with leukemia in Korea

		Genotype frequency n (%)				
Locus		Healthy controls	Leukemia patients			
		(n=139)	Total (n=36)	ALL (n=12)	AML (n=20)	CML (n=4)
HB-1	HH	31 (22.3)	16 (44.4)*	5 (41.7)	10 (50)	1 (25)
	YH	67 (48.2)	12 (33.3)	2 (16.6)	7 (35)	3 (75)
	YY	41 (29.5)	8 (22.3)	5 (41.7)	3 (15)	0 (0)
	H	98	28	7	17	4
	Y	108	20 [†]	7	10 [‡]	3
		Gene frequency n (%)				
	H	129 (46.4)	44 (61.1) [‡]	12 (50)	27 (67.5)**	5 (62.5)
	Y	149 (53.6)	28 (38.9) [§]	12 (50)	13 (32.5) ^{††}	3 (37.5)

*P-value was calculated by chi-square tests of total leukemia patients versus healthy controls ($P=0.008$, OR=2.8, CI=1.32~5.91); [†]P-value was calculated by chi-square tests of total leukemia patients versus healthy controls ($P=0.008$, OR=0.36, CI=0.17~0.76); [‡]P-value was calculated by chi-square tests of total leukemia patients versus healthy controls ($P=0.03$, OR=1.82, CI=1.08~3.06); [§]P-value was calculated by chi-square tests of total leukemia patients versus healthy controls ($P=0.03$, OR=0.56, CI=0.33~0.93); ^{||}P-value was calculated by chi-square tests of AML patients versus healthy controls ($P=0.008$, OR=3.48, CI=1.39~8.77); [‡]P-value was calculated by chi-square test of AML patients versus healthy controls ($P=0.008$, OR=0.29, CI=0.12~0.72); **P-value was calculated by chi-square test of AML patients versus healthy controls ($P=0.01$, OR=2.4, CI=1.21~4.76); ^{††}P-value was calculated by chi-square test of AML patients versus healthy controls ($P=0.01$, OR=0.42, CI=0.21~0.82).

인한 최초의 질병이기 때문에, 인체조직적합항원과
의 연관성 연구가 활발하게 이루어지고 있는 질병이다.
1964년 Lilly 등은 주조직적합항원이 다른 쥐에서 H-2^k
일배체형이 백혈병의 발달에 강한 영향을 미치는 것을
확인하였으며, 이러한 효과가 바이러스에 의한 백혈병
이나 자연발생적 백혈병 모두에게 유효하다고 발표하
였다.⁷⁾ 이후의 많은 연구에서 이런 현상은 주로 MHC
class II에 기인하며,¹⁸⁾ 백혈병과 연관성이 있었던 유전
자형이 또한 다른 여러 암과도 연관성을 가지기도 함
이 밝혀졌다.^{19,20)} 특히 HLA-DRB1*04, *07, *09로 구
성되며, 흔히 HLA-DR53으로 나타내는, 주조직적합항
원 HLA-DRB4는 많은 다른 인종 집단에서 여러 가지
주요 백혈병과 일관된 연관성이 있다고 보고되었
다.⁸⁻¹⁰⁾ 예를 들어 HLA-DR53은 남성 특이적으로 소아
급성림프구성백혈병과 연관성이 있으며,^{8,21)} 동시에 만
성골수성백혈병과 연관성이 있다.²²⁾ 이런 배경하에,
인간조직적합항원뿐만 아니라 다른 백혈병 감수성 유
전자를 찾는 연구가 많이 진행되고 있다.

본 연구에서는 부조직적합항원인 HA-1, -2, -8과
HB-1이 백혈병의 발병에 어떤 영향을 미치는지 알아

보기 위해 백혈병 환자와 정상 한국인에 대하여 각각
유전자형과 표현형 그리고 유전자 빈도를 조사하였다.
HA-1은 염색체 19p13.3에 위치하는 KIAA0223 유전자
로, 두 개의 뉴클레오티드 다형성 부위가 존재하여 히
스티딘(histidine)을 포함하는 VLHDDLLEA (HA-1 H)
펩티드와 알기닌(arginine)을 포함하는 VLRDDLLEA
(HA-1 R)의 두 개 펩티드를 암호화한다. 이 두 가지
HA-1 펩티드는 HLA-A2와 B60을 통해 제한적으로 세
포 표면에 제시된다고 알려졌다.²³⁾ HA-2는 7번 염색체
에 존재하는 사람의 class I Myosin 유전자이며, 하나의
뉴클레오티드 다형성 부위로 인해서 YIGEVLVSV
(HA-2 V)와 YIGEVLVSM (HA-2 M) 두 개의 서로 다
른 펩티드가 HLA-A2를 통해 제한적으로 세포표면에
제시된다.²⁴⁾ HA-8은 9번 염색체에 존재하는 KIAA0020
유전자로, nt 864 부위에 뉴클레오티드 다형성 부위가
존재하여, RTLDKVLEV (HA-8 R)과 PTLDKVLEV
(HA-8 P) 두 개의 펩티드를 암호화한다.²⁵⁾ HB-1 유전
자는 염색체 5q32에 위치하며, 그 기능은 명확히 알려
지지 않았다. 유전자에 하나의 뉴클레오티드 다형성
부위가 존재하여, 히스티딘(histidine)을 포함하는 EE-

KRGSLHVW (HB-1 H)와 티로신(tyrosine)을 포함하는 EEKRGSLYVW (HB-1 Y)의 두 가지 펩티드를 암호화한다.¹⁷⁾ HB-1 유전자에서 암호화되는 이들 펩티드는 HLA-B44를 통해, HB-1은 EBV에 감염된 B세포와 B세포 계열의 급성림프구성백혈병 세포의 모든 아형 세포(pro-B-ALL, common-B-ALL, pre-B-ALL, B-ALL)에서 제한적으로 발현된다고 보고된 바 있다.^{16,17)}

본 연구에서는 현재까지 백혈병 세포에 특이적으로 발현된다는 보고가 없는 HA-1, -2와 -8의 유전자형은 백혈병의 발병과 연관성을 발견할 수 없었다. 하지만 급성림프구성백혈병세포에서 제한적으로 발현되는 HB-1의 유전자형은 백혈병의 발병과 연관성을 나타냈다. 특히 전체 백혈병 환자를 병태와 세포종류에 따라 분류하였을 때, HB-1의 HH 유전자형($P=0.008$, $OR=3.48$, $CI=1.39\sim8.77$)과 Y 표현형($P=0.008$, $OR=0.29$, $CI=0.12\sim0.72$)이 급성골수성백혈병에서 유의한 연관성을 나타냈으며, 이를 유전자 수준에서 분석하여도 급성골수성백혈병에 유의한 연관성이 있음을 확인하였다($P=0.01$, $OR=2.4$, $CI=1.21\sim4.76$)(Table 5). 하지만 통계적인 유의성을 발견하지 못한 급성림프구성백혈병의 경우 HB-1 HY 유전자형의 빈도가 정상 한국인에 비해 낮은 경향을 보이고, 반대로 HH 유전자형과 YY 유전자형의 빈도가 정상 한국인에 비해 높은 경향을 보이는 등 유전자형의 분포가 정상 한국인과 상당히 다르게 나타났다. 또한 만성골수성백혈병의 경우 Y 유전자의 빈도가 H 유전자의 빈도보다 높게 나타난 정상 한국인과는 반대로 H 유전자의 빈도가 Y 유전자의 빈도보다 높게 나타나는 경향을 보였다. 따라서 본 연구에서 분석된 급성림프구성백혈병과 만성골수성백혈병의 경우 대상자의 수가 적어 통계적으로 유의성을 보이지 못했을 가능성이 있으므로 향후 보다 많은 환자들을 대상으로 연관성을 확인해야 할 것으로 생각된다. 또한 백혈병과 부조직적합항원 유전자의 통계적인 연관성 연구의 여러 가지 의미를 규명하기 위해 발병 기전이나 유전자의 기능에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

배경: 백혈병은 주조직적합항원(major histocompatibility antigens, MHCs)과의 연관성이 밝혀진 최초의 질병이기 때문에, 인체조직적합항원(human leukocyte antigen, HLA)을 포함하여 백혈병의 감수성 유전자

(susceptibility gene)를 찾는 연구가 많이 진행되고 있다. 본 연구에서는 4가지 상염색체성 부조직적합항원(minor histocompatibility antigens, mHags), HA-1, -2, -8과 HB-1 유전자가 다양한 백혈병과 유전학적 연관성이 있는지 조사하였다. 특히 HB-1은 백혈병과 연관된 부조직적합항원 중 하나로, EBV (epstein-barr virus)에 감염된 B세포와 B세포 계열의 급성림프구성백혈병의 모든 아형(subtype) 세포에 제한적으로 발현한다.

방법: 각 부조직적합항원 유전자는 정상 한국인 139명과 백혈병 환자 36명을 대상으로 PCR-SSP 방법으로 동정하였다. 백혈병 환자는 병태와 세포종류에 따라, 급성림프구성, 급성골수성, 만성골수성으로 분류하여 부조직적합항원의 유전자형, 표현형, 유전자의 빈도를 각각 정상 한국인 집단과 비교하였다.

결과: HA-1, -2와 -8 유전자의 유전자 빈도는 정상 한국인과 비교했을 때, 다양한 백혈병 분류 집단에서 통계적인 유의성을 찾을 수 없었다. 하지만 HB-1 유전자에서는 HB-1 H 유전자형이 전체 백혈병 환자($P=0.03$, $OR=1.82$, $CI=1.08\sim3.06$)와 특히 급성골수성백혈병 환자($P=0.01$, $OR=2.4$, $CI=1.21\sim4.76$)에서 정상 한국인에 비해 유의하게 증가되었다.

결론: 본 연구결과에 따르면, HB-1 유전자는 백혈병, 특히 급성골수성백혈병과 유의한 연관성을 나타냈다. 향후 보다 많은 환자들을 대상으로 다른 다양한 백혈병과 HB-1 유전자의 연관성을 확인하고, 백혈병에 대한 HB-1 유전자의 발병기전을 규명하여야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Fong CT, Brodeur GM. Down's syndrome and leukemia: epidemiology, genetics, cytogenetics and mechanisms of leukemogenesis. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;28:55-76.
- 2) Potzsch C, Voigtlander T, Lubbert M. p53 germline mutation in a patient with Li-Fraumeni syndrome and three metachronous malignancies. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:456-60.
- 3) Savitz DA, Andrews KW. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic and hematopoietic cancers. *Am J Ind Med* 1997;31:287-95.
- 4) Preston DL, Kusumi S, Tomonaga M, et al. Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part III. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma, 1950~1987. *Radiat Res* 1994;137:S68-97.
- 5) Kerr JR, Barah F, Cunniffe VS, et al. Association of

- acute parvovirus B19 infection with new onset of acute lymphoblastic and myeloblastic leukaemia. *J Clin Pathol* 2003;56:873-5.
- 6) Quesnel B, Kantarjian H, Bjergaard JP, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21), inv (16), and t(8;16): a report on 25 cases and review of the literature. *J Clin Oncol* 1993;11:2370-9.
- 7) Lilly F, Boyse EA, Old LJ. Genetic basis of susceptibility to viral leukaemogenesis. *Lancet* 1964;2:1207-9.
- 8) Dorak MT, Lawson T, Machulla HK, Darke C, Mills KI, Burnett AK. Unravelling an HLA-DR association in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999;94:694-700.
- 9) Dorak MT, Chalmers EA, Gaffney D, et al. Human major histocompatibility complex contains several leukemia susceptibility genes. *Leuk Lymphoma* 1994;12:211-22.
- 10) Dorak MT, Machulla HK, Hentschel M, Mills KI, Langner J, Burnett AK. Influence of the major histocompatibility complex on age at onset of chronic lymphoid leukaemia. *Int J Cancer* 1996;65:134-9.
- 11) Goulmy E, Schipper R, Pool J, et al. Mismatches for minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J* 1996;334:281-5.
- 12) Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens. *Curr Opin Immunol* 1996;8:75-81.
- 13) Warren EH, Gavin M, Greenberg PD, Riddell SR. Minor histocompatibility antigens as targets for T-cell therapy after bone marrow transplantation. *Curr Opin Hematol* 1998;5:429-33.
- 14) Di Terlizzi S, Zino E, Mazzi B, et al. Therapeutic and diagnostic applications of minor histocompatibility antigen HA-1 and HA-2 disparities in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey of different populations. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:95-101.
- 15) Pietz BC, Warden MB, DuChateau BK, Ellis TM. Multiplex genotyping of human minor histocompatibility antigens. *Hum Immunol* 2005;66:1174-82.
- 16) Dolstra H, Fredrix H, Maas F, et al. A human minor histocompatibility antigen specific for B cell acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Med* 1999;189:301-8.
- 17) Dolstra H, de Rijke B, Fredrix H, et al. Bi-directional allelic recognition of the human minor histocompatibility antigen HB-1 by cytotoxic T lymphocytes. *Eur J Immunol* 2002;32:2748-58.
- 18) Miyazawa M, Nishio J, Chesebro B. Genetic control of T cell responsiveness to the Friend murine leukemia virus envelope antigen. Identification of class II loci of the H-2 as immune response genes. *J Exp Med* 1998;168:1587-605.
- 19) Chesebro B, Kaiser HE. Neoplasms-comparative pathology of growth in animals, plants, and man. Influence of the major histocompatibility complex (H-2) on oncornavirus-induced neoplasia in mice. Baltimore: Williams and Wilkins, 1981;475-82.
- 20) Demant P, Oomen LC, Oudshoorn-Snoek M. Genetics of tumor susceptibility in the mouse: MHC and non-MHC genes. *Adv Cancer Res* 1989;53:117-79.
- 21) Dorak MT, Oguz FS, Yalman N, et al. A male-specific increase in the HLA-DRB4 (DR53) frequency in high-risk and relapsed childhood ALL. *Leuk Res* 2002;26:651-6.
- 22) Posthuma EF, Falkenburg JH, Apperley JF, et al. HLA-DR4 is associated with a diminished risk of the development of chronic myeloid leukemia (CML). Chronic Leukemia Working Party of the European Blood and Marrow Transplant Registry. *Leukemia* 2000;14:859-62.
- 23) den Haan JM, Meadows LM, Wang W, et al. The minor histocompatibility antigen HA-1: a diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science* 1998;279:1054-7.
- 24) Pierce RA, Field ED, Mutis T, et al. The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein. *J Immunol* 2001;167:3223-30.
- 25) Brickner AG, Warren EH, Caldwell JA, et al. The immunogenicity of a new human minor histocompatibility antigen results from differential antigen processing. *J Exp Med* 2001;193:195-206.