

소아 천식과 $\beta 2$ -Adrenoceptor 단일 염기 다형성 및 일배체형과의 연관성

인하대학교 의학전문대학원 소아과학교실¹, 인하대병원 환경보건센터²
제주대학교 의학전문대학원 소아과학교실³, 서울대학교 보건대학원 보건학과⁴

곽종훈¹ · 김정희^{1,2} · 임대현^{1,2} · 양준모² · 박신영³ · 조성일⁴ · 손병관^{1,2}

=Abstract=

Association between Major Single Nucleotide Polymorphism and Haplotype of the *ADRB2* Gene and Korean Children with Asthma

Jong Hun Kwak, MD, PhD¹, Jeong Hee Kim, MD, PhD^{1,2},
Dae Hyun Lim, MD, PhD^{1,2}, Jun Mo Yang, BS²,
Sin Young Park, MD³, Sung-Il Cho, MD, PhD⁴, Byong Kwan Son, MD, PhD^{1,2}

¹Department of Pediatrics, Inha University School of Medicine, Incheon,

²Environmental Health Center for Allergic Rhinitis, Inha University Hospital, Incheon,

³Department of Pediatrics, Jeju National University School of Medicine, Jeju,

⁴Department of Epidemiology, Graduate School of Public Health and
Institute of Health and Environment, Seoul National University, Seoul, Korea

Purpose : Development of asthma involves the interaction between genetic factors and environmental stimuli. This study aims to investigate whether major single nucleotide polymorphism (SNP)s and their haplotypes of the *ADRB2* ($\beta 2$ -adrenoceptor) gene are associated with children with asthma in Korea.

Methods : Children with asthma aging 5 to 15 years old were recruited as the patient group, and children without respiratory diseases or asthma of the same age were recruited as the control group. Blood samples of 5 mL were collected and DNA was extracted by standard methods. Genotyping was done for 6 SNPs known to have a frequency of more than 4%, including 1309A>G, 1342C>G, 1515G>A, 1786C>A, 2316G>C, 2502G>A.

Results : Overall, 438 subjects (214 patients and 224 controls) were included in this study. Minor allele homozygote frequency of 6 SNP were 22%, 1.8%, 11%, 12.3%, 21.2% and 13.0%, respectively. Differences between both groups of individual SNP frequencies were not statistically significant, although the difference of the frequency of the second SNP (1342C>G) has borderline significance ($P=0.06$). Overall distributions of haplotypes were not significantly different between both groups. However, analysis of specific SNPs among haplotypes revealed that haplotypes including the 2nd SNP were significantly associated with asthma (odds ratio, 1.7; 95% confidence interval, 1.1 to 2.6). Combinations of haplotypes excluding the 2nd SNP did not show significant difference between both groups.

Conclusion : This study suggests that the *ADRB2* gene polymorphism is associated with suscepti-

본 연구는 환경부의 환경보건센터 사업비와 인하대학교 연구비 지원을 받아 수행됨.

접수: 2012년 9월 10일, 수정: 2012년 10월 11일, 승인: 2012년 12월 17일

책임저자: 손병관, 인천광역시 중구 인항로 27 인하대학교 의학전문대학원 소아과학교실

Tel: 032)890-0900, Fax: 032)890-2629, E-mail: sonbk@inha.ac.kr

bility to childhood asthma and that analysis of haplotypes rather than SNPs is more reliable in this association. [Pediatr Allergy Respir Dis(Korea) 2012;22:354-363]

Key Words : Childhood asthma, Beta-2 adrenergic receptors, Single nucleotide polymorphism, Haplotype

서 론

천식은 천명, 기침, 호흡 곤란 등의 호흡기 증상, 기도 과민 반응 및 기도 폐색 증상을 보이는 만성 염증성 기도 질환이다. 또한 천식은 유전적인 요인과 환경 요인이 상호 작용하여 발현하는 복합 유전 질환이다.

유전적인 요인과 환경의 상호 작용으로 인해 발생하는 천식 연구에서 감수성을 가진 유전자를 찾는 것은 환경적인 요인을 발굴하는 것 못지 않게 중요하다. 유전자 연구를 통해 감수성이 있는 대상자를 조기에 선별할 수 있다면 이들이 환경적인 위험 요인에 노출되는 것을 차단하여 질환 발생의 예방도 가능하다. 유전적 특성은 지역이나 민족에 따른 차이가 있을 수 있으므로 우리나라 사람을 대상으로 하여 감수성을 지닌 유전자 연구를 하는 것이 필요하다.

유전체 연구에서 후보 유전자에 대한 개별적 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)이 질환 발생에 미치는 영향을 조사하는 것은 매우 중요하다. 그러나 유전체 영역의 다수 SNP들의 상호 작용이 질환 발생에 미치는 영향 또한 개별 SNP의 의의 이상으로 중요하다. 또한 단일 유전자에도 여러 개의 SNP가 존재할 수 있지만 단일 염색체 상의 SNP의 조합인 일배체형(haplotype)이 개별 SNP보다 단백질 코딩과 더 연관성이 있다. 게다가 질병에 영향을 주는 유전자들은 일배체형 블록 단위로 변이를 가지기 때문에 일배체형 블록 접근법은 개별 SNP를 이용한 연관성 연구 방법보다 통계적 검정력이 강하며 분명한 위치 파악이 용이하여 유전자 내의 모든 주요 변이에 대한 질병과의 연관성을 보다 정확히 평가할 수 있다.¹⁻³⁾

천식과 연관이 있다고 알려진 유전자에는 환경 오염물의 독성 영향을 조절하는 cytochrome P450 2E1⁴⁾ 및 mitogen-activated protein kinase,^{5,6)} 기관지 확장에 관여하는 $\beta 2$ -adrenoceptor (*ADRB2*),^{7,8)} 글루코코티코이드 약물의 수용체인 glucocorticoid receptor⁹⁾ 등이 있다.

천식 후보 유전자에 관한 연구가 가장 많이 이루어진 위치는 염색체 5q31-33 자리이다. 염색체 5q31-33 위치에는 아토피 반응을 조절하는 interleukin (IL)-4, IL-13, IL-5, CD14와 GM-CSF 등을 코딩하는 유전자가 포함된다.¹⁰⁾ *ADRB2*는 염색체 5q31-32에 위치하고 있는 intron이 없

는 유전자이다.^{11,12)}

ADRB2 유전자와 기관지 확장제에 대한 반응, 폐 기능, 기도 과민 반응, 그리고 천식 중증도와 연관 등에 관한 연구 등이 있으며 연구자에 따라 상이한 결과를 보였다. *ADRB2* 유전자 다형성과 기도 과민 반응간 연관성에 관한 국내의 연구에서는 코돈(codon) 16번과 27번의 일배체형의 유전자 다형성은 기도 과민 반응과 연관이 없었으며¹³⁾, 소아 천식, 기관지 과민 반응과도 연관이 없었다.¹⁴⁾ 하지만 국외 소아를 대상으로 한 연구에서는 *ADRB2* 유전자의 gln27 allele은 소아 천식의 위험도를 증가시켰다는 보고가 있다.¹⁵⁾ 기도 과민성은 자극에 대한 기도의 이상 수축 현상으로 천식을 진단하는데 필수적인 요인 중 하나이며 천식의 위험 인자로도 알려져 있다.¹⁶⁾ 따라서 본 연구는 천식의 중요한 특성 중 하나인 기도 과민성을 결정하는 것으로 알려진 *ADRB2* 유전자 다형성이 국내 소아 천식과 연관성이 있는지를 환자 대조군 연구를 통해 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2002년 7월부터 2004년 6월까지 인하대병원 소아청소년과에 방문한 5-15세 천식 환자를 환자군으로 모집하였다. 천식은 임상적으로 기침, 천명, 호흡 곤란 등의 증상이 있으면서 forced expiratory volume in 1 second (FEV₁)이 20% 이상 감소되는 메타콜린의 농도(provocative concentration of a methacholine causing a 20% fall in FEV₁, PC₂₀)가 16 mg/mL 이하인 경우로 정의하였다. 대조군은 현재 호흡기 질환이 없으며 천식의 병력이 없이 보통이나 현미경적 혈뇨를 주소로 내원한 일반 특성이 환자군과 비슷한 소아를 모집하였다.

환자군의 천식 중증도는 체혈 시점을 기준으로 하여 2002 Global Initiative for Asthma 가이드라인(www.ginasthma.com)의 지침¹⁷⁾에 따라 분류하였다.

본 연구의 목적 및 시행 방법을 대상자와 보호자에게 설명하여 보호자의 동의서를 취득하였다.

2. 연구 방법

1) 설문조사

설문지를 통해 인구학적 특성, 천식 및 알레르기 질환의 병력, 가족력 등에 관한 정보를 조사하였다. 수유 형태는 6개월 이상 모유 수유 하였을 때 모유 수유로 정의하였다. 설문지 작성은 대상자의 부모가 작성하였다.

2) SNP 유전형 분석

대상자의 혈액 5 mL를 채혈하여 Puregene DNA 혈액 키트(Gentra, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 DNA를 분리하여 -20℃에서 보관하였다. Polymerase chain reaction 반응에 이용한 primer는 Table 1과 같다. *ADRB2* SNP의 유전형은 자동화된 SNPstream 25K 장치(Orchid Biosciences, Princeton, NJ, USA)를 이용하여 SNP-IT assay로 분석하였다.

3) 일배체형 분석 방법

유전형으로부터 일배체형을 추정할 수 있는 소프트웨어인 Bayesian algorithm¹⁸⁾을 이용한 PHASE V 2.1.1을 사용하여 일배체형을 재구성하였다.

4) 일배체형-tagging SNP (haplotype-tagging SNP, htSNP) 선정

특정 일배체형을 구분할 수 있는 최소한의 SNP의 세트(set)인 htSNP는 tagSNPs 소프트웨어 V 1.1을 사용하여

선정하였다.

3. 통계 분석

통계분석은 SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하였다. 천식군과 대조군 사이의 독립 변수간의 평균치 비교는 Student's *t*-test로 분석하였고, 주거환경 같은 두 군 간의 빈도 비교는 chi-square test를 하였고 사례가 적은 경우에는 Fisher's exact test를 하였다. SNP간 대응 linkage disequilibrium (LD) 분석은 SAS/Genetics 모듈을 이용하여 분석하였다. 천식과 유전자 다형성과의 관련성은 로지스틱 회귀 분석(logistic regression)을 시행하였다. *P* 값이 0.05 이하인 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 설문조사

전체 등록 대상자는 환자군 214명과 대조군 224명으로 총 438명이었다. 환자군은 간헐성 천식 39.4%, 경증 지속성 39.4%, 중등증 지속성 21.2%였다.

전체 천식 환자군의 평균 연령은 6.1세였고 대조군의 평균 연령은 6.7세였으며 연령에 대해 범주화하여 연령대별

Table 1. PCR Primers for SNP Genotyping in The Loci of $\beta 2$ -Adrenoceptor Gene

No.	SNP	Rs no.	DNA/mRNA		Primer sequence
1	G16R	rs1042713	1,309/265	Forward primer	CCACAGCCGCTGAATGA
				Reverse primer	CCAGTGAAGTGATGAAGTAGTTG
				Genotyping primer	CAGCGCCTTCTTGCTGGCACCCAAT
2	Q27E	rs1042714	1,342/298	Forward primer	TTCTTGCTGGCACCCAAT
				Reverse primer	GACATGACGATGCCCATG
				Genotyping primer	TGCGCCGGACCACGXCGXCACGCAG
3	L84L	rs1042717	1,515/471	Forward primer	CAACTACTTCATCACTTCACTG
				Reverse primer	ACATTTTCATAAGAATATGGGCG
				Genotyping primer	CCTGTGCTGATCTGGTCATGGGCCT
4	R175R	rs1042718	1,786/742	Forward primer	ATTGTGTGTCAGGCCTTACCTC
				Reverse primer	GTCTCATTGGCATAGCAGTTG
				Genotyping primer	CTTGCCCATTCAGATGCACTGGTAC
5	G351G	rs1042719	2,316/1272	Forward primer	TTCCAGGAGCTTCTGTGC
				Reverse primer	ATATCCACTCTGCTCCCTG
				Genotyping primer	TGTTGCCGTTGCTGGAGTAGCCATT
6	L413L	rs1042720	2,502/1458	Forward primer	ATAACATTGATTACAAGGGAGG
				Reverse primer	TTAAATAGTCTGTTTAGTGTCTGTGG
				Genotyping primer	ATTGTAGTACAAATGACTCACTGCT

PCR, polymerase chain reaction; SNP, single nucleotide polymorphism.

분포의 동질성을 평가한 결과는 두 군 간 차이가 없었다. (Table 2)

천식 환자군이 대조군보다 알레르기 질환을 가지고 있는 경우가 많았다. (Table 2) 가족력에서도 기관지 천식 뿐 아니라 아토피피부염이나 알레르기비염이 있는 가족이 환자군에서 유의하게 많았다. (Table 2)

성, 재태 기간, 출생 체중, 수유 형태 등은 환자군과 대조군 간에 유의한 차이가 없었다. (Table 2) 환자군과 대조군 간 거주 형태, 난방이나 취사에 이용하는 연료는 차이가 없었다. 임신 중 흡연, 집안 내 흡연자는 환자군에서 대조군보다 많았으나 통계적으로 유의하지 않았고, 어머니의 현재 흡연도 환자군에서 대조군보다 많았으나 통계적인 유의성은 없었다. ($P=0.0655$) (Table 3)

2. 유전자 분석

1) SNP 분포

ADRB2 유전자의 6개의 위치에서 대립유전자(allele) 빈도를 분석하였다. (Table 4) 6가지 SNP에 따른 minor 동형성(homozygote) 빈도는 각각 22%, 1.8%, 11%, 12.3

%, 21.2%, 13.0%였다. 1342 C>G (rs1042714)의 경우, 환자군은 대조군에 비해 1342 CG 혹은 GG의 분포가 경계선상으로 유의하게 높음을 알 수 있었다. ($P=0.06$) 그 외 5개 위치의 SNP은 환자군과 대조군간 유의한 차이가 없었다.

2) SNP간 연쇄불평형(LD)

6개 위치에서 SNP 간 LD를 분석하였을 때 일부 SNP간에는 유의한 LD 관계를 확인할 수 있었다. (Fig. 1) SNP1309-SNP 1515 ($P<0.01$), SNP1309-SNP1786 ($P<0.01$), SNP1309-SNP2316 ($P<0.05$), SNP1342-SNP2502 ($P<0.05$), SNP1515-SNP1786 ($P<0.01$), SNP1515-SNP 2316 ($P<0.01$), SNP1515-SNP2502 ($P<0.05$), SNP 1786-SNP2316 ($P<0.01$), SNP1786-SNP2502 ($P<0.05$), SNP2316-SNP2502 ($P<0.05$) 간에는 유의한 LD관계가 있었다.

3) 일배체형 분포

일부 SNP간 LD를 확인하였지만 단일 SNP간 LD 지도보다 일배체형을 유전 마커로 사용하면 보다 많은 유전적 정보력을 얻을 수 있으므로 6개의 SNP로 일배체형을 구성

Table 2. General Characteristics of Subjects

Variable	Asthma group (n=214)	Control group (n=224)	Odds ratio (95% CI)	P-value
Age (yr)				
5-6	138/214 (64.49)	138/224 (61.61)		0.3379
7-12	69/214 (32.24)	72/224 (32.14)		
13-16	7/214 (3.27)	14/224 (6.25)		
Gender				0.6958
Male	136 (63.55)	137 (61.16)		
Female	78 (36.45)	87 (38.84)		
Gestational period (wk)	39.1 \pm 2.0	39.2 \pm 2.0		0.3005*
Birth weight (kg)	3.3 \pm 0.5	3.3 \pm 0.5		0.5000*
Lactation Type				0.8310
Breast milk	62/195 (31.79)	55/164 (33.54)		
Artificial milk	109/195 (55.90)	92/164 (56.10)		
Allergic diseases				
Food allergy	29 (13.55)	20 (8.93)	1.60 (0.85-3.01)	0.1421
Atopic dermatitis	97 (45.33)	70 (31.25)	1.82 (1.23-2.70)	0.0026
Allergic rhinitis	94 (43.93)	45 (20.09)	3.08 (1.99-4.77)	<0.0001
Familial allergic diseases				
Bronchial asthma	69 (32.24)	32 (14.29)	2.83 (1.83-4.38)	<0.0001
Allergic rhinitis	99 (46.26)	60 (26.79)	2.42 (1.66-3.52)	<0.0001
Atopic dermatitis	61 (28.50)	33 (14.73)	2.30 (1.48-3.59)	<0.0001

Values are presented as number (%) or mean \pm standard deviation.

Calculated by chi-square test.

CI, confidence Interval.

*Calculated by Student's *t*-test.

하였다. 4% 이상의 빈도를 보이는 상위 5가지 일배체형은 GCAACA (31.5%), ACGCGG (25.7%), ACGCGA (16.1%), ACGCCA (10.5%), GGGCGG (9.8%)이었다.(Table 5) 나머지 일배체형은 모두 1% 미만으로 매우 빈도가 적었다. 환자군과 대조군간에 유의한 차이를 보이는 일배체형은 없었다.(Table 5)

4) htSNP

4% 이상의 빈도를 나타낸 5가지 일배체형에 대하여 htSNP를 이용하여 분석한 결과, 4가지의 htSNP (2번째, 3번째, 5번째, 6번째 SNP)로도 5가지 일배체형의 90%를 설명할 수 있었고 6개의 SNP를 모두 포함시켰을 때 일배체형의 96%를 설명할 수 있었다.

5) 일배체형 조합과 천식 위험도

htSNP로 *ADRB2* 일배체형의 조합과 천식 발생 위험을 분석하였을 때 두 번째 SNP를 포함하는 일배체형의 경우 천식 발병 위험은 1.66 (95% confidence interval [CI], 1.08-2.55)으로 증가하였다. *ADRB2*의 2, 4번째 SNP를 포함하는 일배체형은 천식 발병 위험이 1.71 (95% CI, 1.03-2.64)이었고 *ADRB2*의 2, 4, 5번째 SNP를 포함하는 일배

체형은 천식 발병 위험이 1.72 (95% CI, 1.11-2.68)이었다.(Table 6)

고 찰

본 연구는 한국인 소아에서 *ADRB2* 유전자의 주요 SNP 및 일배체형이 천식 발병과 연관이 있는지를 조사하고자 4% 이상의 빈도를 보인다고 알려진 *ADRB2* 유전자의 6군데의 SNP를 대상으로 유전형을 분석하였으며 그 결과 Q27E인 DNA 1342 bp위치의 gln27-glu로의 아미노산 변화가 환자-대조군 간에 경계선상의 유의한 차이가 있었고($P=0.06$) 이 SNP를 포함하는 일배체형의 구성을 분석하였을 때 환자-대조군 간에 유의한 차이를 확인할 수 있었다.(OR, 1.66; 95% CI, 1.08-2.55) 이는 *ADRB2* 유전자 다형성이 소아 천식과 연관성이 있으며, 유전자의 기능을 분석하는데 있어 일배체형의 분석이 개별적인 SNP보다 중요함을 시사한다.

ADRB2 유전자의 대표적인 단일 염기 다형성으로는 arg 16-gly, gln27-glu, val34-met 및 thr164-ile 등이 알려져 있으며 이 중 16번, 27번 유전자 다형성의 빈도가 가장 높

Table 3. Characteristics of Living Environment of Subjects

Variable	Asthma group (n=214)	Control group (n=224)	Odd ratio (95% CI)	P-value
Housing type			1.2161 (0.78-1.90)	0.3919*
Apartment, town house	159 (77.18)	153 (73.56)		
House	47 (22.82)	55 (26.44)		
Heating type			0.7550 (0.41-1.40)	0.3724*
Central heating	20 (11.36)	27 (14.52)		
Individual heating	156 (88.64)	159 (85.48)		
Heating fuel			0.9797 (0.50-1.90)	0.9517*
Gas	165 (89.19)	160 (89.39)		
Etc.	20 (10.81)	19 (10.61)		
Cooking fuel			1.95 (0.48-7.90)	0.1743 [†]
Gas	188 (98.43)	193 (96.98)		
Etc.	3 (1.57)	6 (3.02)		
Smoking during pregnancy			2.1471 (0.72-6.39)	0.1603*
Yes	10 (4.67)	5 (2.23)		
No	204 (95.33)	219 (97.77)		
Current smoking of mother			3.2148 (0.79-13.11)	0.0655 [†]
Yes	7 (13.46)	3 (4.62)		
No	45 (86.54)	62 (95.38)		
Smoking among family members			1.2862 (0.88-1.88)	0.1916*
Yes	126 (58.88)	118 (52.68)		
No	88 (41.12)	106 (47.32)		

Values are presented as number (%).

CI, confidence Interval.

*Calculated by chi-square test. [†]Calculated by Fisher's exacttest.

고¹⁹⁾ 이들의 단일 염기 다형성 및 일배체형 다형성과 천식과의 연관성에 관한 연구가 많다.

본 연구에서는 arg16-gly 유전자 다형성은 천식 발생과 연관이 없었다. 이는 호주의 연구 결과에서도 16번의 유전자 다형성이 천식 발생과 무관하다는 결과와 일치하지만²⁰⁾ 이 연구에서 gly16 유전자 다형성은 천식의 심한 정도에 영향을 미칠 수 있다고 하였다. 본 연구에서는 자료를 제시하지는 않았지만 천식 분류와 유전자 단일 염기 다형성 및 일배체형 다형성간 상관성을 찾을 수 없었다. 또 야간 천식 환자, 즉 밤에 최대 호기 속도가 감소되는 환자와 그러한 야간성 악화가 없는 천식환자를 비교한 연구 결과, gly16 allele는 야간 천식 위험이 arg16에 비해 3.8배 증가되어 있었다.²¹⁾ 또한 후터라이트인을 대상으로 한 유전형 연구에서도 동형성 arg16 allele의 유전자 다형성이 천식 발생과는 연관이 없지만 12세 이상 성인의 폐 기능 감소와는 연관이 있었다는 보고가 있다.²²⁾ 이처럼 16번의 유전자 다형성은 천식 발생과는 무관하다는 연구 결과가 일반적이다. 그러나 정확

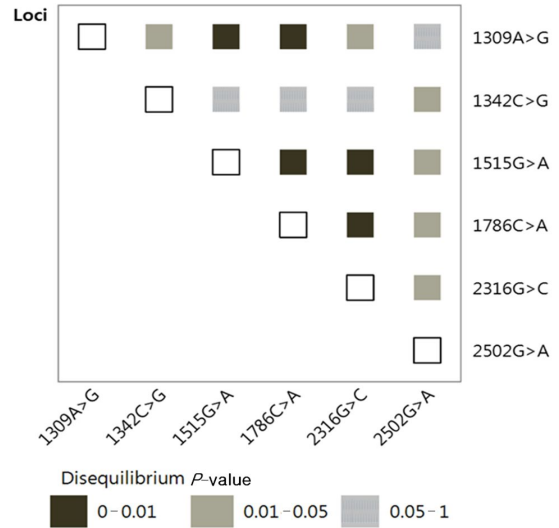


Fig. 1. Pairwise linkage disequilibrium between single nucleotide polymorphism markers of the $\beta 2$ -adrenoceptor gene.

Table 4. The Distribution of $\beta 2$ -Adrenoceptor Genotypes

Exon no.	Position (DNA/mRNA)	Genotype (n=438)	Asthma group (n=214)	Control group (n=224)	OR (95% CI)	P-value
1.1	1,309/265	AA, 132 (30.1)	62 (28.7)	70 (31.5)	1	0.86
		AG, 206 (47.0)	104 (48.1)	102 (46.0)	1.15 (0.74-1.78)	
		GG, 97 (22.2)	48 (22.2)	49 (22.1)	1.11 (0.65-1.87)	
		Unable to analyze, 3 (0.7)	2 (1.0)	1 (0.4)		
	1,342/298	CC, 346 (79.0)	163 (75.4)	183 (82.4)	1	0.06
		CG, 78 (17.8)	44 (20.4)	34 (15.3)	1.45 (0.89-2.38)	
		GG, 8 (1.8)	7 (3.2)	1 (0.5)	7.86 (0.96-64.56)	
		Unable to analyze, 6 (1.6)	2 (1.0)	4 (1.8)		
1.2	1,515/471	AA, 48 (11.0)	21 (9.7)	27 (12.2)	1	0.64
		GA, 189 (43.1)	95 (44.0)	94 (42.3)	1.30 (0.69-2.46)	
		GG, 192 (43.8)	97 (44.9)	95 (42.8)	1.31 (0.69-2.48)	
		Unable to analyze, 9 (2.1)	3 (1.4)	6 (2.7)		
1.4	1,786/742	AA, 54 (12.3)	20 (9.3)	34 (15.3)	1	0.18
		CA, 176 (40.2)	94 (43.5)	82 (36.9)	1.95 (1.04-3.65)	
		CC, 191 (43.6)	95 (44.0)	96 (43.3)	1.68 (0.90-3.13)	
		Unable to analyze, 17 (3.9)	7 (3.2)	10 (4.5)		
1.7	2,316/1,272	CC, 93 (21.2)	46 (21.3)	47 (21.2)	1	0.72
		CG, 207 (47.3)	97 (44.9)	110 (49.5)	0.90 (0.55-1.47)	
		GG, 133 (30.4)	70 (32.4)	63 (28.4)	1.14 (0.67-1.93)	
		Unable to analyze, 5 (1.1)	3 (1.4)	2 (0.9)		
1.8	2,502/1,458	AA, 165 (37.7)	79 (36.6)	86 (38.7)	1	0.50
		GA, 203 (46.3)	103 (47.7)	100 (45.0)	1.12 (0.74-1.69)	
		GG, 57 (13.0)	30 (13.9)	27 (12.2)	1.21 (0.66-2.21)	
		Unable to analyze, 13 (3.0)	4 (1.8)	9 (4.1)		

Values are presented as number (%).
OR, odds ratio; CI, confidence interval.

Table 5. The Frequencies of $\beta 2$ -Adrenoceptor Haplotypes

Haplotype	Asthma group	Control group	Total	<i>P</i> -value
GCAACA	128 (29.6)	148 (33.3)	276 (31.5)	0.41
ACGCGG	106 (24.5)	119 (26.8)	225 (25.7)	
ACGCGA	66 (15.3)	75 (16.9)	141 (16.1)	
ACGCCA	48 (11.1)	44 (9.9)	92 (10.5)	
GGGCGG	51 (11.8)	35 (7.9)	86 (9.8)	
GCAACG	4 (0.9)	4 (0.9)	8 (0.9)	
GCGCGA	5 (1.2)	1 (0.2)	6 (0.7)	

Values are presented as frequency (%).

Table 6. Frequencies of $\beta 2$ -Adrenoceptor Haplotypes and Asthma Risk from htSNPs Analysis

Haplotype	Asthma group	Control group	OR (95% CI)	<i>P</i> -value*
Inclusion of the 2nd SNP	58 (13.4)	38 (8.6)	1.66 (1.08-2.55)	0.0228
Inclusion of the 3rd SNP	290 (67.1)	285 (64.2)	1.14 (0.86-1.51)	0.3853
Inclusion of the 4th SNP	292 (67.6)	283 (63.7)	1.19 (0.90-1.57)	0.2128
Inclusion of the 5th SNP	239 (55.3)	237 (53.4)	1.08 (0.83-1.41)	0.5890
Inclusion of the 6th SNP	170 (39.4)	166 (37.4)	1.09 (0.83-1.43)	0.5500
Inclusion of the 2nd and 4th SNP	58 (13.4)	37 (8.3)	1.71 (1.03-2.64)	0.0146
Inclusion of the 2nd, 4th, 5th SNP	57 (13.1)	36 (8.1)	1.72 (1.11-2.68)	0.0157
Inclusion of all 2nd, 3rd, 5th, 6th SNPs	55 (12.7)	36 (8.1)	1.65 (1.06-2.58)	0.0258
Analysis of a single haplotype with the highest frequency (#14) among the haplotypes that include the 2nd, 4th, 5th SNP	51 (11.8)	35 (7.9)	1.56 (1.00-2.46)	0.0519

Values are presented as frequency (%).

OR, odds ratio; CI, confidence interval; htSNPs, haplotype-tagging SNP; SNP, single nucleotide polymorphism.

*Likelihood ratio chi-square test.

한 천식 표현형의 분류와 통계적인 검정력이 충분할 정도의 대상자를 포함시킨 광범위한 연구를 통하여 보다 객관화된 자료들이 확보되어야 천식의 심한 정도, 야간 천식 증상, 폐 기능 감소 등과 연관성을 보이는 유전자 다형성의 차이에 대한 결론을 내릴 수 있다고 생각한다.

영국의 일반 소아를 대상으로 한 유전형 연구에서 gln27 allele은 천식 위험도를 2.18배 증가시켰고, 동형성 glu27 allele의 경우에는 0.46으로 감소시켰다는 연구결과가 있었다.¹⁵⁾ 이는 본 연구의 동형성 glu27인 경우 천식 발병 위험이 증가하는 경향을 보인 것(OR, 7.86; 95% CI, 0.96-64.56)과 상이하다. 후자의 연구에서는 27번의 유전자 다형성이 천식 발생과는 무관하였다.²⁰⁾

국내의 *ADRB2* 유전자 다형성과 소아 천식과의 연구 결과를 보면 16번과 27번의 일배체형의 유전자 다형성이 천식 및 기도 과민성과 연관성이 없었으며¹⁴⁾ 성인을 대상으로 한 연구에서도 16번, 27번 각각의 유전자 다형성이 기도 과민성 및 아토피와는 관련을 보이지 않았으나 아토피군에서

gly16-gln27 일배체형은 야간 기침의 발생과 연관이 있었다.¹³⁾ 그러나 소아 천식 환자를 대상으로 한 본 연구에서는 *ADRB2* 유전자의 6군데 SNP를 포함하는 4% 이상의 빈도를 보이는 일배체형 5가지 중 glu27 SNP를 포함하는 일배체형은 천식과 연관이 있었다.

ADRB2 다형성과 약물 반응과의 연관성에 관한 실험실 연구에서는 *ADRB2* gly16 allele은 arg16에 비해 효용제 촉진 수용체 감소(agonist-promoted downregulation)와 연관이 있었다.²³⁾ 또한 arg16-glu27이 같이 표현되는 유전형도 gln27에 비해 수용체 감소와 연관성이 있었다. 소아 천식 환자에 대한 연구에서는 동형성 arg16에서 동형성 gly16에 비해 albuterol에 대해 호전되는 반응이 더 컸다.²⁴⁾ 따라서 동형성 gly16 유전형의 경우 기관지 확장제만으로는 치료가 충분하지 않고 스테로이드 치료가 추가적으로 필요하다고 판단하였다. 또 다른 확률화 임상 시험(randomized clinical trial)에서는 동형성 arg16 유전형의 천식 환자는 albuterol을 장기간 사용하는 경우 오히려 호흡의

개선이 저하되는 것을 확인하였으며²⁵⁾ 따라서 이들은 동형성 arg16 유전형의 환자들에게는 albuterol의 사용을 피하는 것이 바람직하다는 결론을 내렸다. 그 외 *ADRB2*의 16번 위치의 특정 유전형은 지속형 기관지 확장제를 규칙적으로 사용하였을 때 천식 증상의 악화 및 사망과도 연관이 있었다는 연구 결과가 있다.²⁶⁾

Arg16-gly, gln27-glu의 두 군데 다형성은 LD가 높은 것으로 알려져 있지만 빈도는 인종마다 차이가 있다. 본 연구에서도 두 군데 SNP는 통계적으로 유의한 LD가 있음을 확인할 수 있었다.(Fig. 1). 국내의 연구에서 gly16-gln27 일배체형의 빈도가 천식 관해 후에도 기도 과민 반응이 지속되는 청소년에서 유의하게 높은 결과를 보였다.²⁷⁾

이와 같이 각 연구의 결과들이 일치하지 않기 때문에 아직은 *ADRB2* 유전자 다형성과 천식의 연관성에 관하여 확실한 결론을 내릴 수 없는 단계이다. 이러한 서로 다른 국내외 연구 결과들은 지역, 인종간의 차이 이외에도 연구 대상 천식 환자의 표현형이 매우 다양하고 원인 항원의 차이 및 대기 오염, 흡연, 식품, 감염 등 노출된 환경 인자 또한 다양하여 그 분석이 용이하지 않기 때문으로 해석된다. 따라서 보다 세분화된 집단을 대상으로 하는 연구가 지속되어야만 특정 표현형의 천식과 유관한 유전자를 찾아낼 수 있다고 판단된다.

본 연구의 대조군은 천식이 없는 복통 혹은 현미경적 혈뇨로 내원한 소아를 대상으로 하여 모집단을 대표하지 못한다는 제한점이 있다. 또한 일배체형의 중요성이 인식되면서 유전자 감수성의 연구에서 일배체형 연구가 확립되고 있음에도 불구하고 본 연구 결과를 통해 비록 일배체형을 이용한 새로운 정보가 개별 SNP의 분석보다 더 분명한 차이를 보여주었지만 SNP분석에서 나타나지 않았던 새로운 결과를 발견할 수는 없었음을 확인하였다. 천식과 같은 만성 질환은 복합적인 유전 질환이므로 강한 영향을 주는 특정 SNP과 일배체형을 발견하는 과정에는 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 여러 유전자의 상호 작용이 일어나기 때문에 어떤 유전자의 변이가 질환 발생에 영향을 미칠 수 있어도 다른 경로를 통한 적응이 일어난다면 그 영향을 찾아내지 못할 수도 있기 때문에 특정 유전형을 찾기가 어렵다. 게다가 이 연구의 소아 천식과 *ADRB2* 유전자 다형성과의 연관이 강하지 않은 이유 중의 하나는 대상자의 천식 중증도, 치료 약제, 천식의 표현형 등이 일정하지 않은 점을 들 수 있다. 본 연구에서는 간헐성, 경증지속성, 중등증 지속성 천식 등 중증도가 다른 천식 소아들이 혼합되어 있었고 각 그룹의 수가 많지 않아 중증도에 따른 유전자 다형성에 차이가

없었으나 이에 대하여는 더 많은 대상자를 모집하여 추가적인 분석이 필요하다고 생각된다. 그리고 *ADRB2* 유전자의 특성상 $\beta 2$ -항진제에 대한 반응이 유전형에 따라 차이를 보일 수도 있는데 이 부분에 관하여도 추가적인 연구가 필요하다. 향후 이러한 부분을 보완하여 특정 표현형과 특성을 가진 세분화된 천식 환자와 일반인을 비교 분석하는 대규모 연구가 진행된다면 *ADRB2* 유전자 다형성과 천식의 특정한 연관성을 확인할 수 있을 것으로 기대한다.

결론적으로 본 연구는 소아 천식 발생과 관련된 것으로 알려진 6군데 *ADRB2* 유전자에 위치하는 유전형을 분석하여, gln27-glu의 다형성을 포함하는 일배체형의 구성이 천식과 연관이 있음을 발견하였다.

요 약

목 적: 천식은 유전적 소인과 다양한 환경 요인들이 복합적으로 작용하여 발생하는 복합 유전 질환이다. 본 연구는 한국인 소아에서 $\beta 2$ 아드레날린 수용체 유전자의 주요 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 및 일배체형이 한국 소아 천식과 연관성이 있는지를 알아보고자 하였다.

방 법: 5-15세의 천식 소아들을 환자군으로 모집하였고 호흡기 및 알레르기 질환이 없는 동일한 연령의 소아를 대조군으로 모집하였다. 표준화된 방법에 따라 5 mL를 채혈하여 DNA를 분리하였고 빈도가 4% 이상으로 알려진 6 군데의 유전자 다형성을 분석하였다. 이들은 DNA 염기쌍 1309A>G, 1342C>G, 1515G>A, 1786C>A, 2316G>C, 2502G>A였다.

결과: 대상자는 총 438명이었고 환자군은 214명, 대조군은 224명이었다. 6가지 SNP에 따른 minor 동형성(homozygote) 빈도는 각각 22%, 1.8%, 11%, 12.3%, 21.2%, 13.0%였다. 환자-대조군 간에 개별 SNP의 빈도 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나 2번째 SNP인 1342C>G는 환자-대조군 간 경계선상의 유의한 차이를 보였다($P=0.06$). 일배체형의 전반적인 분포는 환자-대조군 간에 유의한 차이가 발견되지는 않았다. 일배체형들 중에서 특정 SNP이 포함된 조합을 분석하였을 때, 2번째 SNP을 포함하는 경우 환자-대조군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다(odds ratio, 1.7; 95% confidence interval, 1.1-2.6). 2번째 SNP이 포함되지 않은 조합은 두 군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다.

결 론: *ADRB2* 유전자의 1342C>G SNP를 포함하는

일배체형은 소아 천식과 연관성이 있었다. 이는 *ADRB2* 유전자 다형성이 소아 천식의 감수성과 연관이 있으며, SNP 보다는 일배체형의 분석이 보다 중요함을 시사한다.

참 고 문 헌

1. Daly MJ, Rioux JD, Schaffner SF, Hudson TJ, Lander ES. High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat Genet* 2001;29:229-32.
2. Johnson GC, Esposito L, Barratt BJ, Smith AN, Heward J, Di Genova G, et al. Haplotype tagging for the identification of common disease genes. *Nat Genet* 2001;29:233-7.
3. Nothnagel M, Rohde K. The effect of single-nucleotide polymorphism marker selection on patterns of haplotype blocks and haplotype frequency estimates. *Am J Hum Genet* 2005;77:988-98.
4. Haag M, Leusink-Muis T, Le Bouquin R, Nijkamp FP, Lugnier A, Frossard N, et al. Increased expression and decreased activity of cytochrome P450 1A1 in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. *Arch Toxicol* 2002;76:621-7.
5. Wancket LM, Frazier WJ, Liu Y. Mitogen-activated protein kinase phosphatase (MKP)-1 in immunology, physiology, and disease. *Life Sci* 2012;90:237-48.
6. Chung KF. p38 mitogen-activated protein kinase pathways in asthma and COPD. *Chest* 2011;139:1470-9.
7. Su MW, Tung KY, Liang PH, Tsai CH, Kuo NW, Lee YL. Gene-gene and gene-environmental interactions of childhood asthma: a multifactor dimension reduction approach. *PLoS One* 2012;7:e30694.
8. Blumenthal MN. Role of β 2-adrenoceptor, M3 cholinoreceptor genes, and corticosteroids in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;108:7-8.
9. Panek M, Pietras T, Antczak A, Gorski P, Kuna P, Szemraj J. The role of functional single nucleotide polymorphisms of the human glucocorticoid receptor gene NR3C1 in Polish patients with bronchial asthma. *Mol Biol Rep* 2012;39:4749-57.
10. Shirakawa I, Deichmann KA, Izuhara I, Mao I, Adra CN, Hopkin JM. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000;21:60-4.
11. Kobilka BK, Dixon RA, Frielle T, Dohlman HG, Bolanowski MA, Sigal IS, et al. cDNA for the human beta 2-adrenergic receptor: a protein with multiple membrane-spanning domains and encoded by a gene whose chromosomal location is shared with that of the receptor for platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:46-50.
12. Kobilka BK, Frielle T, Collins S, Yang-Feng T, Kobilka TS, Francke U, et al. An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Nature* 1987;329:75-9.
13. Kim SH, Oh SY, Oh HB, Son SW, Chang YS, Kim YK, et al. Association between beta2-adrenoceptor polymorphism and asthma phenotypes in the general population. *J Asthma Allergy Clin Immunol* 2001;21:1152-60.
14. Hong SJ, Kim BS, Kim JH, Oh HB, Lee MS, Choi SO, et al. Beta2-adrenoceptor Polymorphisms between Asthmatic and Normal Children in Korea. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)* 2002;12:253-62.
15. Hopes E, McDougall C, Christie G, Dewar J, Wheatley A, Hall IP, et al. Association of glutamine 27 polymorphism of beta 2 adrenoceptor with reported childhood asthma: population based study. *BMJ* 1998;316:664.
16. Hopp RJ, Townley RG, Biven RE, Bewtra AK, Nair NM. The presence of airway reactivity before the development of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:2-8.
17. Global Initiative for Asthma. 2002 Original: Workshop Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention [Internet]. [place unknown]: The Global Initiative For Asthma; [copyright year unknown] [cited 2006 Aug 10]. Available from: <http://www.ginasthma.org/guide-lines-archived-2002-original-workshop-report.html>.
18. Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001;68:978-89.
19. Reihnsaus E, Innis M, MacIntyre N, Liggett SB.

- Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:334-9.
20. Holloway JW, Dunbar PR, Riley GA, Sawyer GM, Fitzharris PF, Pearce N, et al. Association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1097-103.
21. Turki J, Pak J, Green SA, Martin RJ, Liggett SB. Genetic polymorphisms of the beta 2-adrenergic receptor in nocturnal and nonnocturnal asthma. Evidence that Gly16 correlates with the nocturnal phenotype. *J Clin Invest* 1995;95:1635-41.
22. Summerhill E, Leavitt SA, Gidley H, Parry R, Solway J, Ober C. beta(2)-adrenergic receptor Arg16/Arg16 genotype is associated with reduced lung function, but not with asthma, in the Hutterites. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162 (2 Pt 1):599-602.
23. Green SA, Turki J, Bejarano P, Hall IP, Liggett SB. Influence of beta 2-adrenergic receptor genotypes on signal transduction in human airway smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:25-33.
24. Martinez FD, Graves PE, Baldini M, Solomon S, Erickson R. Association between genetic polymorphisms of the beta2-adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J Clin Invest* 1997;100:3184-8.
25. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, et al. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet* 2004;364:1505-12.
26. Taylor DR, Drazen JM, Herbison GP, Yandava CN, Hancox RJ, Town GI. Asthma exacerbations during long term beta agonist use: influence of beta (2) adrenoceptor polymorphism. *Thorax* 2000;55:762-7.
27. Kang H, Koh YY. Analysis of the association between bronchial hyperresponsiveness and genetic polymorphism of beta2-adrenoceptor in adolescents with long-term asthma remission. *Korean J Pediatr* 2007;50:556-64.