

## Henoch-Schönlein 자반증에서 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ 유전자 다형성 분석

서울대학교 의과대학 소아과학교실

양 혜 란 · 고 재 성 · 서 정 기

### Analysis of the Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ Promoter Polymorphism in Children with Henoch-Schönlein Purpura

Hye Ran Yang, M.D., Jae Sung Ko, M.D. and Jeong Kee Seo, M.D.

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

**Purpose:** Henoch-Schönlein purpura (HSP) is a systemic vasculitis involving the skin, joints, gastrointestinal tract, and kidney. Although the pathogenesis of HSP is still unclear, tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) is regarded as an important cytokine contributing to the disease. The goal of this study was to determine the role of TNF- $\alpha$  in the pathogenesis of HSP, and to evaluate the TNF- $\alpha$  polymorphism for genetic susceptibility to HSP.

**Methods:** From March 2004 to November 2005, 40 children with HSP and 32 healthy controls were included. Serum TNF- $\alpha$  levels were measured using the ELISA method during the acute and convalescent phase of HSP. The genotypic and allelic frequencies of the TNF- $\alpha$  gene polymorphisms at positions -308 and -238 were evaluated in patients and controls.

**Results:** Serum TNF- $\alpha$  levels were  $23.17 \pm 11.31$  pg/mL in the acute phase of children with HSP and  $10.56 \pm 5.59$  pg/mL in the convalescent phase ( $p=0.000$ ). There was no significant correlation between the serum TNF- $\alpha$  levels and the clinical scores of HSP ( $r=0.310$ ,  $p=0.070$ ). The genotypic frequency of the TNF- $\alpha$  -308 polymorphism in children with HSP was not significantly different compared to healthy controls (GG 80%, GA 20% vs. GG 93.8%, GA 6.2%;  $p=0.094$ ). The genotypic frequency of the TNF- $\alpha$  -238 polymorphism in children with HSP was not significantly different (GG 97.5%, GA 2.5% vs. GG 93.8%, GA 6.3%;  $p=0.429$ ).

**Conclusion:** TNF- $\alpha$  is assumed to be the main cytokine associated with the pathogenesis of HSP during the acute phase. However, the presence of TNF- $\alpha$  gene polymorphisms at positions -308 and -238 did not distinguish children with HSP from normal controls. (Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2007; 10: 11 ~ 19)

**Key Words:** Henoch-Schönlein purpura, Tumor necrosis factor- $\alpha$ , Polymorphism, Children

접수 : 2007년 1월 31일, 승인 : 2007년 2월 26일

책임저자 : 서정기, 110-744, 서울시 종로구 연건동 28번지, 서울대학교병원 소아과

Tel: 02-2072-3627, Fax: 02-743-3455, E-mail: jkseo@snu.ac.kr

본 논문은 서울대학교병원 기금연구비(0420040140) 지원에 의해 이루어진 것임.

## 서 론

Henoch-Schönlein 자반증(Henoch-Schönlein purpura)은 피부, 관절, 위장관, 신장을 포함한 전신의 소혈관을 침범하는 혈관염으로서 피부의 비혈소판감소성 자반과 관절염, 복통 등의 위장관 증상 및 혈뇨, 단백뇨 등의 신장 증상을 보일 수 있는데 개인에 따라 다양한 임상양상의 발현을 보인다<sup>1)</sup>. Henoch-Schönlein 자반증에 대한 유전적 감수성이 이러한 임상상의 다양성에 관여하는 요인 중의 하나로 추정되고는 있으나 아직까지 이에 대해 명확히 규명된 바는 없다.

Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )는 여러 전신 염증성 질환의 면역 반응에서 중요한 사이토카인으로 알려져 있는데, 기존 연구에 의하면 Henoch-Schönlein 자반증의 발병 기전에 있어서도 TNF- $\alpha$ 와 같은 사이토카인의 역할이 중요한 것으로 보고되고 있다. Besbas 등<sup>2)</sup>은 Henoch-Schönlein 자반증 환자에서 급성기와 증상 소실 후 TNF- $\alpha$ , IL (interleukin)-1, IL-6 등의 혈청 사이토카인 농도를 측정하였을 때 혈중 TNF- $\alpha$  농도가 급성기에 상승하였다가 증상 소실과 더불어 의미 있게 감소하였으며, 피부 조직검사에서 다른 사이토카인에 비해 TNF- $\alpha$ 에 대한 면역조직화학검사 결과가 급성기에 뚜렷하게 나타났다고 보고함으로써 Henoch-Schönlein 자반증에서 염증의 매개체로서 TNF- $\alpha$ 의 역할을 강조한 바 있다. Ha<sup>3)</sup>의 연구에서도 Henoch-Schönlein 자반증의 급성기에 상승하였던 혈청 TNF- $\alpha$  농도가 관해기에 의미 있게 감소하였다고 보고하였다.

Henoch-Schönlein 자반증에서 일어나는 일련의 염증 반응을 유발하는 TNF- $\alpha$ 의 발현정도가 개인에 따라 다양한 Henoch-Schönlein 자반증의 임상상에 대한 설명을 가능하게 한다는 전제하에서 tumor necrosis factor- $\alpha$  유전자 다형성은 Henoch-Schönlein 자반증의 다양한 임상상의 발현에 있어 유전적 요인을 설명해주는 모델이 될 수 있을 것으로 여겨진다.

본 연구에서는 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 환자들에서 급성기와 관해기에 TNF- $\alpha$  농도를 측정함으로써 Henoch-Schönlein 자반증의 발병과 임상양상의 발현에 있어 TNF- $\alpha$ 의 의의를 평가하고, 각 환자에서 TNF- $\alpha$  -308, -238 유전자 다형성의 유전자형과

대립유전자 빈도를 분석해 봄으로써 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 있어 TNF- $\alpha$  유전자 다형성이 갖는 의의를 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2004년 3월에서 2005년 11월까지 서울대병원 및 분당서울대병원 소아과에 내원하여 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단받은 40명의 소아 환자를 대상으로 하였고, 건강한 소아 환자 32명을 대조군으로 하였다. 38°C 이상의 발열이나 다른 감염의 증거가 있는 환아는 연구대상에서 제외하였다. Henoch-Schönlein 자반증의 진단은 American College of Rheumatology의 진단 기준에 의하여 피부 자반과 복통, 혈뇨, 단백뇨를 보이는 경우로 정하였으며<sup>4)</sup>, 다른 혈관염과의 감별을 위해 추가적으로 Michel 등<sup>5)</sup>의 진단 기준을 적용하여 20세 미만의 소아로서 피부에 축지되는 자반, 복통, 위장관 출혈, 혈뇨를 보이면서 다른 유발 약제 복용력이 없을 경우 중에서 3가지 항목 이상을 보일 때로 진단하였다.

### 2. 연구 방법

1) 임상양상의 평가: 후향적인 의무기록지 검토를 통하여 환아들의 임상양상을 조사하였으며, De Mattia에

**Table 1.** Clinical Scoring of Children with Henoch-Schönlein Purpura

Joint score
0=no symptom
1=pain and/or swelling of slight grade
2=pain and/or swelling of moderate grade
3=pain and/or swelling of severe grade
Abdominal score
0=no symptoms
1=slight pain and/or occult blood in the stool (+)
2=moderate pain and/or occult blood in the stool (2+/3+)
3=severe pain and/or melena
Kidney score: hematuria and/or proteinuria as follows
0=no proteinuria and no hematuria
1=proteinuria (+) and/or hematuria (+)
2=proteinuria (2+/3+) and/or hematuria (2+/3+)
3=proteinuria (>3+) and/or hematuria (>3+)

의해 제시된 Henoch-Schönlein 자반증의 임상 점수화 체계(clinical scoring system)에 따라 환자들이 보이는 관절 증상, 복부 증상, 신장 증상을 각 항목당 0~3점으로 평가하였다(Table 1)<sup>6)</sup>. 피부, 관절, 복부, 신장 증상이 완전히 소실되었다가 다시 나타난 경우를 재발로 판정하였다.

2) **Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )의 측정:** 대상 환자들의 혈청을 처음 내원 시와 증상이 소실된 후에 채혈하여 3,000 g에서 5분 동안 원심분리하여 -20°C에서 냉동보관한 후, anti-human TNF- $\alpha$  항체(R&D Systems Inc, Minneapolis, USA)를 이용한 ELISA법을 사용하여 TNF- $\alpha$ 의 농도를 측정하였다.

3) **TNF- $\alpha$ 의 유전자형 분석:** 대상 환자 및 대조군의 정맥에서 최소 3 cc의 혈액을 채취하여 채취한 혈액에서 QIAamp DNA Mini Kit (Applied Biosystems, California, USA)를 사용하여 DNA를 추출하여 -20°C에서 냉동보관하였다.

TNF- $\alpha$  G-308A에 대한 primer는 sense 5'-CTGAA-GCCCTCCCAGTTCT-3', anti-sense 5'-CGGTTTC-TTCTCCATCGCG-3'를 제작하였으며, TNF- $\alpha$  G-238A에 대한 primer는 sense 5'-GGAGGCAATAGGTTTT-GAGGG-3', anti-sense 5'-GGTTTCTTCTCCATCGC-GG-3'를 제작하였다<sup>7)</sup>.

추출한 DNA를 primer 1.25 pmol, 250  $\mu$ M dNTP, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>,  $\times 10$  buffer, Taq polymerase 0.15 unit가 포함된 50  $\mu$ L의 buffer에서 PCR (polymerase chain reaction) thermal cycler를 이용하여 증폭시켰다. PCR 반응 조건으로 94°C에서 30초, 65°C에서 30초, 72°C에서 30초를 5회 반복한 후 94°C에서 30초, 65~55°C에서 30초, 72°C에서 30초를 25회 반복한 후 다시 94°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초를 15회 반복하였다. PCR 생성물을 PCR purification kit (Roche Molecular Biochemicals)을 이용하여 PCR 반응 후 남아있는 dNTP와 primer를 제거하여 정제된 주형을 얻었다.

SNaPshot primer로서 TNF- $\alpha$  G-308A에 대해 5'-ATATAATCATGATTATAATCAATGATGATCAATA-GGTTTTGAGGGGCATG-3', TNF- $\alpha$  G-238A에 대해 5'-TAATCAATGATGATAAGACCCCCCTCGGAATC-3'를 준비하여 PCR 산물과 ABI PRISM SNaPshot<sup>TM</sup>

Multiplex kit (Applied Biosystems, California, USA)의 SNaPshot Multiplex Ready Reaction Mix를 반응시키고 얼음 위에 5분간 올려놓은 후 microamp tube에 10  $\mu$ L씩 분주하였다. PCR thermal cycler를 이용하여 96°C에서 10초, 50°C에서 5초, 60°C에서 30초를 25회 반복하여 시발체 연장 반응을 시킨 후 Shrimp Alkaline Phosphatase 1 unit를 넣고 37°C에서 1시간 동안 놓아서 남아있는 ddNTP와 primer를 제거하였고 75°C에서 15분간 두어 효소를 불활성화시킴으로써 정제된 SNaPshot 산물을 얻었다.

SNaPshot 산물과 Genescan-120 LIZ Size Standard (Applied Biosystems, California, USA), Hi-Di formamide를 녹인 후 각 튜브마다 Hi-Di formamide 9  $\mu$ L와 SNaPshot 산물 0.5  $\mu$ L, Genescan-120 LIZ Size Standard 0.5  $\mu$ L를 분주하여 섞은 후 95°C에서 5분간 두어 변성시키고 얼음 위에 두었다가 ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, California, USA)에서 전기영동을 시행하고 ABI PRISM GeneScan Analysis Software 및 Genotyper Software (Applied Biosystems, California, USA)을 이용하여 결과분석을 시행하였다.

### 3. 통계적 분석

통계적 분석을 위하여 SPSS 12.0을 이용하였고, 통계적 검정 방법으로 두 군 간의 혈청 TNF- $\alpha$  농도의 비교를 위해 Student *t*-test를, 두 군 간의 임상 점수 (clinical score) 비교를 위해 Mann-Whitney U test를, 환자군에서 급성기와 관해기의 혈청 TNF- $\alpha$  농도를 비교하기 위해서 paired Student *t*-test를, 혈청 TNF- $\alpha$  농도와 임상점수 간의 상관관계를 보기 위해서 Pearson's correlation을, 각 유전자형과 대립유전자 빈도의 차이를 분석하기 위해서 *Chi-square* test를, 각 유전자형에 따른 임상양상의 차이를 분석하기 위하여 Fisher's exact test를 사용하였다. *p* 값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자 및 대조군의 특성

Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 총 40명(남아

20명, 여아 20명)의 평균 연령은  $6.55 \pm 2.57$ 세(범위: 2.3 ~ 14.5세)였다. 모든 환자에서 측정되는 자반이 관찰되었으며, 28명(70%)에서 관절 증세가 동반되었다. 32명(80%)의 환자가 복부 증상을 보였는데, 이 중 7명(21.9%)에서는 복부 증상이 선행하고 자반이 나중에 나타나는 양상을 보였으며, 15명(46.9%)에서 토혈, 혈변, 장중첩증 등의 심한 복부 증세를 나타냈다. 40명의 환자 중 12 (30%)명에서 혈뇨, 단백뇨 등의 신장 침범 소견이 관찰되었다. 대조군 32명은 남아 16명, 여아 16명이었으며 평균 연령  $10.6 \pm 2.6$ 세였다.

## 2. 혈청 TNF- $\alpha$ 농도

환자군에서 Henoch-Schönlein 자반증의 급성기에 측정된 혈청 TNF- $\alpha$  농도는  $23.17 \pm 11.31$  pg/mL였으며, 증세가 소실된 후에 측정된 혈청 TNF- $\alpha$  농도는  $10.56 \pm 5.59$  pg/mL로서 증상의 관해와 더불어 통계적으로 유의하게 감소하였다( $p=0.000$ )(Fig. 1).

관절 증상, 복부 증상, 신장 증상 유무에 따른 급성기 혈청 TNF- $\alpha$  농도를 살펴보았을 때, 혈청 TNF- $\alpha$  농도는 관절 증상이 없는 환자에서  $14.61 \pm 15.5$  pg/mL, 관절 증상을 보인 환자에서  $26.32 \pm 23.54$  pg/mL로 유의한 차이가 없었고( $p=0.158$ ), 복부 증상이 없는 환자에서  $21.43 \pm 6.53$  pg/mL, 복부 증상을 보인 환자에서  $23.45 \pm 24.93$  pg/mL로 유의한 차이가 없었으며( $p=0.835$ ), 신장 증상이 없었던 환자에서  $20.04 \pm 10.67$  pg/mL, 신장

증상을 보인 환자에서  $30.3 \pm 37.93$  pg/mL로 유의한 차이가 없었다( $p=0.420$ ).

혈청 TNF- $\alpha$  농도와 Henoch-Schönlein 자반증의 임상 점수(clinical score) 간에는 유의한 상관관계가 없었다( $r=0.310$ ,  $p=0.070$ ).

## 3. TNF- $\alpha$ 유전자 다형성의 분석

TNF- $\alpha$  -308 loci에서의 대립유전자 빈도는 Henoch-Schönlein 자반증 환자에서 G 90%, A 10%, 대조군에서 G 96.9%, A 3.1%였으며, 유전자형 빈도는 환자군에서 GG 유전자형이 80%, GA 20%였고 대조군에서는 GG 유전자형이 93.8%, GA 6.2%로서 Henoch-Schönlein 자반증 환자에서 높은 GA 유전자형의 빈도를 보이는 하였지만 통계적인 유의성은 없었다( $p=0.094$ )(Table 2).

TNF- $\alpha$  -238 loci에서의 대립유전자 빈도는 Henoch-Schönlein 자반증 환자에서 G 98.9%, A 1.1%, 대조군에서는 G 96.9%, A 3.1%였고, 유전자형 분포는 환자군에서 GG 97.5%, GA 2.5%였으며 대조군에서는 GG 93.8%, GA 6.3%로서 두 군 사이에 통계적인 유의성이 없었다( $p=0.429$ )(Table 2).

## 4. TNF- $\alpha$ 유전자 다형성에 따른 임상양상과 혈청 TNF- $\alpha$ 분석

TNF- $\alpha$  -308 loci에서의 유전자 다형성은 Henoch-

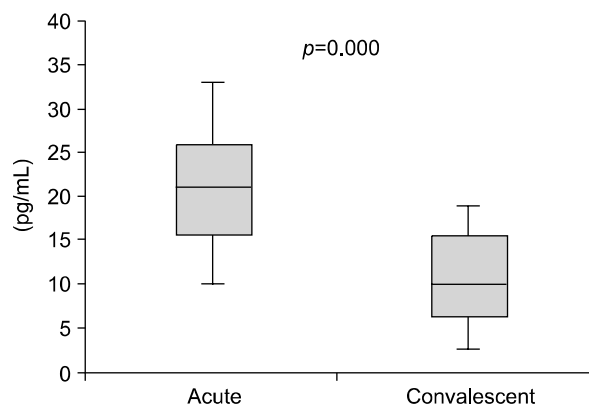


Fig. 1. Serum TNF- $\alpha$  levels in children with Henoch-Schönlein purpura (HSP) during the acute and convalescent phases. Serum TNF- $\alpha$  levels in the acute phase of HSP significantly decreased in the convalescent phase ( $p=0.000$ ).

Table 2. The Genotypic and Allelic Frequencies at the TNF- $\alpha$  -308 and TNF- $\alpha$  -238 loci in Children with Henoch-Schönlein Purpura (HSP) and Healthy Controls

	HSP (n=40)	Control (n=32)	p-value
G-308A			
GG	32 (80%)	30 (93.8%)	0.094
GA	8 (20%)	2 (6.2%)	
AA	0 (0%)	0 (0%)	
Allele G	90%	96.9%	
Allele A	10%	3.1%	
G-238A			
GG	39 (97.5%)	30 (93.8%)	0.429
GA	1 (2.5%)	2 (6.3%)	
AA	0 (0%)	0 (0%)	
Allele G	98.9%	96.9%	
Allele A	1.1%	3.1%	

**Table 3.** The Clinical Manifestations and Serum TNF- $\alpha$  Levels in Children with Henoch-Schönlein Purpura associated with TNF- $\alpha$  -308 and -238 Polymorphism

	GG genotype	GA genotype	p-value
G-308A	n=32	n=8	
Joint symptom	21 (65.6%)	7 (87.5%)	0.396
GI involvement	25 (80.6%)	7 (87.5%)	1.000
Renal involvement	10 (31.3%)	2 (25%)	1.000
Clinical score	3.34 $\pm$ 1.95*	2.50 $\pm$ 0.76	0.293
Serum TNF- $\alpha$ (pg/mL)	23.04 $\pm$ 24.36	22.71 $\pm$ 8.26	0.505
G-238A	n=39	n=1	
Joint symptom	27 (69.2%)	1 (100%)	1.000
GI involvement	31 (81.6%)	1 (100%)	1.000
Renal involvement	11 (28.2%)	1 (100%)	0.300
Clinical score	3.03 $\pm$ 1.55	9.0	0.050
Serum TNF- $\alpha$ (pg/mL)	23.03 $\pm$ 22.32	21.0	0.800

\*The values are expressed as means $\pm$ SD.

Schönlein 자반증 환자에서의 관절 증상( $p=0.396$ ), 복부 증상( $p=1.000$ ), 신장 침범 여부( $p=1.000$ )와 유의한 관련성이 없었다(Table 3). Henoch-Schönlein 자반증 임상양상을 반영하는 임상 점수도 GG 유전자형과 GA 유전자형 간에 유의한 차이를 보이지 않았다( $p=0.293$ ). Henoch-Schönlein 자반증의 재발 여부도 TNF- $\alpha$  유전자의 -308 loci에서의 유전자형과 통계적 유의성이 없었다(GG 유전자형 45.2%, GA 유전자형 28.6%;  $p=0.675$ ).

TNF- $\alpha$  -238 유전자 다형성도 관절 증상( $p=1.000$ ), 복부 증상( $p=1.000$ ), 신장 침범 여부( $p=0.300$ )와 유의한 관련성이 없었으며(Table 3), 임상 점수는 GA 유전자형이 GG 유전자형에 비해 유의하게 높았다( $p=0.05$ ). Henoch-Schönlein 자반증의 재발 여부는 -238 loci에서의 GG 유전자형과 GA 유전자형에 따른 유의한 차이는 없었다(40.5% vs. 100%;  $p=0.421$ ).

혈청 TNF- $\alpha$  농도는 TNF- $\alpha$  -308의 GG 유전자형에서 23.04 $\pm$ 24.36 pg/mL, GA 유전자형에서 22.71 $\pm$ 8.26 pg/mL으로 유의한 차이가 없었으며( $p=0.505$ ), TNF- $\alpha$  -238의 GG 유전자형에서 23.03 $\pm$ 22.32 pg/mL, GA 유전자형에서 21.0 pg/mL으로 유의한 차이가 없었다( $p=0.800$ )(Table 3).

## 고 찰

Henoch-Schönlein 자반증은 소아기의 전신성 혈관염을 일으키는 질환 중에서 가장 흔한 질환으로서, 급성기에 복부 증상으로 인하여 심한 경우 장출혈, 장천공 등 심각한 상태에 이를 수 있으며, 신장 침범 시에는 일부에서 만성신부전으로 진행할 가능성이 있어 임상적으로 중요한 질환 중의 하나이다<sup>1)</sup>.

Henoch-Schönlein 자반증은 피부 자반과 복부 증상, 관절 증상, 신장 증상을 주로 일으키는데, 특징적인 피부 증상으로서 작은 혈관의 백혈구과괴성 혈관염(leukocytoclastic angiitis)에 의한 피부 병변인 자반을 보이며, 관절 증상은 주로 발목과 무릎의 관절염 또는 관절통의 형태로 나타나고, 복부 증상으로는 복부 내장의 혈관염에 의해 초래된 허혈에 의한 복통, 혈변이 생길 수 있으며, 신장 침범에 의해 요검사에서 혈뇨, 단백뇨 등이 관찰될 수 있다.

Henoch-Schönlein 자반증은 환자에 따라 발현하는 임상 증상과 경중도의 차이가 커서 단순히 피부의 자반 증만으로 발현하거나 자반과 경한 관절 증상을 보이는 경우에서부터 피부 자반, 관절염, 전 위장관에 걸친 심한 병변과 장출혈, 그리고 신장 질환을 모두 보이는 경우에 이르기까지 개인에 따라 나타나는 임상상이 다양하다. 이러한 임상상의 다양성을 설명할 수 있는 중요한 요인 중의 하나가 Henoch-Schönlein 자반증에 대한 유전적 감수성일 것으로 추정되고는 있으나 아직까지 이에 대해 연구는 그리 많지 않다.

Henoch-Schönlein 자반증 환자가 신이식 후에 재발하였다는 보고에 근거하여 이러한 유전적 요인을 설명하려는 시도가 있어왔고<sup>8)</sup>, 동일 가족 내에서 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 대한 기존 보고도 이러한 유전적 요인의 가능성을 뒷받침해 주고 있다<sup>9,10)</sup>. 본 연구의 환자들 중에서도 가족 내에서 남매가 시간 간격을 두고 각각 만 5.5세경에 피부 자반과 복부 증상으로 발병하여 Henoch-Schönlein 신염으로까지 진행한 예가 있었다.

Henoch-Schönlein 자반증의 발생에 기여하는 유전적 감수성에 대한 연구는 지금까지 주로 Henoch-Schönlein 신염에 초점이 맞춰져 이루어져왔는데, 신장

증상의 발현에 ACE 유전자 다형성에 대한 연구를 포함하여<sup>11,12)</sup>, 최근에는 Henoch-Schönlein 자반증에서 발생하는 신염의 발생기전에서 사이토카인의 역할이 대두되면서 IL-8 유전자 다형성<sup>13)</sup>, IL-1 $\beta$  유전자 다형성<sup>14)</sup>, IL-1 receptor antagonist에 대한 연구가 있어 왔다<sup>15,16)</sup>.

지금까지 알려진 전신성 혈관염의 발병기전은 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 등의 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine)들이 분비되어 염증 반응이 시작되고 케모카인의 분비를 자극하여 염증세포들이 모이게 하며 혈관내피세포에 세포유착분자(cell adhesion molecule)의 발현을 유도하여 혈관벽으로 염증세포의 침습을 용이하게 함으로써 질환의 진행과정에 중요한 역할을 한다고 추론되고 있다<sup>17~19)</sup>.

따라서 전신성 혈관염인 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 있어서도 사이토카인의 작용이 중요할 것으로 여겨지는데, 이에 대해서 언급한 Besbas 등<sup>2)</sup>의 연구 결과에 의하면 Henoch-Schönlein 자반증의 급성기에 IL-1, IL-6과 같은 다른 사이토카인에 비해 혈중 TNF- $\alpha$ 가 상승하였다가 관해기에 감소하는 소견을 보임을 입증하여 TNF- $\alpha$ 가 급성기 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 중요한 역할을 담당하는 사이토카인임을 시사하였으며, Gattorno 등<sup>20)</sup>의 연구에서도 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 소아 환자에서 TNF- $\alpha$ 에 의해 유도된 결합 물질이 조직손상을 일으키는 기전에서 중요하다고 언급한 바 있다. 또한 Ha<sup>3)</sup>는 국내 Henoch-Schönlein 자반증 소아 환자들의 혈청 TNF- $\alpha$  농도가 급성기에 비해 관해기에 의미 있게 감소하였다고 보고하였다.

본 연구의 결과에서도 Henoch-Schönlein 자반증의 급성기에 혈청 TNF- $\alpha$  농도가 상승하였다가 증상이 소실되면서 유의하게 감소하는 소견을 보여 기존 보고들과 마찬가지로 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 있어 급성기 임상증상 발현에 있어 TNF- $\alpha$ 가 중요한 작용을 한다는 사실을 확인할 수 있었다.

감염 및 염증성 질환을 포함하여 다양한 질환에서 면역 매개체로서 작용하는 전염증성 사이토카인으로 알려져 있는 TNF- $\alpha$ 의 유전자는 chromosome 6p21.3의 MHC (major histocompatibility) complex의 class III 부위 내에 존재하며 microsatellite, SNP (single nucleo-

tide polymorphism) 등의 다형성(polymorphism)이 보고되어 있다. 이러한 유전자의 위치는 MHC haplotype 이 다양한 TNF- $\alpha$  표현형에 영향을 줄 수 있다는 관련성을 시사하여<sup>21)</sup> TNF- $\alpha$  유전자 내의 다형성이 TNF- $\alpha$  생성에 영향을 미치고 이를 통해 질병의 발병에 영향을 줄 수 있다는 가능성을 제시해 주었으며, 실제로 베체트병, 궤양성 대장염, 크론병, 전신성 홍반성 루푸스를 포함하여 여러 다양한 질환들에서 연구가 이루어져왔다<sup>22~25)</sup>. 예를 들어, 소아의 염증성 장질환에서의 TNF- $\alpha$  유전자 다형성에 대한 Sykora 등<sup>23)</sup>의 연구에 의하면 TNF- $\alpha$  -308 유전자 다형성은 염증성 장질환 환아들과 대조군이 의미 있는 차이를 보였으며, 크론병에서의 TNF- $\alpha$  -308 A 유전자형 빈도는 합병증이 동반된 환자에서 더 높았고 CRP, PCDAI (pediatric Crohn disease activity index)에서도 유의한 차이를 보여서 TNF- $\alpha$  -308 다형성이 크론병의 표현형 발현에 영향을 줄 수 있을 것으로 보았다.

일반적으로 사이토카인 유전자의 조절 부위에서의 SNP는 다양한 질환에 대한 감수성과 관련 있는 것으로 알려져 있는데, TNF 유전자의 SNP에는 -1,031 (T $\rightarrow$ C), -863 (C $\rightarrow$ A), -851 (C $\rightarrow$ T), -419 (G $\rightarrow$ C), -376 (G $\rightarrow$ A), -308 (G $\rightarrow$ A), -238 (G $\rightarrow$ A) 등이 알려져 있고<sup>26)</sup>, 이 중에서 전사 시작 부위에 위치하는 -308G/A와 -238 G/A 유전자다형성은 TNF- $\alpha$ 의 생성과 관련되어 있을 가능성이 높아 여러 다른 염증성 질환들에서 임상적으로 주목 받아온 SNP라고 할 수 있다<sup>23~25)</sup>.

그러나, 아직까지 Henoch-Schönlein 자반증 환자를 대상으로 하여 TNF- $\alpha$  유전자 다형성을 조사한 연구는 거의 이루어지지 않은 상태이며<sup>27)</sup>, 국내에서는 이에 대한 연구가 전무하였다. 이에 본 연구에서는 Henoch-Schönlein 자반증에서 일어나는 일련의 염증 반응에서 중요한 역할을 하는 TNF- $\alpha$ 의 유전자 다형성이 개개인에 따른 다양한 Henoch-Schönlein 자반증의 임상상에 대한 설명을 가능하게 한다는 전제하에서 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 국내 소아를 대상으로 하여 TNF- $\alpha$  유전자 다형성의 분석을 시도하였다.

그 결과 TNF- $\alpha$  유전자의 전사부위에 해당하는 -308 위치에서의 유전자형, 대립유전자 빈도는 Henoch-Schönlein 자반증 환아와 대조군 간에 유의한 차이를 보이지 않았으며, TNF- $\alpha$  -238 위치에서도 마찬가지로

로 유의한 차이가 없었다.

또한 TNF- $\alpha$  -308, -238 다형성은 관절 증상이나 복부 증상, 신장 증상과 같은 임상양상의 차이를 반영하지는 못하는 것으로 나타났으며, TNF- $\alpha$  -308, -238 다형성에 따르는 혈청 TNF- $\alpha$  농도의 차이도 관찰되지 않았다.

하지만, TNF- $\alpha$  -238에서 GA 유전자형을 보이는 경우에는 GG 유전자형에 비해 임상 점수가 의미 있게 높아서 -238 위치에서 A 대립유전자를 갖는 경우 Henoch-Schönlein 자반증의 임상양상이 심할 가능성을 시사한다고 할 수 있다. 그러나 해당 환자수가 적어서 연구결과를 적용하는 데 한계가 있으므로 향후 대상 환자군을 늘여서 추가적인 연구를 시행함으로써 이에 대해 명확히 규명할 필요가 있을 것이다.

비록 본 연구에서 TNF- $\alpha$  G-308A나 G-238A 유전자 다형성이 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 미치는 영향이나 Henoch-Schönlein 자반증의 다양한 임상양상과의 뚜렷한 연관성을 확인하지는 못하였으나 부분적으로나마 이러한 관련성이 시사되었기에, 향후 연구를 통하여 TNF- $\alpha$  유전자 다형성, 더 나아가서는 다른 여러 다양한 유전자들의 다형성이 Henoch-Schönlein 자반증에 대한 유전적 감수성과 발병기전을 설명해 줄 수 있다는 가능성을 제시하였다고 하겠다.

결론적으로, Henoch-Schönlein 자반증 환자에서 급성기에 혈중 TNF- $\alpha$ 가 상승하였다가 관해와 더불어 감소되는 소견은 TNF- $\alpha$ 가 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 중요한 역할을 하는 사이토카인임을 시사하는 소견이지만, TNF- $\alpha$  전사부위의 유전자 다형성이 개개인에서의 TNF- $\alpha$  생성 정도에 차이를 초래하여 Henoch-Schönlein 자반증의 발병과 다양한 임상양상의 발현을 유발시키는지 여부에 대해서는 확인되지 않았다.

향후 지속적인 연구를 통하여 Henoch-Schönlein 자반증의 발병기전과 유전적 감수성을 명확히 밝히려는 시도가 이루어져야 할 것이다.

## 요 약

**목 적:** 본 연구에서는 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 환자들에서 급성기와 관해기에 TNF- $\alpha$  농도를 측정함으로써 Henoch-Schönlein 자반증의 발병과 임

상양상의 발현에 있어 TNF- $\alpha$ 의 의의를 평가하고, 각 환자에서 TNF- $\alpha$  -308, -238 유전자 다형성의 유전자형과 대립유전자 빈도를 분석함으로써 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 있어 TNF- $\alpha$  유전자 다형성이 갖는 의의를 알아보려고 하였다.

**방 법:** 2004년 3월에서 2005년 11월까지 서울대병원 및 분당서울대병원 소아과에 내원하여 Henoch-Schönlein 자반증으로 진단받은 40명의 소아 환자를 대상으로 하였고, 건강한 소아 환자 32명을 대조군으로 하였다. 후향적인 의무기록지 검토를 통해 환자들의 임상양상을 조사하여 임상 점수를 평가하였다. 환자군에서 급성기와 관해기에 혈청 TNF- $\alpha$  농도를 측정하였다. 환자군과 대조군에서 혈액을 채취하여 TNF- $\alpha$  -308과 -238 유전자 다형성을 조사하였다.

**결 과:** Henoch-Schönlein 자반증으로 진단된 40명(남아 20명, 여아 20명)의 환자에서 급성기에 측정된 혈청 TNF- $\alpha$  농도는  $23.17 \pm 11.31$  pg/mL였으며, 증세가 소실된 후에 측정된 혈청 TNF- $\alpha$  농도는  $10.56 \pm 5.59$  pg/mL로서 유의하게 감소하였다( $p=0.000$ ). 혈청 TNF- $\alpha$ 와 Henoch-Schönlein 자반증의 임상 점수 간에 유의한 상관관계는 없었다( $r=0.310$ ,  $p=0.070$ ). TNF- $\alpha$  -308 유전자형 빈도는 환자군에서 GG 80%, GA 20%였으며, 대조군에서는 GG 93.8%, GA 6.2%로서 환자군에서 높은 GA 유전자형의 빈도를 보였지만 통계적인 유의성은 없었다( $P=0.094$ ). TNF- $\alpha$  -238 유전자형 분포는 환자군에서 GG 97.5%, GA 2.5%였으며, 대조군에서는 GG 93.8%, GA 6.3%로서 두 군 사이에 통계적인 유의성이 없었다( $p=0.429$ ).

**결 론:** TNF- $\alpha$ 는 Henoch-Schönlein 자반증의 발병에 중요한 역할을 하는 사이토카인으로 여겨지지만, TNF- $\alpha$  -308, -238 유전자 다형성이 Henoch-Schönlein 자반증의 발병과 다양한 임상양상의 발현에 미치는 영향에 대해서는 뚜렷한 연관성이 확인되지 못하였기에 향후 지속적인 연구를 통하여 Henoch-Schönlein 자반증의 발병기전과 유전적 감수성을 밝히려는 시도가 이루어져야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

- 1) Kirschner BS. Undetermined colitis and other inflam-

- matory diseases. In: Walker WA, editor. Pediatric gastrointestinal disease. 4th ed. Ontario: BC Decker inc, 2004:856-9.
- 2) Besbas N, Saatci U, Ruacan S, Ozen S, Sungur A, Bakkaloglu A, et al. The role of cytokines in Henoch-Schönlein purpura. *Scand J Rheumatol* 1997;26:456-60.
  - 3) Ha TS. The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol* 2005;20:149-53.
  - 4) Mills JA, Michel BA, Bloch DA, Calabrese LH, Hunder GG, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schönlein purpura. *Arthritis Rheum* 1990;33:1114-21.
  - 5) Michel BA, Hunder GG, Bloch DA, Calabrese LH. Hypersensitivity vasculitis and Henoch-Schönlein purpura: a comparison between the 2 disorders. *J Rheumatol* 1992;19:721-8.
  - 6) De Mattia D, Penza R, Giordano P, Del Vecchio GC, Aceto G, Altomare M, et al. von Willebrand factor and factor XIII in children with Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol* 1995;9:603-5.
  - 7) 김태호, 김병관, 신형두, 김지원, 김찬규, 김주성 등. 한국인 염증성 장질환에서 tumor necrosis factor- $\alpha$ 와 Interleukin-10 유전자의 다형성에 관한 연구. *대한소화기학회지* 2003;42:377-86.
  - 8) Baliah T, Kim KH, Anthone S, Anthone R, Montes M, Andres GA. Recurrence of Henoch-Schönlein purpura glomerulonephritis in transplanted kidney. *Transplantation* 1974;18:343-6.
  - 9) Lofters WS, Pineo GF, Luke KH, Yaworsky RG. Henoch-Schönlein purpura occurring in three members of a family. *Can Med Assoc J* 1973;107:46-8.
  - 10) Montoliu J, Lens XM, Torras A, Revert L. Henoch-Schönlein purpura and IgA nephropathy in father and son. *Nephron* 1990;54:77-9.
  - 11) Yoshioka T, Xu YX, Yoshida H, Shiraga H, Muraki T, Ito K. Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene predicts persistent proteinuria in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Arch Dis Child* 1998;79:394-9.
  - 12) Dudley J, Afifi E, Gardner A, Tizard EJ, McGraw ME. Polymorphism of the ACE gene in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol* 2000;14:218-20.
  - 13) Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, Calvino MC, Garcia-Porrúa C, Ollier WE, et al. Interleukin 8 gene polymorphism is associated with increased risk of nephritis in cutaneous vasculitis. *J Rheumatol* 2002;29:2367-70.
  - 14) Amoli MM, Calvino MC, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Interleukin 1 $\beta$  gene polymorphism association with severe renal manifestations and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. *J Rheumatol* 2004;31:295-8.
  - 15) Liu Z, Yang J, Chen Z, Gong R, Li L. Gene polymorphism in IL-1 receptor antagonist affects its production by monocytes in IgA nephropathy and Henoch-Schönlein nephritis. *Chin Med J (Engl)* 2001;114:1313-6.
  - 16) Amoli MM, Thomson W, Hajeer AH, Calvino MC, Garcia-Porrúa C, Ollier WE, et al. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism is associated with severe renal involvement and renal sequelae in Henoch-Schönlein purpura. *J Rheumatol* 2002;29:1404-7.
  - 17) Bradley JR, Lockwood CM, Thiru S. Endothelial cell activation in patients with systemic vasculitis. *Q J Med* 1994;87:741-5.
  - 18) Ahn SY, Jang GC, Shin JS, Shin KM, Kim DS. Tumor necrosis factor- $\alpha$  levels and promoter polymorphism in patients with Kawasaki disease in Korea. *Yonsei Medical J* 2003;44:1021-6.
  - 19) Lin CY, Lin CC, Hwang B, Chiang BN. The change of interleukin-2, tumor necrotic factor and gamma-interferon production among patients with Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 1991;41:179-82.
  - 20) Gattorno M, Vignola S, Barbano G, Sormani MP, Sabatini F, Buoncompagni A, et al. Tumor necrosis factor induced adhesion molecule serum concentrations in Henoch-Schönlein purpura and pediatric systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2000;27:2251-5.
  - 21) Abraham LJ, French MA, Dawkins RL. Polymorphic MHC ancestral haplotypes affect the activity of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Clin Exp Immunol* 1993;92:14-8.
  - 22) Park K, Kim N, Nam J, Bang D, Lee ES. Association of TNFA promoter region haplotype in Behcet's disease. *J Korean Med Sci* 2006;21:596-601.
  - 23) Sykora J, Subrt I, Didek P, Siala K, Schwarz J, Machalova V, et al. Cytokine tumor necrosis factor- $\alpha$  promoter gene polymorphism at position -308 G $\rightarrow$ A and pediatric inflammatory bowel disease: implications in ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;42:479-87.
  - 24) Koss K, Satsangi J, Fanning GC, Welsh KI, Jewell DP. Cytokine (TNF  $\alpha$ , LT  $\alpha$ , and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes Immun* 2000;1:185-90.



- 25) Lee YH, Harley JB, Nath SK. Meta-analysis of TNF- $\alpha$  promoter -308A/G polymorphism and SLE susceptibility. *Eur J Hum Genet* 2006;14:364-71.
  - 26) Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V, Mallet C, Arveiler D, Evans A, et al. Polymorphisms of the tumour necrosis factor- $\alpha$  gene, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 1998;28:59-66.
  - 27) Yang YH, Lai HJ, Kao CK, Lin YT, Chiang BL. The association between transforming growth factor- $\beta$  gene promoter C-509T polymorphism and Chinese children with Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Nephrol* 2004;19:972-5.
-