Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 55, No. 1, Jul, 2003

□ 원 저 □

만성폐쇄성폐질환 발생에 Epoxide hydrolase와 GSTM1유전자 다형성의 의의

전남대학교 의과대학 내과학교실, 흉부외과학교실*

박상선, 김은정, 손창영, 위정욱, 박경화, 조계중, 주진영, 김규식, 김유일, 임성철, 김영철, 박경옥, 나국주*

=Abstract=

Genetic Polymorphism of Epoxide Hydrolase and GSTM1 in Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Sang Sun Park, M.D., Eun Joung Kim, B.A., Chang Young Son, M.D., Jeong Ook Wi, M.D., Kyung Hwa Park, M.D., Gye Jung Cho, M.D., Jin Young Ju, M.D., Kyu Sik Kim, M.D., Yu Il Kim, M.D., Sung Chul Lim, M.D., Young Chul Kim, M.D., Kyung Ok Park, M.D., and Kook Joo Na, M.D*.

*Department of Internal Medicine and Thoracic and Cardiovascular Surgery**
Chonnam National University Medical School, Gwangju, South Korea

Background : Although smoking is a major cause of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), only 10-20% of cigarette smokers develop symptomatic COPD, which suggests the presence of genetic susceptibility. This genetic susceptibility to COPD might depend on variations in the activities of the enzyme that detoxify hazardous chemical products, such as microsomal epoxide hydrolase (mEPHX) and glutathione-S transferase M1 subunit (GSTM1) genes.

Methods : The genotypes of 58 patients with COPD, and 79 age matched control subjects, were determined by a polymerase chain reaction, followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) for the mEPHX, and multiplex PCR for the GSTM1.

Results : GSTM1 was deleted in 53.3% of the subjects. There was no difference in GSTM1 deletion rates between the COPD patients (32/58, 55.2%) and the control subjects (41/79, 51.9%). The combination

†이 연구는 전남대학교 병원 임상연구소 학술연구비(CUHRI-U-200217)에 의하여 이루어 졌음.

Address for correspondence :
Young-Chul Kim, M.D.
Department of Internal medicine, Chonnam National University Medical School
8 Hakdong Gwangju 501-757, South Korea
Phone : 062-220-6573 Fax : 062-225-8578 E-mail : kyc0923@jnu.ac.kr

patterns of two polymorphisms of mEPHX showed slow enzyme activity in 29(21.2%), normal in 73(53.3%) and fast in 32(23.4%). The COPD group (7/57, 12.3%) showed a significantly lower incidence of slow enzyme activity compared to the control subjects (22/77, 28.6%, $p<0.05$). However, when the COPD and control groups were compared with smokers only, there were no significant differences in the genotypes of GSTM1 and mEPHX.

Conclusion : The genotypes of GSTM1 and mEPHX were not significant risk factors of COPD in this cohort of study. **(Tuberculosis and Respiratory Diseases 2003, 55:88-97)**

Key words : COPD, mEPHX, GSTM1.

서 론

만성폐쇄성폐질환(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD) 환자들의 약 90%가 흡연력이 있으므로 흡연이 COPD의 중요한 원인으로 알려져 있으나, 흡연가들 중에서 약 15-20%만 COPD가 발생한다. 이것은 COPD 병인에 환경적인 인자들 뿐만 아니라 유전적 요인들이 존재함을 암시하는 것으로, 다양한 독성 물질들의 대사에 관여하는 효소들의 유전자 다형성에 의한 COPD 발생의 감수성에 관심이 모아지고 있다[1-3].

COPD의 발생에 있어 가장 잘 알려진 유전적 인자는 α1-antitrypsin의 Z variant이고, homozygous ZZ variant가 흡연에 노출되면 어린 나이에 폐기종이 발생할 가능성이 높다[4,5]. 그러나 전체 인구에서 이러한 variant는 극소수이고 동양에서는 거의 발견되지 않아서 다른 유전적 소인들이 관여할 것으로 생각되고 있는데, 대표적인 인자들로써 microsomal epoxide hydrolase(mEPHX), glutathione S-transferase (GST)등이 있다.

서양인들을 대상으로 한 역학적 연구들[6,7]에서는 mEPHX의 효소 활성도를 결정하는 유전자 다형성의 양상에 따라 폐기종의 발생 위험도가 다르다고 보고되었으나 동양인에서 시행된 연구들에서는 연관성이 없거나 폐기종의 정도에만 관여된다고 보고되고 있다[8-10]. 그리고 GST 동종효소(isoenzyme) 중에서 M형의 M1 subunit를 coding하는 GSTM1 유전자의 결손은 폐암[11,12] 뿐만 아니라 COPD의 발생위험을 높인다고 보고[13,14]되고 있으나, 최근 국내의 임 등의 연구[10]에서 분명한 차이는 관찰되지 않았다.

저자들은 흡연과 대기오염, 직업 등 다양한 원인에 노출된 개체가 각각의 유전자 감수성에 다라 COPD의 발생 위험도를 달리 할 것이라는 가정으로, COPD와 같은 연령의 대조군을 대상으로 담배연기 등 다양한 유독 물질의 대사에 관여하는 mEPHX 유전자와 GSTM1 유전자의 다형성 및 결손 여부에 따른 COPD의 빈도를 조사하였다.

대상 및 방법

연구 대상 : 2000년 2월부터 2002년 6월까지 전남대학교 병원 호흡기 내과에 입원치료 또는 외래진료나 종합검진을 받았던 환자들의 동의 하에 채취한 혈액으로부터 DNA를 추출하였고, 이들의 폐기능 검사와 흉부 방사선 촬영 그리고 흡연력 등 다양한 병력을 조사하였다. 58 례의 COPD 환자들은 1초간 노력성 호기량이 추정정상치에 비하여 (%FEV_1) 80% 미만, FEV_1/FVC(%)가 70% 미만이고, 기관지 확장제 흡입 후 FEV_1의 호전이 12%미만을 기준으로 하여 선정하였다. COPD군과 연령이 비슷한 79예의 대조군은 활동성 또는 진구성

Table 1. Characteristics of subjects in COPD and control group

	COPD (N=58)	Control (N=79)
Sex (Male/Female/unknown)	49/8/1	53/26*
Age (years)	63.7±10.9	60.4±8.1
Smoking (Current/Ex/Never/missing)	15/18/7/18	23/15/33/8**
Amount of Smoking (Pack-years)	46.3±29.2	33.6±20.6*
FEV_1 (L)	1.46±0.62	2.37±0.65***
FEV_1 (%)	58.4±24.0	89.6±20.2***
FVC (L)	2.83±0.79	3.16±0.76*
FEV_1/FVC (%)	52.0±16.1	75.6±16.0***

COPD : Chronic obstructive pulmonary disease
Numeric data : mean±SD
*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

폐결핵 환자들 59예와 특별한 이상 질환이 없는 20예의 건강인들로 이들의 폐기능은 모두 정상 범위에 있었다 (%FEV_1>80%, FEV_1/FVC(%)>70%). (Table 1)

DNA 추출 : 말초 혈액 4 mL를 7.5% EDTA가 포함된 vacutainer(Becton Dickinson, Plymouth, UK)에 채취하여 적혈구를 용해시킨 후에 원심 분리하여 침전된 백혈구만을 얻은 후, 5M NaCl을 첨가하여 백혈구들을 파괴시킨 후에 알코올 침전법으로 DNA를 추출하였다.

PCR 분석 : Glutathion S transferase M1 (GSTM1) 유전자의 homozygous deletion 여부는 GSTM1 유전자의 exon 4, intron 5, 그리고 exon 5를 포함하는 primer sequence 5′-ctg ccc tac ttg att gat ggg-3′와 5′-ctg gat tgt agc aga tca tgc-3′를 이용하여 증폭하였다. 증폭된 종산물의 크기는 267 base이었다. 양성 대조를 위하여 혈액 응고 인자 V 유전자의 exon 10을 함께 multiplex PCR로 증폭하여 비교하였다. 혈액 응고 인자 V 유전자를 증폭하기 위한 primer는 5′-acc cac aga aaa tga tgc cca g-3′와 5′-tgc ccc att att tag cca g-3′를 사용하였는데 종산물의 크기는 224 base 이었다. GSTM1 유전자가 결손 되어 있는 경우에는 PCR 종산물이 얻어지지 않는 것으로 구분될 수 있었다(Fig. 1).

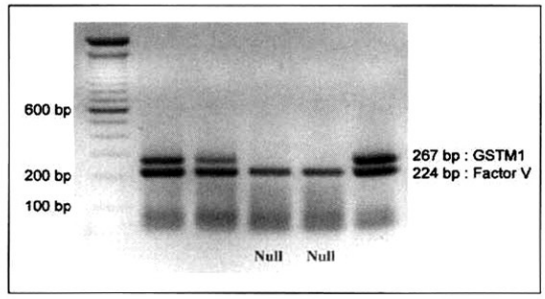

Fig. 1. Multiplex PCR for GSTM1 (267 base pairs) and control gene (Factor V, 224 base pairs). Note the homozygous deletion of GSTM1 gene in lane 4 and 5.

Epoxide hydrolase 유전자의 exon 3는 forward primer 5′-cag gtg gag att ctc aac agg-3′와 reverse primer 5′-cac att gtg gaa gaa ggc tgt t-3′를 이용하여 115 base pair의 종산물을 얻어서 GT^AC sequence를 인식하여 절단하는 *RsaI* (New England Biolab, Beverly, MA) 제한효소를 처리하였다. 유전자 다형성은 T가 원래의 염기로써 mEPHX 단백의 113번째 단백을 Tyrosine으로 coding 한다. 원래의 T 염기가 있는 경우 115 base의 PCR 종산물은 94 와 21 bp로 절단되지만 C allele가 있는 경우는 절단되지 않아서 구분되는

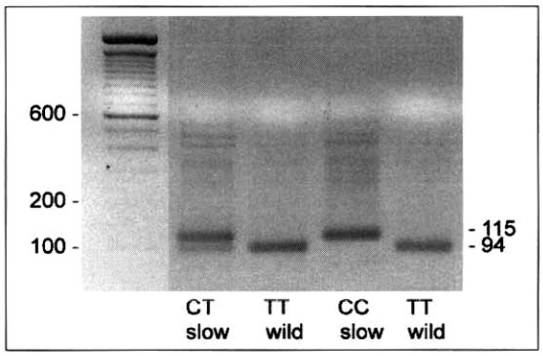

Fig. 2. PCR and RsaI digestion of Exon 3 of epoxide hydrolase. Restriction enzyme RsaI cuts when this polymorphism is T. Homozygous T allelotype (lane 3 and 5 from left) shows complete digestion into 94 bp bands. Homozygous C allelotype (lane 4) have original 115 bp bands only without digestion.

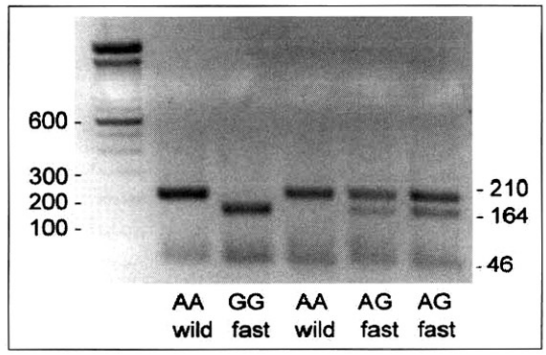

Fig. 3. PCR and RsaI digestion of Exon 4 of epoxide hydrolase. Restriction enzyme RsaI cuts when this polymorphism is G. Homozygous G allelotype (lane 3 from left) shows complete digestion into 164 bp bands. Homozygous A allelotype (lane 2 and 4) have original 210 bp bands only without digestion.

데, 이러한 경우 113번째 단백이 Histidine으로 되어 낮은 효소 활성을 보이는 것으로 알려져 있다(Fig. 2).

Epoxide hydrolase 유전자의 exon 4는 forward primer 5′-aca tcc act tca tcc acg t-3′와 reverse primer 5′-atg cct ctg aga agc cat-3′ 를 이용하여 210 base pair의 종산물을 얻어서 GT^AC sequence를 인식하여 절단하는 *RsaI*(New England Biolab, Beverly, MA) 제한 효소를 처리하였다. 다형성은 A가 원래의 염기로써 mEPHX 단백의 139번째 단백을 Histidine으로 coding 한다. 원래의 A 염기가 있는 경우 절단되지 않는데, G 염기가 있는 경우 210 base의 PCR 종산물은 164와 46 bp로 절단되며, 139번째 단백을 Arginine으로 coding하여 높은 효소 활성을 보이게 되는 것으로 알려져 있다(Fig. 3).

두 가지 유전자 다형성을 PCR 및 제한 효소 처리 후 2% agarose gel에 전기 영동 하여 제한 효소에 절단된 양상으로 분별하였다. Agarose gel에서 제한 효소 절단 양상을 관찰하는 것만으로 allelotype을 신뢰할 수 없는 경우들에 대하여는 염기서열 분석을 더불어 시행하였다. 40 주기 증폭시킨 PCR 종산물을 2% agarose gel에 전기영동 시킨 후 정확한 크기의 band를 포함하는 gel부분을 예리한 칼로 절단하여 Agaro-Power kit(Bioneer, Korea)를 이용하여 DNA를 다시 추출 정제하였다. 정제된 PCR 종산물 2-4 mL에 forward primer를 1.6 pmole 첨가하고 여기에 BigDye terminator를 8 mL 첨가하여(95℃ 10 sec, 50℃ 5 sec, 60℃ 4 min)으로 25 주기 증폭시킨 후 Ethanol precipitation을 거쳐서 ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, CA)를 이용하여 자동화된 염기 서열 분석을 시행하였다.

통계적 분석 : COPD 환자군과 대조군 간의 GSTM1 유전자의 결손 여부와 mEPHX 유전자의 다형성의 빈도를 비교하여 COPD 발생의 비교위험도를 Logistic 회귀분석으로 구하였다. 또한 Chi square 검증으로 흡연력 직업력과 비교하였고, COPD군 중에서도 유전자 결손에 따른 임상 양상의 차이를 비교하였다. mEPHX 유전자의 다형성

Table 2. Distribution of microsomal epoxide hydrolase genotypes between COPD and Control Group

		Hardy-Weinberg equilibrium				COPD	Control	
Exon 3		Observed	Expected	X^2	p			
TT		45	39.2	2.01	0.37	18	27	X^2=10.5
CT		56	67.6			32	24	P<0.01
CC	Slow	35	29.2			8	27	
Exon 4		Observed	Expected	X^2	p			
AA		98	97.1	0.17	0.92	43	55	X^2=0.71
AG	Fast	33	34.8			13	20	P=0.70
GG	Fast	4	3.1			1	3	

은 각각의 위치에서 allele들의 빈도가 Hardy-Weinberg Equilibrium[15]을 따르는지 Chi square 검증을 하였다.

결 과

가. 연구 대상

COPD군은 58예(남/여/불명=49/8/1)로 폐결핵 환자(N=59) 또는 건강인들(N=20) 79예의 대조군(남/여=53/26)에 비하여 남성의 비율이 높았다(p<0.01). 양군간에 연령(63.7±10.9 vs. 60.4±8.1세)은 서로 유의한 차이를 보이지 않았고, 흡연율이 COPD군(33/40, 82.5%)이 대조군(38/71, 53.5%)에 비하여 유의하게 높았다(p<0.01, Table 1).

나. GSTM1 유전자의 결손

GSTM1은 전체 대상 137예 중 73예가 결손되어 53.3%의 결손율을 보였다. COPD군과 대조군 간에 성비와 흡연력이 서로 달랐으므로 이들에 따른 결손의 빈도를 비교하였으나 흡연력이나 성별에 따른 결손율의 차이는 없었다.

GSTM1 결손은 COPD군(32/58, 55.2%)과 대조군(41/79, 51.9%) 양군 간에 빈도의 차이는 없었다(X^2=0.14, p=0.42). 또한 흡연가 71예만을 이용하여 GSTM1 결손율의 차이을 비교하였을 때에도 COPD(20/33, 60.6%)와 대조군(24/38, 63.2%) 양군간에 유의한 차이는 없었다(X^2= 0.05, p=1.00).

다. mEPHX 유전자의 다형성 양상

mEPHX 유전자의 Exon 3와 Exon 4의 유전자 다형성은 Hardy Weinberg equilibrium[15]을 따르고 있었으며 single nucleotide polymorphism 분석의 결과는 신뢰성 있는 성적으로 여길 수 있었다(Table 2). 흡연과 성별에 따른 Exon 3와 Exon 4의 유전자 다형성 양상은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

COPD군과 대조군 간에 Exon 3의 다형성은 분명한 차이를 보였는데, 낮은 효소 활성을 보이는 것으로 알려진 CC 형이 COPD(8/58, 13.8%)에서 대조군(27/78, 34.6%)보다 유의하게 적었다(X^2=10.5, p<0.01). 따라서 Exon 3의 CC 형은 COPD의 비교 위험도가 0.30(95% 신뢰구간 : 0.14-0.65, p<0.01)을 보였다(Table 2). 그러나 Exon 4의 다형성은 양군간에 유의한 차이가 없었고, 흡연자 71예만을 이용하여 Exon 3와 4의 다형성에 따른 양군간의 차이를 보았을 때에는 양군간에 mEPHX 유전자형의 차이는 발견되지 않았다.

또한 slow allele과 fast allele이 함께 조합되는 경우는 정상적인 효소 활성도를 갖는 것으로 알려

Table 3. Distribution of enzyme activity according to combination of exon 3 and 4 polymorphism of microsomal epoxide hydrolase gene

	Exon 3	Exon 4		N	%	COPD	Control	P
Fast	T wild	G fast		32	23.4%			
Normal	T wild	A wild	68	73	53.3%	50	55	
	C slow	G fast	5					
Slow	C slow	A wild		29	21.2%	7	22	< 0.05

져 있어서, mEPHX exon 3와 exon 4의 다형성 양상을 조합하여 전체적인 효소의 활성을 양군 간에 비교하였는데, COPD군(7/57, 12.3%)에서 대조군(22/77, 28.6%)보다 낮은 효소 활성을 보이는 경우들이 유의하게 적었다(X^2=5.13, p<0.05, Table 3). 따라서 mEPHX의 낮은 효소 활성형은 COPD의 비교 위험도가 0.32(99% 신뢰구간: 0.14-0.75, p<0.01)이었다. 그러나 역시 흡연가 71예만을 대상으로 하여 mEPHX 유전자형의 양군 간의 차이를 비교한 결과 유의한 차이는 발견되지 않았다.

고 안

폐기종과 만성 기관지염을 함께 포함하는 만성폐쇄성폐질환은 가역성이 없거나 약간만 있는 기류제한으로 만성적인 호흡 곤란을 초래하는 질환이다. 호흡 곤란을 초래하는 기류 폐쇄는 일반적으로 진행되며 폐를 손상시키는 물질들에 대한 비정상적인 염증 반응을 동반한다[16]. 염증에 의하여 소기도가 좁아지고, 단백 분해 등의 결과로 폐 실질이 파괴되면서 폐의 탄성 반도가 감소되어 폐기종이 발생된다.

다양한 독성 물질들을 함유하고 있는 담배 연기의 흡연은 COPD 발생의 가장 중요한 위험 인자인데, 흡연자의 15~20%에서만 COPD가 발생된다고 알려져 있다. 또한 COPD 환자의 5~10%는 전혀 흡연을 하지 않은 환자들이므로 흡연 이외의 다른 원인들과 개체에 따라 서로 다른 유전적인 소인이 있음을 추정할 수 있다[17].

담배 연기 속에 있는 다양한 형태의 화학물질들이 염증을 일으키고 폐 실질을 파괴할 수 있는데, 대표적인 물질들이 epoxide 화학물이다. 본 연구에서 검사한 microsome의 Epoxide hydrolase (mEPHX) 효소는 발암 전구 물질들을 활성화시키는 작용도 하지만 reactive epoxide 형태의 반응성 화학물질을 수용성의 dihydrodiol로 만드는 과정을 촉매하는 효소로써 기관지 점막의 세포들에서 발현되고 있다[6].

또한 인체에서는 이러한 독성 물질들을 Glutathione S-transferase를 이용하여 conjugation 시킨 후 배설하거나 비활성화 시키는 방어 기전이 있다. Glutathion S transferase(GST)는 최소한 13개의 유전자로부터 5가지 family의 GST가 생성된다. 인간에게는 alpha(GSTA), sigma(GSTS), mu(GSTM), pi(GSTP), theta(GSTT)의 5 종류의 효소 군이 있는데, 이들 중 GSTM1, GSTT1, 그리고 GSTP1이 유전자 다형성이나 결손(deletion)을 보인다[18]. 인간의 염색체 1p13에 위치하는 GSTM1은 전세계적으로 40-60% 의 인구에서 결손이 발견되는데 국내 인구에서의 결손율은 50-55% 정도이며 이 유전자가 결손 된 경우에는 다양한 독성 물질의 해독 능력이 저하될 것이므로 COPD의 위험도를 높일 것으로 추정된다[19].

Harrison등[13]은 폐암으로 수술을 받은 환자들의 폐조직에서 폐기종이 증명된 환자들의 GSTM1 결손율이 정상 대조군 보다 높아서 GSTM1 유전자

결손은 폐암뿐만 아니라 만성폐쇄성폐질환의 위험 인자임을 보고하였다. 또한 Baranova 등[14]은 프랑스인 흡연자들을 대상으로 한 연구에서 대조군에 비하여 만성 기관지염 환자들은 유의하게 더 높은 결손율을 보임을 보고하였다. 그러나 임 등[10]은 한국인을 대상으로 한 연구에서 COPD군과 정상 대조군 간에 GSTM1 결손율은 차이가 없었음을 보고하였는데, 본 연구에서도 GSTM1 유전자의 결손은 COPD의 발생 위험도와 특이한 연관이 없었다.

그러나 이와 같은 연구의 결과를 해석할 때에 예상되는 통계적 차이를 설명할 수 있는 충분한 크기의 집단을 이용하여 연구가 되었는지를 고려해야 한다. 실제로 5%의 결손율의 차이를 alpha error 0.05, beta error 0.2의 유의성으로 검증하기 위해서는 양 군이 각각 1500명 이상씩 필요한 것으로 계산된다. 따라서 본 연구에서 COPD군과 정상군 간에 GSTM1 결손율에 유의한 차이는 없었으나 연구 대상의 수가 적어서 실제적인 차이가 인정되지 않았을 가능성이 있다.

mEPHX 유전자는 인간의 염색체 1q42.1에 위치하며 2개의 유전자 다형성이 있어서 이들 유전자 다형성 양상에 따라 효소의 활성도가 서로 다름이 알려져 있다[18]. 특히 mEPHX 유전자의 exon 3에서 coding되는 113번째 아미노산이 정상적인 tyrosine이 아닌 histidine으로 치환된 His113형과 exon 4의 139번째의 정상적인 아미노산인 His139형의 조합은 mEPHX 효소의 활성도가 가장 낮은 유전자형으로 보고되었다[20].

영국인들을 대상으로 연구된 성적[6]에 따르면 mEPHX 유전자의 낮은 효소 활성을 보이는 His113/His139형이 COPD의 발생 위험도를 높이는 것으로 보고되었다. 그러나 이 성적은 203명의 대조군의 연령이 COPD군과 다르게 18세부터 65세 사이로 다양하였던 문제가 있으며 이와 반대로 COPD군은 폐암을 동시에 가지고 있었기 때문에 폐 절제술을 받았던 환자들이어서 직접적인 비교에 문제가 있다.

또한 NHLBI(National Heart, Lung and Blood Institute)에서 조사한 COPD 환자들 중에서 5년 동안 흡연을 지속한 3216명 중 FEV1의 저하가 급격한 283명과 저하가 뚜렷하지 않은 308명을 대상으로 이들의 mEPHX 유전자형을 조사한 결과 mEPHX의 His113/His139형은 폐기능의 급격한 변화에 주요한 위험 인자로 보고되었다[7].

또한 일본인들의 연구에서 Yoshigawa 등[8]은 중증의 COPD와 연관됨을 보고하기도 하였으나, Takeyabu등[9]은 특별한 연관을 발견하지 못하였다. 한국인을 대상으로 한 임 등[10]의 성적에서도 mEPHX의 genotype과 COPD의 위험도와 분명한 연관을 발견할 수 없었는데 이들의 연구 역시 COPD와 대조군 간에 연령이 서로 다른 집단이었던 점에 문제가 있다.

한국인을 대상으로 비슷한 연령 집단의 대조군과 비교한 본 연구에서는 이와 반대로 His113/His139형이 COPD 발생의 위험도가 오히려 낮은 결과를 얻었다. 즉 서양인에서의 결과들과 달리 mEPHX의 낮은 효소 활성을 보이는 유전자형이 COPD의 발생 위험을 감소시킨다는 것인데, 본 연구의 경우 연령 분포는 양군간에 차이가 없었으나, COPD군이 대부분 남성인 점이 대조군과 달랐고, COPD군에서 흡연자들의 수가 대조군에 비하여 높았던 문제가 있다. 따라서 흡연자들만을 이용하여 양 군을 비교하였을 때에는 mEPHX 다형성에 따른 COPD의 위험도에 차이를 관찰할 수 없었다.

또한 제한 효소 절단 양상만으로 대부분의 유전자형을 결정하게 되므로 결과가 실제와 다르게 잘못 해석되었을 가능성을 고려하여 각각 염기 조합들의 빈도가 Hardy-Weinberg equilibrium[15]을 따르는지를 확인하는 것도 필요한 일이다. 본 연구에서는 Exon 4의 다형성은 Hardy-Weinberg equilibrium을 잘 따르고 있었으나, 특히 낮은 효소 활

성을 보이는 Exon 3의 다형성 분포가 통계적으로는 허용될 범위 내에 있었지만 상당한 차이(Table 2)가 있어서 실험 결과의 해석에 일부 오류가 있었을 가능성도 배제할 수 없다.

또한 mEPHX 유전자의 발현을 조절하는 다른 유전자 다형성 등이 공존하고 있을 가능성과 본 연구에서 조사된 두 가지 유전자의 변화만으로 COPD의 유전자 감수성이 결정되지는 않을 것이라는 점을 고려해야 할 것이다. 따라서 본 연구에서 관찰한 두 가지 유전자의 다형성 외에도 다양한 기전들의 불균형들의 조합을 함께 연구한다면 COPD 발생의 유전자 감수성이 더 잘 설명될 수 있을 것으로 추정된다.

결론적으로 mEPHX의 낮은 효소 활성 유전자형이 COPD 발생의 위험도를 낮추는 결과를 얻었으나 가장 중요한 위험 인자인 흡연자들만을 대상으로 비교한 결과 두 가지 유전자형 모두 유의한 위험인자는 아니었다. 추후로 다양한 유전자 다형성들의 조합을 동시에 관찰하고 흡연력, 직업, 환경 등의 효과를 충분히 조사하며 각각의 유전자 다형성의 빈도를 고려하여 통계학적으로 충분한 수를 대상으로 추적 연구하여야 할 것이다.

요 약

연구 배경 :

90% 정도의 만성폐쇄성 폐질환(COPD) 환자들이 흡연력이 있으나 흡연자의 15~20%에서만 COPD가 발생하는 것은 유전자 감수성 등 다양한 다른 인자들의 영향이 있음을 암시한다. 담배 연기 속에 포함된 epoxide를 가수 분해하는 효소인 microsomal epoxide hydrolase(mEPHX)의 효소 활성은 두 개의 유전자 다형성 양상에 따라 서로 다르므로 이 다형성의 양상에 따라, 그리고 활성화된 유독 물질을 대사시키는 glutathione S transferase의 M1 subunit 유전자(GSTM1)의 homozygous deletion 여부에 따라 COPD의 발생 위험도 다를 것으로 예측된다.

대상 및 방법 :

전남 대학교 병원 호흡기 내과에 내원한 58예의 COPD군과 이와 연령이 비슷한 폐결핵 환자 59례 및 정상인들 20례로 구성된 대조군(79예)의 말초 혈액 백혈구로부터 추출한 DNA를 이용하여 mEPHX 유전자의 다형성과 GSTM1 유전자의 결손 여부 그리고 임상 양상과의 관계를 관찰하였다. mEPHX 유전자의 exon 3과 exon 4를 각각 두 쌍의 primer를 이용하여 증폭하여 제한 효소 절단 양상으로 유전자 다형성 위치의 염기를 확인하였고 일부에서는 염기 서열을 직접 확인하였다. 또한 GSTM1 유전자의 exon 4와 exon 5 부위를 PCR 증폭하여 homozygous deletion 여부를 혈액응고인자 V를 양성대조로 이용하여 확인하였다.

결 과 :

COPD와 대조군 양군 간에 연령(63.7±10.9 vs. 60.4±8.1세)은 차이를 보이지 않았고 흡연자는 COPD군(33/40, 82.5%)이 대조군(38/71, 53.5%)에 비하여 많았다($p<0.01$). GSTM1은 73예가 결손되어 53.3%의 결손율을 보였는데 COPD군(32/58, 55.2%)과 대조군(41/79, 51.9%) 사이에 유의한 차이는 없었다. mEPHX는 29예(21.2%)가 slow, 73예(53.3%)가 normal, 32예(23.4%)가 fast enzyme activity를 보이는 유전자형이었는데, slow enzyme activity를 보이는 유전자형의 빈도가 COPD군(7/57, 12.3%)에서 대조군(22/77, 28.6%)보다 유의하게 낮았다($p<0.05$). COPD 발생의 비교 위험도는 mEPHX의 낮은 효소 활성을 보이는 유전자형이 0.32 (95% 신뢰구간 : 0.14-0.75, $p<0.01$)를 보였으나, 흡연자들만을 이용하여 비교하였을 때는 mEPHX의 유전자형에 따른 COPD 의 빈도는 차이가 없었다.

결 론 :

소수의 집단을 대상으로 한 본 연구에서 GSTM1

결손이나 mEPHX의 유전자형은 COPD 발생의 유의한 위험인자는 아니었다.

참 고 문 헌

1. Bascom R. Differential susceptibility to tobacco smoke: possible mechanisms. Pharmacogenetics 1991;1(2):102-6.
2. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. Br Med J 1977; 1(6077):1645-8.
3. Beck GJ, Doyle CA, Schachter EN. Smoking and lung function. Am Rev Respir Dis 1981; 123:149-55.
4. Black LF, Kueppers F. alpha1-Antitrypsin deficiency in nonsmokers. Am Rev Respir Dis 1978;117(3):421-8.
5. Sveger T. Liver disease in alpha1-antitrypsin deficiency detected by screening of 200,000 infants. N Engl J Med. 1976;294(24):1316-21.
6. Smith CA, Harrison DJ. Association between polymorphism in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema. Lancet 1997;350(9078):630-3.
7. Sandford AJ, Chagani T, Weir TD, Connett JE, Anthonisen NR, Pare PD. Susceptibility genes for rapid decline of lung function in the lung health study. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:469-73.
8. Yoshikawa M, Hiyama K, Ishioka S, Maeda H, Maeda A, Yamakido M. Microsomal epoxide hydrolase genotypes and chronic obstructive pulmonary disease in Japanese. Int J Mol Med. 2000;5:49-53.
9. Takeyabu K, Yamaguchi E, Suzuki I, Nishimura M, Hizawa N, Kamakami Y. Gene polymorphism for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema in a Japanese population. Eur Respir J 2000;15: 891-4.
10. Yim JJ, Park GY, Lee CT, Kim YW, Han SK, Shim YS, et al. Genetic susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Koreans: combined analysis of polymorphic genotypes for microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase M1 and T1. Thorax. 2000;55:121-5.
11. Nazar-Stewart V, Motulsky AG, Eaton DL, White E, Hornung SK, Leng ZT, et al. The glutathione S-transferase mu polymorphism as a marker for susceptibility to lung carcinoma. Cancer Res 1993;53(10 Suppl): 2313-8.
12. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Vainio H. The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. Carcinogenesis 1993; 14:1479-81.
13. Harrison DJ, Cantlay AM, Rae F, Lamb D, Smith CA. Frequency of glutathione S-transferase M1 deletion in smokers with emphysema and lung cancer. Hum Exp Toxicol 1997;16:356-60.
14. Baranova H, Perriot J, Albuisson E, Ivaschenko T, Baranov VS, Hemery B, et al. Peculiarities of the GSTM1 0/0 genotype in French heavy smokers with various types of chronic bronchitis. Hum Genet 1997;99:822-6.
15. Ueda T, Ugawa S, Ishida Y, Shibata Y, Murakami S, Shimada S. Identification of coding single-nucleotide polymorphisms in human taste receptor genes involving bitter

tasting. Biochem Biophys Res Commun 2001;285:147-51.

16. Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS; The GOLD Scientific Committee. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1256-76.
17. Barnes PJ. New therapies for chronic obstructive pulmonary disease. Thorax 1998; 53:137-47.
18. Kiyohara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S, Hopkin J. Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. Lung Cancer 2002;37:241.
19. Houlston RS. Glutathione S-transferase M1 status and lung cancer risk: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;8: 675-82.
20. Hassett C, Aicher L, Sidhu JS, Omiecinski CJ. Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants. Hum Mol Genet 1994;3:421-8.