

한국인 아동에서의 IL-1 유전자 다변성 연구

윤성식¹·정현주^{1,3}·김옥수^{1,3}·양규호^{2,3}

¹전남대학교 치과대학 치주과학교실, ²소아치과학 교실

³전남대학교 치의학 연구소

I. 서론

진행성 치주염의 1차적 원인은 세균이지만 당뇨, 흡연, 유전과 같은 숙주요인 등이 치주과피와 같은 임상증상에 관여할 수 있다. 세균에 대한 숙주염증 반응이 치주조직 파괴의 요인 중 하나이다. 치주질환에서 염증성 cytokine의 역할이 연구되어 왔는데, 치주병인에서 IL-1의 연관성은 질환의 징후와 cytokine의 알려진 생물학적 효과 간의 관계에서 기인한다.^{1,2)} IL-1은 염증과 면역반응에 중요한 역할을 하며, 결합조직과 골 대사를 직접적으로 조절하는 기능도 있다. Masada 등은 IL-1이 조직염증과 골 흡수를 야기시키기에 충분한 농도로 치주병소 내에서 국소적으로 생산, 유리되기 때문에 치주조직 파괴의 척도가 될 수 있다고 보고했다.³⁾ IL-1은 감염 조직 내로 염증세포가 유입되게 하며, 단핵구와 섬유모세포의 eicosanoid 유리와 matrix metalloproteinases 분비를 자극하고 세균성 면역 반응의 연쇄적인 염증반응을 야기한다.^{4,5)}

최근에는 혈중 기본적인 IL-1 양이 개인마다 차이를 보이며, 이는 바로 chromosome 2(2q13)에서

발견되는 IL-1 α 와 IL-1 β , IL-1 receptor antagonist(IL-1 RN) 유전자의 다변성과 관련이 있다고 보고되었다.⁶⁾ Proinflammatory cytokine IL-1은 2가지 형태로 존재하는데, IL-1 α , IL-1 β 이다. IL-1A와 IL-1B 유전자는 각각 IL-1 α 와 IL-1 β 의 생산을 조절한다. IL-1 RN은 IL-1 α 와 IL-1 β 를 억제하는 antagonist protein(IL-1Ra)의 합성을 조절한다.^{7,8)} IL-1A와 IL-1B 유전자에 공유한 allele(대립유전자)은 각기 다양하게 나타난다. "Gene polymorphism(유전자 다변성)"은 유전자를 구성하는 핵산염기 서열의 변화를 나타낸다. IL-1A promoter의 889부위의 다변성은 IL-1A(+4845)와 거의 99-100% 일치한다고 알려져 있다.^{9,10)} IL-1B 다변성에 관련된 2 biallelic base가 단백질 생산에 영향을 미친다고 보고되었는데,¹¹⁾ promoter 부분의(-511) 위치와 exon 5에 존재하는(+3954) 위치이다. IL-1 RN intron 2는 86-bp 서열이 다양한 수로 존재하는 양상(various number of tandem repeat, VNTR)과 관련되어 5개의 allele을 포함한다고 보고되었다.¹²⁾ 1997년 Kornman 등은 IL-1을 조절하는 두 유전자, 즉 IL-1A(+4845)와

*이 논문은 2004년도 전남대학교 특별연구사업비 지원에 의하여 수행되었음.

*교신저자 : 정현주, 광주시 동구 학동 5번지 전남대학교 치과대학, 치주과학교실,

우편번호: 501-757, Email: jchung@jnu.ac.kr

IL-1B(+3954)의 다변성이 치주염의 심도와 관련 된다고 처음 제시하였다.¹³⁾ 백인들은 거의 36%에서 이 유전자를 보유하며, 이들 인종에서 심한 치주염 을 가진 40-60세의 비흡연자의 78%가 IL-1A와 IL-1B에 allele 2를 보유하는 양성유전형으로 나 타났다. 또한 오랜 기간 치주치료를 받은 후 치아 상 실률은 양성유전형 환자가 음성유전형에 비해 2.7배 나 높다고 보고되었다.¹⁴⁾

다양한 민족들 간에도 많은 유전형들이 존재하므로 민족 내에서 유전형의 분포를 파악하는 것이 필요하 다. 아시아계 인종들에서도 양성유전형의 빈도가 보 고되었는데, Armitage 등은 IL-1A와 IL-1B 유전 자에서 양성유전형의 비율이 중국인이 유럽인에 비교 하여 훨씬 낮다고 보고하였다.¹⁵⁾ Tai 등은 일본인에 있어서 건강한 사람들과 전반적 조기발현성 치주염 (generalized early onset periodontitis, G- EOP) 환자에서 IL-1A(+4845), L-1B(+3954)의 유전형 분포에 특별한 차이를 보이지 않았으나 IL- 1RN(VNTR) 유전자 다변형의 빈도는 유의하게 증가 된다고 하였다.¹⁶⁾ 한국인의 경우 Shin 등이 치주적으 로 건강한 20대 한국인에서,¹⁷⁾ Nam 등은 치주질환 자에서 IL-1B(+3954) allele 2의 분포가 유럽인에 비해 현저히 낮다고 보고한 바 있는데,¹⁸⁾ 한국인 인 구집단에서 IL-1 유전자군의 다변성 분포는 아직 보 고된 바 없다.

따라서 한국인 인구 집단에서 IL-1의 생산 또는 분비조절에 관여하는 유전자군(IL-1A, B, RN)에 서 유전형 분포를 알아보고자 이번 연구는 미래의 성인 인구 집단인 아동을 대상으로 시행되었다.

II. 대상 및 방법

1. 대상 환자

전남대학교병원 소아치과에 내원한 어린이를 대상 으로 전신질환의 병력이 없는 5-16세 사이의 어린이 92명을 대상으로 하였다.

2. 표본 수집과 DNA 추출

각 대상에서, 구강세정 후 멸균된 foam tipped applicator(Hardwood product company, USA) 을 이용하여 협점막탈락상피를 채취하였으며, 표본은 -20℃에 저장되었다. DNA는 채취된 협점막상피를 50mM NaOH 200μl에서 5분간 95℃로 가열하고, 20μl Tris(pH 8.0)로 중화시켜 얻었다.

3. IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B (-511) SNPs의 분석

각 DNA는 multiplex PCR에 의하여 증폭되었다. PCR 증폭은 10X reaction buffer, 1.5mM MgCl₂, 0.2mM dNTP, 3쌍의 0.75M primer, 1.5U Taq polymerase(Dynazyme™, Finnzym- es, Finland)와 DDW를 포함하는 50μl의 반응물 내에 서 10μl의 DNA 표본을 이용하여 시행되었다. 해당 primers는 다음과 같다. IL-1A(+4845)는 sense 5'-ATG GTT TTA GAA ATC ATC AAG CCT AGG GCA-3' antisense 5'-AAT GAA AGG AGG GGA GGA TGA CAG AAA TGT-3'¹⁹⁾; IL-1B(+3594)는 sense 5'-CTC AGG TGT CCT CGA AGA AAT CAA-3' antisense 5'-GCT TTT TTG CTG TGA GTC CCG-3'¹³⁾; IL-1B (-511)는 sense 5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA T C-3' antisense 5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3'¹³⁾를 사용하였다. 증폭조건은 thermal cycler (Geneamp[®] PCR system 2700, Applied Biosystems, USA)안에서 다음과 같았다 : 95℃에서 15분 동안 cycling, 95℃에서 30초 동 안 10회 cycling, 그리고 58℃에서 2분동안 cy- cling, 95℃에서 10초간 20회 cycling, 53℃에서 50초 동안, 그리고 72℃에서 30초 동안 cycling, 7 2℃에서 10분간 마지막 1회 cycling하였다.²⁰⁾ PCR 산물은 2% agarose gel에서 전기 영동하여 240 bp(IL-1A+4845), 190 bp(IL-1B+3954), 그리 고 304 bp(IL-1B-511)의 밴드를 확인하였다.

각 PCR산물을 다음 과정을 거쳐 유전자형을 분석하였다.

1) IL-1A(+4845)

PCR산물 10 μ l를 Fnu 4H1(New England BioLabs, Hitchin, UK)과 함께 37°C에서 1시간 동안 분해하였다. 제한효소 분해산물은 0.1% ethidium bromide로 염색된 2% agarose gel에서 전기영동하여 결정하였다. Allele 1은 124+29 bp, allele 2는 153 bp를 나타내었다.

2) IL-1B(+3954)

PCR산물 10 μ l에 3 units의 Taq I(Gibco BRL, Life Technologies, Inc. Rockville, USA)을 첨가하여 65°C에서 1시간 분해하였다. 제한효소 분해산물은 0.1% ethidium bromide로 염색된 3% agarose gel에서 전기영동하여 결정하였다. Allele 1은 2개의 밴드(85 bp, 97 bp)를, allele 2는 12 bp 와 182 bp에서 밴드를 나타내었다.

3) IL-1B(-511)

PCR산물 10 μ l를 3units의 Ava I(New England BioLabs)를 첨가하여 37°C에서 2시간 분해하였다. Allele 1은 190+114 bp, allele 2는 304 bp에서 밴드를 나타내었다.

4) IL-1 RN intron 2 (VNTR) 의 분석

IL-1 RN intron 2는 86 bp DNA의 VNTR을 포함하는데, 이것을 확인하기 위하여 사용된 primers는 다음과 같다 : sense 5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3', antisense 5'-TCC TGG TCT GCA GGT AA-3'¹³⁾ : PCR 증폭은 10X reaction buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.75M primer, 1.5U Taq polymerase(DynazymeTM, Finnzymes, Finland)와 DDW를 포함하는 25 μ l의 reaction mixture 내에서 4 μ l의 표본을 이용하여 시행하였다. PCR 조건은 먼저 95°C에서 10분간 변성되었고, 이어서 94°C에서 1분간 35회 cy-

cling, 60°C에서 1분, 70°C에서 2분간 확장되고, 마지막으로 70°C에서 5분간 cycling되었다. PCR산물은 0.1% ethidium bromide로 염색된 2% agarose gel에서 전기영동하여 유전형을 결정하였다. Allele 1(4 repeats)은 412 bp이고, allele 2(2 repeats)는 240 bp, allele 3(3 repeats)은 326 bp, allele 4(5 repeats)는 498 bp, 그리고 allele 5(6 repeats)는 584 bp로 나타났다.

5) 통계처리

유전자의 각 allele과 유전형의 빈도를 남녀별로 정리하였으며 성별 분포의 차이는 Chi-Square(χ^2) test를 통하여 검정하였다.

III. 결 과

1. Allele과 유전형의 분포

Allele 분석에서 IL-1A(+4845)의 allele 1은 58.7%, allele 2는 41.3%의 빈도를 보였으며, IL-1B(+3954)의 allele 2는 4.3%로 낮은 빈도를 보였다. IL-1B(-511)의 allele 1은 52.2%, allele 2는 47.8%의 빈도를 보였고, IL-1 RN은 allele 1이 87.9%, allele 2가 10.0%, 다른 유형이 2.1%의 분포를 보였다(Table 1).

성별에 따라서는 여아의 경우 IL-1A(+4845)의 allele 1은 58.2%, allele 2는 41.8%의 빈도를 보였고 IL-1B(+3954)의 allele 2는 7.1%였다. IL-1B(-511)의 allele 1은 54.1%, allele 2는 45.9%의 빈도를 보였으며, IL-1 RN는 allele 1이 86.7%, allele 2가 11.2%, allele 3, 5가 각각 1%의 분포를 보였다. 남아의 경우 IL-1A(+4845)의 allele 1은 61.9%, allele 2는 38.1%로서 여아에 비해 별 차이를 보이지 않았다. IL-1B(+3954)의 allele 2는 1.2%로 여아에 비하여 유의하게 낮았으며($P<0.05$), IL-1B(-511)의 allele 1은 51.2%, allele 2는 48.8%, IL-1 RN는 allele 1이 86.6%, allele 2가 8.5%, allele 4가 4.9%의 분포를 보였

Table 1. Allele distribution for IL-1 gene in Korean children

Allele	IL-1A(+4845)	IL-1A(+3954)	IL-1B(-511)	IL-1 RN
1	108(58.7)	176(95.7)	96(52.2)	160(87.9)
2	76(41.3)	8(4.3)	88(47.8)	18(10.0)
3				1(0.5)
4				2(1.1)
5				1(0.5)
Total	184(100)	184(100)	184(100)	182(100)

Values are No.(%).

Table 2. Genotypes and the corresponding allele frequencies in the study subjects according to the gender

IL-1A(+4845) Genotype		1,1	2,2	1,2	Total	p	Odds ratio
N	Female	11	4	34	49	0.467	0.955
	Male	10	1	32	43		
Allele frequency		1	2				
	Female	0.58	0.42			0.751	0.909
	Male	0.60	0.40				
IL-1A(+3954) Genotype		1,1	2,2	1,2	Total	p	Odds ratio
N	Female	43	1	5	49	0.192	0.171
	Male	42	0	1	43		
Allele frequency		1	2				
	Female	0.93	0.07			0.047	0.153
	Male	0.99	0.01				
IL-1A(-511) Genotype		1,1	2,2	1,2	Total	p	Odds ratio
N	Female	21	17	11	49	0.190	1.178
	Male	13	13	17	43		
Allele frequency		1	2				
	Female	0.54	0.46			0.580	1.178
	Male	0.50	0.50				

다(Table 2).

유전형 분석에서 IL-1A(+4845)의 allele 2를 보유한 양성유전형(1,2/2,2)의 분포율은 77.1%였고, IL-1B(+3954)의 allele 2 양성유전型的 빈도는 7.6%였다. 또한 IL-1B(-511)의 allele 2 양성유전형은 63.0%였고, IL-1 RN의 양성유전형(1,2/2,2)은 15.2%의 빈도를 보였고, (1,4)와 (1,3)및 (1,5)유전형이 각각 2.2%, 1.1%의 분포를 보여 매우 드물었다(Table 2).

남녀 성별에 따른 비교시 IL-1A(+4845)의 al-

lele 2 보유 양성유전형이 여아 77.7%, 남아 76.7%로 유사하였고, IL-1B(+3954)는 여아 12.3% 남아 2.3%의 allele 2 보유율을 보였으며, IL-1B(-511)의 allele 2 보유 유전형은 여아 57.1%, 남아 69.8%, 그리고 IL-1 RN allele 2 보유유전형은 여아 16.3%, 남아 13.9%에서 관찰되었다. 따라서 성별에 따른 차이는 IL-1B(+3954) 유전자부위에서 allele 2 분포가 매우 낮았으나 남녀 간에 유의한 차이를 보여 여아 7%가 남아 1%로 여아가 6배 정도 높은 분포를 보였다($p < 0.05$, Table 3).

Table 3. Genotype distribution for IL-1 gene in Korean children

Genotype	IL-1A(+4845)	IL-1A(+3954)	IL-1B(-511)	IL-1 RN
1,1	21(22.8)	85(92.4)	34(37.0)	73(79.3)
2,2	5(5.4)	1(1.1)	30(32.6)	14(15.2)
1,2	66(71.7)	6(6.5)	28(30.4)	
1,3				1(1.1)
1,4				2(2.2)
1,5				1(1.1)
Total	92(100)	92(100)	92(100)	91(100)

Values are No.(%).

Table 4. IL-1A(+4845) and IL-1B(+3954) composite genotype frequency in study subjects according to the gender

gender	Composite genotype	-	+	Total	χ^2 -test	Odds ratio
F		43(87.8)	6(12.2)	49	0.073	0.171
M		42(97.7)	1(2.3)	43		
Total		85(92.4)	7(7.6)	92		

IL-1A(+4845), IL-1B(+3954)의 allele 2 보유자인 양성복합유전자형의 분포율은 남자에서 2.3%, 여자에서 12.2%으로 나타나 여자에서 남자보다 그

빈도가 높은 경향을 보였으나 통계적 의의에 도달하지는 못하였다($p=0.073$, Table 4).

Table 5. Association among alleles of the IL-1A and B gene and the IL-1 RN gene in the total study population

	IL-1B(+3954)-2 ^a	IL-1B(+3954)-2 ^b	Total(N)	p	Odds ratio
IL-1A(+4845)-2-	21	0	21	0.134	1.109
IL-1A(+4845)-2+	64	7	71		
	IL-1B(-511)-2-	IL-1B(-511)-2+	Total(N)	p	Odds ratio
IL-1A(+4845)-2-	16	46	62	0.328	1.739
IL-1A(+4845)-2+	5	25	30		
IL-1B(+3954)-2-	55	30	85	0.056	0.647
IL-1B(+3954)-2+	7	0	7		
	IL-1 RN-2-	IL-1 RN-2+	Total(N)	p	Odds ratio
IL-1A(+4845)-2-	15	4	19	0.483	0.615
IL-1A(+4845)-2+	61	10	71		
IL-1B(+3954)-2-	69	14	83	0.237	0.831
IL-1B(+3954)-2+	7	0	7		
IL-1B(-511)-2-	52	9	61	0.761	1.204
IL-1B(-511)-2+	24	5	29		

a, - means noncarrier of allele 2 ; b, + means carrier of allele 2.

2) 유전자 allele 간 연관관계

각 유전자에서 allele간 연관성이 있는지 알아보기 위하여 관련 유전자들의 allele 2 보유율을 분석한 결과, IL-1B(-511) allele 2 보유자는 비보유자에 비하여 IL-1B(+3954) allele 2 보유율이 낮았으나 통계적 유의성에 도달하지는 않았다($P=0.056$). 그 외 다른 경우에는 allele 간 연관 경향을 보이지 않았다(Table 5).

IV. 고찰

IL-1 유전형과 성인형 치주염 간의 관계에 대한 많은 연구들이 보고되었다. Kornman 등은 IL-1을 조절하는 유전자의 다변성이 심한 성인형 치주염의 이환율과 관련된다라고 보고하였다.¹³⁾ Cullinan 등은 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954)에서 allele 2를 보유하는 IL-1 양성유전형이 치주염에 있어서 필수적인 않지만 나이, 흡연, *P. gingivalis* 존재와 함께 기여요소로 작용한다고 보고하였고,²⁰⁾ Engebretson 등은 치주염관련 유전형이 양성으로 나타나는 환자에서 치은열구액 내 IL-1 β 가 증가된다고 보고하였다.²¹⁾ McGuire 등은 IL-1 양성유전형 환자가 음성유전형 환자에 비해 치주질환으로 치아를 잃을 확률이 2.7배나 높고, 흡연자가 비흡연자에 비해 2.9배나 높았으며, 이 두 가지 위험인자가 모두 존재하는 환자는 그렇지 않은 환자에 비해 치아를 잃을 확률이 7.7배에 달한다고 보고하였으며,¹⁴⁾ McDevitt 등은 양성유전형 환자가 음성유전형 환자에 비해 중증도의 치주염으로 고생할 확률이 높다고 보고하였다.²²⁾

치주질환의 진행과 예후에 대한 IL-1 유전형의 역할에 상반된 결과도 보고되었다.^{23,24)} Parkhill 등은 EOP환자에서 IL-1B(+3954) allele 1 유전형 빈도는 증가하지만 IL-1 RN유전형은 특별한 연관성을 찾지 못했으며 IL-1B allele 1과 IL-1 RN allele 1의 조합된 경우에는 EOP와 관련되었다고 보고하였다.²⁵⁾

다양한 인종에 따라 IL-1A, IL-1B SNPs, IL-1 RN(VNTR) 다변성의 빈도가 다르게 관찰되는데, 유

럽계 백인에 있어서 IL-1A(+4845)에 대한 Allele 2 보유율은 37.5%이고, IL-1B(-511)는 59.4%, IL-1B(+3954)는 61.1% 그리고, IL-1 RN(VNTR)는 48.6%이다.^{26,27)} Diehl 등은 IL-1B(+3954)의 (1,1) 유전형을 비교한 결과 아프리카계 미국인인 경우 71%, 백인인 경우 54%를 나타냈다고 보고하였다.²³⁾ 게다가 미국 흑인에 있어서 보유율은 IL-1A(+4845)가 26.9%, IL-1B(+3954)가 27.0 %, 그리고 IL-1 RN(VNTR)는 20.4%로 나타났다.^{19,23)} 멕시코계에서는 약 23%의 양성 복합유전형을 보였다.²⁶⁾ 그리고 Tai 등은 일본인에 있어서 IL-1A, IL-1B SNPs, IL-1 RN(VNTR) allele 2 carriage 비율이 18.6%, 68.0%, 9.3%였고, 이는 G-EOP 환자와 비교하였을 때 별 차이가 없었지만 IL-1 RN의 경우 25.5%로 나타나 정상인의 8.2%에 비해 높게 나타나 일본인에 있어서 IL-1 RN 유전형이 G-EOP와 관련되어 있다고 보고하였다.¹⁶⁾

한편 한국인에서 IL-1A, IL-1B SNPs, IL-1 RN(VNTR)를 포함한 IL-1 유전자군에 대한 연구는 최근에서야 이루어지고 있다. Shin 등¹⁷⁾은 치주적으로 건강한 청년을 대상으로 치주건강과 관련된 유전형의 분포를 보고하였는데, 20대를 대상으로 하여 치주질환이 발병하는 35세 이후에 어떠한 치주상태를 보일지는 확실하지 않아 건강인을 대표한다고 간주할 수 없다. 그들의 연구에서 IL-1B(+3954)의 분포는 10.8%로 보고되었는데 이는 유럽인에 비해 현저히 낮다. 이번 연구에서는 질환 여부에 관계없이 한국인을 대표하는 집단으로서 미래 성인인구 집단인 소아치과에 예방 및 치료적인 치과진료를 받고자 내원한 아동을 대상으로 하여 유전형을 분석하였다. 이번 연구된 한국아동들의 결과에서 allele 2 보유 유전형 빈도는 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954), IL-1B(-511), IL-1 RN(VNTR)이 각각 77.1%, 7.6%, 63.0%, 15.2%이었다. 특히, IL-1B(+3954)와 IL-1 RN(VNTR)의 비율은 백인에 비해 현저히 낮았으나 일본 및 중국인, 태국인에 비하여 높았으며, IL-1A(+4845)와 IL-1B(-511)의 비율은 일본인에 비하여 낮고 백인에 비해

더 높은 경향이 있음을 알 수 있었다.^{15,16,25,28)}

치주질환과 관련된 한국인 IL-1 유전형 연구는 본 연구팀에서 Nam 등¹⁸⁾이 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954), IL-1B(-511), IL-1 RN(VNTR)이 각각 61.0, 13.0, 76.6, 34.0%로 보고하였다. 치주질환자에서 정상 또는 전체 인구에 비하여 IL-1B(+3954) allele 2 빈도와 복합유전형 양성이 높았으나 역시 유럽인에 비하여 낮았다.

아시아계인들의 allele 2 보유 유전형 비교시 Tai 등은 일본인에 있어서 IL-1B(+3954)의 allele 2 동종접합형이 없다고 보고하였다.¹⁶⁾ Armitage 등은 또한 중국인의 IL-1B(+3954)와 IL-1A(-889)에서 allele 2 동종접합형 유전형이 각각 0%와 0.67%였다고 보고하였다. 그리고 Anusaksathien 등 태국인에서도 IL-1B(+3954)와 IL-1A(-889)에서 allele 2 동종접합형 유전형이 존재하지 않는다고 보고하였다.²⁹⁾ 따라서 아시아계 인종에서 IL-1B(+3954)와 IL-1A(+4845)의 allele 2는 다른 인종과 비교하여 훨씬 적다는 것을 알 수 있다. 이번 연구에서는 al-

lele 2 동종접합형 유전형이 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954)유전자에서 각각 5.2%(5/92), 1.1%(1/92)로 관찰되어 아시아계 인종에서 보고된 바와 같이 매우 희소하였으나 이미 보고된 중국인에 비해서 그 비율이 높았다. 인종과 치주상태에 따른 IL-1 유전자군의 allele 2 발현빈도와 IL-1A(+4845)와 IL-1B(+3954)의 복합유전자형 양성 빈도의 비교 결과가 Table 6과 7에 요약되어 있다.

IL-1 유전자와 다른 질환과의 관련성 연구에서 Guzman 등은 IL-1 유전형이 당뇨병 환자에 있어서 치주질환과 관련되어 있었고, 치주질환이 있는 당뇨병 환자에서 IL-1B(-511)과 IL-1B(+3954) allele 1이 현저히 높게 나타난다고 보고하였다.³⁰⁾ 그들은 IL-1 유전형이 당뇨병 환자에서 심한 치주염의 위험도 증가에 관련된다고 제안하였다. 그러나 IL-1B(-511)에서의 allele 2의 빈도는 치주염군의 allele 1보다 높다고 하였다. IL-1 RN 유전자 다변성 빈도는 치주염 심도와 반비례하는 경향을 보인다. IL-1 RN allele 2는 in vitro와 in vivo 모두에서

Table 6. Comparison of allele 2 carriage rate in IL-1 gene cluster among various ethnic groups

Authors	Periodontal status	Ethnic groups	IL-1A (+4845)	IL-1B (+3954)	IL-1B (-511)	IL-1 RN (VNTR)
Gore et al.(1998)	CP	Caucasian	37.5	61.6	59.4	48.6
Parkill et al.(2000)	EOP	Caucasian		41.4		31.4
	Control			61.1		48.6
Rider et al.(2000)	Control	NEC				<10
Diel et al.(1999)	EOP	NEC AfAm	26.9	46		
				29		
Walker et al.(2000)	LJP	AfAm	32.4	16.2		20.4
	Control		26.9	26.9		
Caffesse et al.(2002)	Healthy	Hispanic		28.0		
Sakellari et a.(2003)	Healthy	Greek	42.7	50.0		
	CP		53.3	48.8		
Armitage et al.(2000)	Total	Chinese	17.0	3.3		
Tai et al.(2002)	EOP	Japanese	21.3	4.3	72.3	25.5
	Healthy		18.6	9.3	68.0	8.2
Anusaksathien et al.(2003)	Total	Thai	15.4	2.4		
Shin et al.(2004)	Healthy	Korean		10.8	75.4	13.8
Nam et al.(2004)	CP+EOP	Korean	61.0	13.0	76.6	34.0
This Study(2005)	Total	Korean	77.1	7.6	63.0	15.2

CP, Chronic periodontitis; EOP, Early onset periodontitis; LJP, Localized juvenile periodontitis; NEC, northern european caucasians; AfAm, African American.

Table 7. Prevalence of genotype-positive population related to the ethnic groups

Authors	Ethnic Group	Study Population	N	%
Kornman et al.(1997)	Northern European Caucasian	CP	99	34.0
Gore et al.(1998)	Caucasian	CP	62	28.0
McDevitt et al.(2000)	Mixed ethnic	Total	90	34.0
Walker et al.(2000)	African American	Healthy	104	14.5
		LJP	37	8.0
Caffesse(2002)	Hispanic	Healthy	22	23.0
Armitage et al.(2000)	Chinese	Total	300	2.3
Tai et al.(2002)	Japanese	EOP	47	4.3
Anusaksathien et al.(2003)	Thai	Total	123	1.6
Shin et al.(2003)	Korean	Healthy	65	10.8
Nam et al.(2004)	Korean	CP+EOP	100	13.0
This Study(2005)	Korean	Total(children)	92	7.6

CP, Chronic periodontitis; EOP, Early onset periodontitis; LJP, Localized juvenile periodontitis.

IL-1 Ra의 증가와 관련된다.^{7,27)} Rawlinson 등은 IL-1 Ra의 생산과 치주질환간의 관계에 대한 연구에서 치주질환의 심도에 따라 치은열구액 내 IL-1 β 의 양 증가와 IL-1 Ra의 농도 감소가 관찰되었다고 보고하였다.³¹⁾ Ishihara 등은 IL-1(IL-1 α + IL-1 β)/IL-1 Ra ratio의 전체적 양이 치주염의 심도와 관련되지만, IL-1 Ra 자체는 의미가 없다고 보고하였다.³²⁾ Perrier 등은 IL-1 RN allele 2가 Sjögren's syndrome과 관련되었다고 보고하였다.³³⁾

그러나 대부분의 연구에서, 유전형이 상이한 환자에서 장기적으로 질환의 진행이 영향을 받는지에 관한 연구가 이루어지지 않았으므로 계속 추적 조사와 치료에 대한 예후를 점검하여 향후 지속적으로 IL-1 유전자 다변성이 risk로 중요한지에 대하여 평가할 필요가 있다. 그리고 이번 연구의 한계로 혈액 내 IL-1 α , IL-1 β , IL-1 Ra 수준의 평가가 이루어지지 못하였는데 질환이 없는 상태에서 기본적 cytokine 수준 차이를 평가하여 유전자다변성이 이들 cytokine 농도에 어떠한 영향을 미치는지 그 역할에 대한 연구도 필요하다.

V. 결론

이 연구는 장래의 성인집단인 아동의 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), IL-1 RN(VNTR) 유전자 다변성의 분포를 평가하여 한국인에서의 IL-1 유전형과 allele 2 빈도를 다른 인종과 비교하고자 시행되었다. 전남대학교 병원 소아치과에 내원한 92명의 어린이에서 헤파막탈락상피를 채취하여 genomic DNA를 얻었다. DNA는 PCR에 의해 증폭되었고, IL-1B(+4845)와 IL-1A(+3954), IL-1B(-511), IL-1 RN(VNTR) 다변성을 분석하였다.

1. 유전자의 allele 2의 분포율은 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), 그리고 IL-1 RN이 각각 41.3%, 4.3%, 47.8%와 9.9%로 나타났다.
2. Allele 2 보유 유전형의 분포율은 IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), 그리고 IL-1 RN이 각각 77.1%, 7.6%, 63.0%와 15.2%로 나타났다.

3. 성별에 따른 분포율은 IL-1B(+3954) allele 2가 여아에서 남아보다 유의하게 높았다($p < 0.05$).
4. 각 유전자에서 allele 2 보유 유전형간 관련성 분석에서 IL-1B(-511) allele 2 보유자는 비 보유자에 비하여 IL-1B(+3954) allele 2 보유율이 낮은 경향을 보였다($p=0.056$).
5. 양성 복합유전형은 7.3%로 나타났다.

이번 연구로부터 한국인에서 IL-1 유전자 중 IL-1B(+3954) allele 2 보유 유전형과 양성 복합 유전형은 매우 낮게 나타났으며, 그 분포는 성별에 따라 다를 수 있음을 시사하였다.

VI. 참고문헌

1. Genco RJ. Assessment of risk of periodontal disease. *Compend Suppl* 1994;18: S714-S717.
2. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991;26:230-242.
3. Masada MP, Persson R, Kenny JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 α and -1 β in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1990;26:156-163.
4. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1:821-878.
5. Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol* 2000 1997;14: 144-57.
6. Nicklin MJH, Weith A, Duff GW. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, beta and the interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics* 1994;19:382-384.
7. Danis VA, Millington M, Hyland VJ, Grennan D. Cytokine production by normal human monocytes: intersubject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol* 1995; 99:303-310.
8. Dinarello CA. Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol* 1998;16:457-499.
9. Cox A, Camp NJ, Nicklin MJ, di Giovine FS, Duff GW. An analysis of linkage disequilibrium in the interleukin-1 gene cluster, using a novel grouping method for multiallelic markers. *Am J Hum Genet* 1998;62:1180-1188.
10. Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 1998;3:327-338.
11. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A Taq I polymorphism in the human interleukin-1 beta(IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992;22:396-402.
12. Tarlow JK, Blackmore AIF, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasser A, Duff GW. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Human Genetics* 1993;91:403-404.
13. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW.

- The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24:72-77.
14. McGuire MK, Nunn ME Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *J Periodontol* 1999;70:49-56.
 15. Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol* 2000;71:164-171.
 16. Tai H, Endo M, Shimada Y, Gou E, Orima K, Kobayashi T, Yamazaki K, Yoshie H. Association of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with early onset periodontitis in Japanese. *J Clin Periodontol* 2002;29:882-888.
 17. Shin SY, Kim KH, Park OJ, Kom KK, Ku Y, Yoshie H, Chung CP. Genetic polymorphisms of the periodontally healthy Korean population. *J Kor Acad Periodontol* 2003;33:739-745.
 18. Nam SJ, Chung HJ, Kim OS, Kim YJ, Koh JT. IL-1 gene polymorphisms in Korean periodontitis patients. *J Kor Acad Periodontol* 2004;34:623-637.
 19. Walker SJ, Van Dyke TE, Rich S, Kornman KS, di Giovine FS, Hart TC. Genetic polymorphisms of the IL-1 α and IL-1 β genes in African-American LJP patients and an African-American control population. *J Periodontol* 2000;71:723-728.
 20. Becker M, Weizenegger M, Bartel J. Reverse hybridization assay for rapid identification of periodontitis-associated interleukin-1 alleles. *Clin Lab* 1999;45:499-505.
 21. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AG, di Giovine FS, Kornman KS. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1999;70:567-573.
 22. McDevitt MJ, Wang HY, Knobelmann C, Newman MG, di Giovine FS, Timms H, Duff GW, Kornman KS. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol* 2000;71:156-163.
 23. Diehl SR, Wang YF, Brooks CN. Linkage disequilibrium of interleukin-1 genetic polymorphism with early onset periodontitis. *J Periodontol* 1999;70:418-430.
 24. Ehmke B, Kress W, Karch H, Grimm T, Klaiber B, Flemming TF. Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy. *J Clin Periodontol* 1999(supp):26:810-813.
 25. Parkhill JM, Henning BJW, Chapple ILC, Heasman PA, Taylor JJ. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:682-689.
 26. Caffesee RG, De La Rosa DM, De La Rosa GM, Weltman R. Effect of interleukin -1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery. *J Clin Periodontol* 2002;29:177-181.

27. Hurme M, Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma level are coordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1 β genes. *Eur J Immunol* 1998;28:2598-2602.
28. Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GM. Interleukin-1 beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998;25:781-785.
29. Anusaksathien O, Sukboon A, Sitthiphong P, Teanpaisan R. Distribution of Interleukin-1 β +3954 and IL-1 α -889 genetic variations in a Thai population group. *J Periodontol* 2003;74:1796-1802.
30. Guzman S, Karima M, Wang HY, Van Dyke TE. Association between Interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population. *J Periodontol* 2003;74:1183-1190.
31. Rawlinson A, Dalati MHN, Rahman S, Walsh TF, Fairclough AL. Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 2000;27:738-743.
32. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, Koide M, Ueda N, Amano K, Noguchi T. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodont Res* 1997;32:524-529.
33. Perrier S, Coussediere C, Dubost JJ, Albuisson E, Sauvezie B. IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) gene polymorphism in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;87:309-313.

The IL-1 Gene polymorphisms in Korean Children

Seong-Sik Yoon¹ · Hyun-Ju Chung^{1,3} · Ok-Su Kim^{1,3} · Ku-Ho Yang^{2,3}

¹Dept. of Periodontology, ²Dept. of Pediatric Dentistry,

³Dental Science Research institute, Chonnam National University

The severe form of chronic periodontitis(CP) has been reported to be strongly associated with the presence of allele 2 of composite IL-1B(+3954) and IL-1A(+4845) genetic polymorphisms(genotype positive). However, other studies have reported conflicting findings. These might have resulted from differences in ethnic background and disease entities.

The aim of this study was to determine the distribution of IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), and IL-1 RN(VNTR) genetic polymorphisms in children as a future Korean population. The study population consisted of 92 children from the Dept. of Pediatric Dentistry, Chonnam National University Hospital. Genomic DNA was obtained from buccal swab. The IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), and IL-1B(-511) genes were genotyped by amplifying the polymorphic region using multiplex polymerase chain reaction(PCR), followed by restriction enzyme digestion and gel electrophoresis. IL-1 RN(VNTR) polymorphism were then evaluated by PCR amplification and fragment size analysis in agarose gel.

The allele 2 frequency was 41.3%, 4.3%, 47.8%, and 9.9% for IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), and IL-1 RN respectively. The frequency of genotype with allele 2 carriage for IL-1A(+4845), IL-1B(+3954), IL-1B(-511), and IL-1 RN was 77.1%, 7.6%, 63.0%, and 15.2% respectively. The allele 2 frequency in IL-1B(+3954) was significantly higher in female than in male population($p < 0.05$). The negative association was shown between the presence of allele 2 in IL-1B(-511) and in IL-1B(+3954), and the carriage rate of IL-1B(+3954) allele 2 tended to lower in IL-1B(-511) allele 2($P = 0.056$). Only 7.3% of children carried the composite genotype of IL-1A(+4845) and IL-1B(+3954).

These results suggest that the polymorphism of IL-1B(+3954) and the positive composite genotype was relatively rare in Korean population.

Key words : IL-1 gene polymorphism, composite genotype, Korean