

# 가계조사를 통한 한국인의 TAP 유전자의 다형성과 HLA-TAP 일배체형 분포에 관한 연구

<sup>1</sup>서울대학교 의과대학 검사의학교실, <sup>2</sup>인제대학교 의과대학 서울백병원 진단검사의학과

황 동 희<sup>1,2</sup> · 박 명 희<sup>1</sup>

## Family Study of TAP Gene Polymorphism and HLA-TAP Haplotypes in Koreans

Dong Hee Whang<sup>1,2</sup> and Myoung Hee Park<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine, <sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine, Seoul Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background:** TAP1 and TAP2 are two ABC transporter genes located within the class II region of the human MHC. Their protein products form a heterodimer whose function is to transport peptides from the cytoplasm into the endoplasmic reticulum. This study was performed to examine the polymorphism of TAP genes and the distribution of HLA-TAP haplotypes in the Korean population through family analysis. **Methods:** The subjects used in this study were 50 healthy Korean families consisting of 233 individuals. TAP1 (codons 333 and 637) and TAP2 (codons 379, 565, 577, 651, 665, and 687) typings were carried out by the PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) method. HLA-DRB1 and DQB1 genotyping results from a previous study were used for HLA-TAP haplotype analysis. **Results:** The number (gene frequency) of TAP1 and TAP2 alleles detected were 3 for TAP1 (A 81.5%, B 17.0%, and C 1.5%) and 8 for TAP2 (A1 32.0%, A2 12.5%, B 34.0%, Bky2 6.5%, C 7.0%, D 3.0%, E 4.5%, and G 0.5%). Eleven TAP1-TAP2 haplotypes were observed with frequency  $\geq 1\%$ , among which 4 haplotypes (A-B, B-A1, A-Bky2, and C-E) showed weak but significant positive linkage disequilibrium ( $P < 0.05$ ). When DRB1-DQB1 haplotypes were extended to TAP1 and TAP2 loci, much diversification of haplotypes was observed: 19 different DRB1-DQB1 haplotypes formed 58 different haplotypes extended to TAP1 and TAP2 loci. These results add more evidence to the view that recombination hotspot is present within and around TAP gene region. **Conclusion:** The allele frequencies of TAP1 and TAP2 genes and the distribution of TAP1-TAP2 and HLA-TAP haplotypes were studied in Koreans based on a family study. (*Immune Network* 2002;2(4):248-255)

**Key Words:** TAP gene, HLA-TAP haplotype, polymorphism, family study, Korean

### 서 론

TAP (transporters associated with antigen processing) 유전자는 제 6번 염색체의 단완에 있는 구조적합복합체 (major histocompatibility complex, MHC)에 속하는 유전자로 TAP1 및 TAP2 두 종류가 있으며, HLA class II 유전

자인 HLA-DP와 HLA-DQ 사이에 위치한다. 이 유전자의 산물인 TAP 단백질은 항원처리과정(antigen processing pathway)에서 세포질 내의 펩타이드를 소포체(endoplasmic reticulum) 내로 운반하여 HLA class I 분자와 안정적인 결합을 시키는 데 관여하는 것으로 알려져 있다 (1-4).

TAP1 및 TAP2 유전자의 기능이 밝혀진 이래로 그 다형성에 대해서 많은 연구가 이루어졌는데 기본적으로는 점 돌연변이에 의한 비교적 제한된 다형성을 나타내는 것으로 알려졌다. 처음 TAP 유전자의 다형성을 보고한 Powis 등(5)이 제시한 명명법에서는 TAP1 유전자의 경

책임저자 : 박명희, 서울대학교병원 진단검사의학과  
☎ 110-744, 서울시 종로구 연건동 28번지  
Tel: 02-760-3388, Fax: 02-3672-3337  
E-mail: parkmhee@snu.ac.kr

이 논문은 서울대학교병원 일반연구비(04-1997-044-0) 지원에 의해 이루어진 것임.

우 333번과 637번의 2개 codon의 이형성(dimorphism)에 따라 가능한 대립유전자 4종류를 제시하였고 이 중 발견된 3종의 대립유전자에 대해서 TAP1A, TAP1B, TAP1C라고 명명하였다. TAP2 유전자에 대해서는 4개 codon의 dimorphism이 가능하였고 이 중 2개 codon은 절대적인 연쇄불평형(linkage disequilibrium)을 보이며 같이 연쇄되어 나타나므로 가능한 대립유전자의 조합은 8종류가 제시되었고 이 중에 발견된 5종의 대립유전자에 대해 A, B, C, D, E라고 명명하였다. 이후 Powis가 제시한 다형성 부위 이외에도 TAP1에서는 370, 458, 648 codon에서 (6,7), TAP2에서는 163, 386, 436, 651, 697번째 codon에서 다형성이 발견되었고(8,9) 계속해서 새로운 다형성이 보고되고 있다. 최근에는 이들의 유전자 염기서열이 밝혀지면서 TAP1 및 TAP2의 일부 대립유전자에 대해 WHO 명명위원회에서 4자리 숫자로 명명하였다(10). 현재까지 염기서열 분석 후에 정식으로 명명된 대립유전자로는 6개의 TAP1 대립유전자(TAP1\*0101, \*0102N, \*02011, \*02012, \*0301, \*0401; 333, 458, 637, 648번째 codon의 변형을 보임)와 4개의 TAP2 대립유전자(TAP2\*0101, \*0102, \*0103, \*0201; 379, 565, 651, 665, 687번째 codon의 변형을 보임)가 알려져 있다(10).

TAP 유전자는 면역반응에서 세포질 내 펩타이드를 운반하여 HLA class I과 결합시키는 역할을 하므로 이 유전자의 다형성이 펩타이드 처리과정의 변화를 유발할 것으로 추정되고 있으며 HLA 유전자와 함께 질병감수성에 영향을 미치는 유전자의 하나로 생각되고 있다. 실제로 쥐를 이용한 동물실험에서는 TAP 유전자의 다형성이 HLA class I 분자에 결합하는 펩타이드의 아미노산 서열 및 길이에 영향을 미치는 것이 증명된 바 있다(11). 사람에서도 TAP 유전자의 다형성에 따라 HLA class I에 의해 제시되는 펩타이드에 차이를 나타낼 것으로 추측되지만 증명되지는 않았다. 또한 TAP 유전자의 위치가 HLA class II 부위 내의 HLA-DP와 DQ, DR 사이에 위치하므로 HLA 관련질환에 있어서 유전적 표지자로 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각되고 있다. TAP 유전자와 질환과의 연관성은 같은 질환에서도 인종에 따라 다르게 나타나고, 질병과의 연관성 분석을 위해서는 우선 정상인에서 TAP 유전자의 다형성에 대한 기초적인 자료가 필요하다. 또한 정확한 질병과의 연관성을 분석하기 위해서는 TAP 유전자의 다형성에 대한 분석 이외에도 TAP 유전자와 근접해 존재하는 HLA 유전자와 연관되어 이루는 HLA-TAP 일배체형에 대한 분석이 이루어져야 HLA 또는 TAP 유전자의 질병 연관성이 독립적인 인자인지 또는 연쇄불평형 현상에 의한 이차적 현상인지를 판별할 수 있을 것이다. 이를 위해 외국에서는 주로 동형접합 세포주(homozygous cell line)나 일반인구의 집단조사(population study) 위주로 TAP 유전자의 분석이 이루어

졌고(5,12) 가계조사를 통한 분석은 매우 드물다(13).

이에 본 연구에서는 HLA-DR 및 DQ 유전자 형별검사가 완료된 정상 한국인 50가족 233명을 대상으로 하여 TAP1 및 TAP2 대립유전자의 빈도와 다른 HLA class II 유전자와의 연관성을 규명해 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

**대상.** 한국인 가족 중 부, 모와 자녀 2인 이상인 50가족 233 구성원을 대상으로 TAP1 및 TAP2 유전자 형별을 분석하였으며 HLA-DRB1 및 DQB1 유전자 형별은 이전의 연구(14)를 통해 확보된 자료를 이용하였다. 연구대상에 포함된 각 가족들 간에는 혈연관계가 없는 것으로 확인되었다.

**TAP1 및 TAP2 유전자 형별검사.** TAP1 및 TAP2 유전자 형별검사는 기본적으로 중합효소연쇄반응-제한분절 길이다형성(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 방법을 이용하여 실시하였다(15). 즉 Table I에 제시한 바와 같이 TAP1 유전자의 경우 이형성 부위인 codon 333과 637을, TAP2 유전자

**Table I.** Nomenclature of TAP1 and TAP2 alleles and dimorphic sites analyzed in this study

Allele nomenclature							
WHO	Unofficial*		Codon (restriction enzyme)				
	TAP1	333	637				
		( <i>Sau</i> 3AI)	( <i>Acl</i> I)				
0101	A	Ile	Asp				
0201/0401	B	Val	Gly				
0301	C	Val	Asp				
	D	Ile	Gly				
	TAP2	379	565	577	651	665	687
		( <i>Acl</i> II)	( <i>Rsa</i> I)	( <i>Hpb</i> I)	( <i>Bsa</i> II)	( <i>Msp</i> I)	( <i>Bfa</i> I)
0101	A1	Val	Ala		Arg	Thr	Stop
0103	A2	Val	Ala		Cys	Thr	Stop
0201	B	Val	Ala	Met		Ala	Gln
	Bky2	Val	Ala	Val		Ala	Gln
	C	Ile	Ala			Thr	Stop
	D	Ile	Thr			Thr	Stop
0102	E	Val	Thr			Thr	Stop
	F	Ile	Thr			Ala	Gln
	G	Val	Thr			Ala	Gln
	H	Ile	Ala			Ala	Gln

\*TAP1A-TAP1D and TAP2 are called after Powis et al. (TAP2A-TAP2E) (5) and Kuwata et al. (TAP2A-TAP2H)(15); TAP2A1 and TAP2A2 are called after Teisserenc et al. (12); TAP2Bky2 is called after Maruya et al. (16)  
는 codon 379, 565, 665, 687에 대하여 이전에 보고된

primer와 제한효소를 이용하여 분석하였다. 여기에 추가로 TAP2A는 codon 651의 이형성에 따라 TAP2A1과 TAP2A2로 세분하였고, TAP2B는 codon 577의 이형성에 따라 TAP2B와 TAP2Bky2로 세분하였다(12,16). 이형성 부위의 아미노산기의 조합에 따라 TAP1은 4종의 대립 유전자로, TAP2는 10종의 대립유전자로 분류하였다. TAP1 및 TAP2 대립유전자형의 명칭은 WHO 명명법(10)에서 현재까지 알려진 모든 대립유전자에 대해 명명되어 있지 않은 상황이므로 Powis 등과 다른 연구자들에 의해 제시된 비공식적인 대립유전자 명칭(5,12,16)을 기본적으로 사용하였다(Table I).

연구대상인 50가족의 모든 가족구성원의 TAP1 및 TAP2 유전자의 PCR-RFLP 패턴으로부터 각 TAP 분자의 이형성부위에서 아미노산기를 결정하였고 이를 근거로 TAP1 및 TAP2의 유전자형을 결정하였다. 이 때 2가지 이상의 유전자형이 가능할 경우에는 가계분석 및 HLA 일배체형을 참고로 하여 부모의 유전자형을 결정하였다. 예를 들어 TAP1 codon 333에서 아미노산기 Ile과 Val이 관찰되고 codon 637에서 Asp와 Gly이 관찰되는 경우 TAP1 유전자형은 AB형 또는 CD형이 가능하다. 이런 경우 자녀에서 AA형이나 BB형이 있다면 부모는 AB형과 CD형 중 AB형일 수밖에 없다. 실제로 위와 같이 TAP1 333 Ile/Val, TAP1 637 Asp/Gly으로 유전자형을 TAP1AB와 TAP1CD 중에 하나로 결정할 수 없는 경우가 부, 모 100명 중 24명이 있었는데 그 중 22명은 가계분석을 통하여 좀 더 혼한 유전자형인 TAP1AB로 결정되었고 2명에 대해서는 결정할 수 없었다. TAP2의 유전자형도 거의 대부분이 가계분석에 의하여 좀 더 혼한 유전자형으로 결정되었다. TAP2BC (vs A1H) 7예가 모두 TAP2BC로, TAP2BE (vs A1G) 2예 중 1예가 TAP2BE로 결정되었고 1예는 가계분석을 통해서도 결정할 수 없었다. TAP2A1D (vs CE) 2예 중 1예는 TAP2A1D로, 1예는 TAP2CE로 결정되었으며 TAP2BD (vs AF, ED, CG) 1예는 TAP2BD로 결정되었다. 이러한 결과를 기초로 하여 TAP1 및 TAP2 유전자형이 불명확한 경우는 모두 Powis 등(17)이 제시한 방법과 같이 혼한 유전자형으로 결정하였으며, 이와 같이 유전자형이 결정된 50가족 부모 100명의 자료로부터 TAP1 및 TAP2의 대립유전자의 종류 및 빈도를 산정하였다.

**TAP1-TAP2 및 HLA-TAP 일배체형의 분석.** 연구대상인 50가족의 모든 가족 구성원의 TAP1 및 TAP2 유전자형을 가족별로 분석하여 자녀에게 유전된 TAP 유전자형으로부터 부모 100명의 TAP1-TAP2 일배체형을 추정하였다. 부모 100명이 가지고 있는 TAP1-TAP2 일배체형 200개 중에서 일배체형으로 결정이 불가능한 16개 (TAP1 4개, TAP2 12개)를 제외한 총 184개의 TAP1-

TAP2 일배체형이 확인되었다. HLA-TAP 일배체형에서도 역시 HLA-DRB1, HLA-DQB1 및 TAP1-TAP2를 포함한 일배체형은 184개의 일배체형만 확인 가능하였다.

**2-유전자좌 일배체형의 연쇄불평형 분석.** TAP1-TAP2, DRB1-TAP1 및 DRB1-TAP2 일배체형과 (DRB1-DQB1)-(TAP1-TAP2) 일배체형 중 dots수가 2개 이상인 것에 대해 다음과 같이 연쇄불평형 분석을 실시하고 그 유의성은 Chi-square 또는 Fisher's exact test를 이용하여 검증하였다.

$$LD = HF - P(i)P(j)$$

$$\text{If } D \geq 0, D_{\max} = P(i)(1-P(j)) \quad (P(i) < P(j))$$

$$\text{If } D < 0, D_{\max} = -P(i)P(j)$$

$$RLD = \frac{LD}{|D_{\max}|}$$

LD (D): linkage disequilibrium by Dausset's definition (18)

HF: haplotype frequency

P(i): gene frequencies of i allele

P(j): gene frequencies of j allele

Dmax: possible maximum value of D

RLD: relative linkage disequilibrium

**Table II.** Allele frequencies (%) of TAP1 and TAP2 genes in Koreans

TAP1 and TAP2		Korean n=100 No. (%)	Japanese* n=106	Caucasian** (TAP1, n=173; TAP2, n=168)
TAP1	A (*0101)	163 (81.5)	86.3	84.4
	B (*0201/0401)	34 (17.0)	12.7	12.7
	C (*0301)	3 (1.5)	0.9	2.3
	D	0 (0)	0	0.6
TAP2	A1 (*0101)	64 (32.0)	32.2	61.8***
	A2 (*0103)	25 (12.5)	9.3	
	B (*0201)	68 (34.0)	27.7	25.1****
	Bky2	13 (6.5)	5.1	
	C	14 (7.0)	9.9	5.9
	D	6 (3.0)	0	5.0
	E (*0102)	9 (4.5)	7.0	0.9
	F	0 (0)	0	0
	G	1 (0.5)	0	0.6
	H	0 (0)	1.9	0
	Unknown	0 (0)	6.9	0

\*Data from Maruya et al(16); \*\*data from the 12th International Histocompatibility Workshop study(12); \*\*\*TAP2A (TAP2A1 plus TAP2A2); \*\*\*\*TAP2B (TAP2Bky2, not tested)

**Table III.** TAP1-TAP2 haplotype frequencies in Koreans (HF $\geq$ 1%)

TAP1-TAP2 haplotype		Frequencies	
		No.	%
A-B	(*0101-*0201)	58	29.0
A-A1	(*0101-*0101)	40	20.0
A-A2	(*0101-*0103)	24	12.0
B-A1	(*0201-*0101)	16	8.0
A-C	(*0101-C)	14	7.0
A-Bky2	(*0101-Bky2)	11	5.5
B-E	(*0201-*0102)	6	3.0
A-D	(*0101-D)	6	3.0
B-B	(*0201-*0201)	3	1.5
C-E	(*0301-*0102)	2	1.0
B-Bky2	(*0201-Bky2)	2	1.0

**Table IV.** Positive associations between TAP and HLA-DRB1 alleles in Koreans (n=100)

TAP1	TAP2	DRB1	Chi-square	P value
LD (%)	RLD		Chi-square	P value
B (*0201)		0101	9.84	0.003
B1 (*0201)	0.21	0301	7.22	0.007
B (*0201)	-0.23	1401	1.33	0.008
1.81	0.78	1501	1.75	0.004
2.56	0.10	0406	5.00	0.025
1.30	1.00	1302	0.79	0.0006
0.20	0.17	0405	10.64	0.003
2.24	0.60	0803	14.83	0.0001
0.56	1.00	1202	46.00	2.7 $\times$ 10 <sup>-8</sup>
-4.28	-0.74	0901	20.20	0.001
0.93	0.35		12.76	0.003
-0.11	-0.10		14.46	0.016
			0.11	

Abbreviations: LD, linkage disequilibrium (%); RLD, relative linkage disequilibrium

## 결 과

**TAP1 및 TAP2의 대립유전자 빈도.** 각 이형성부위에서 나타난 아미노산기의 조합 및 일배체형 분석에 의해 결정된 TAP1 및 TAP2 대립유전자의 빈도를 Table II에 제시하였다. TAP1 대립유전자는 3종이 관찰되었으며 그 빈도는 TAP1A가 81.5%로 가장 많았고 TAP1B (17.0%), TAP1C (1.5%)의 순이었다. TAP2 대립유전자는 8종이 관찰되었으며 그 빈도는 TAP2B가 34.0%로 가장 많았고 TAP2A1 (32.0%), TAP2A2 (12.5%), TAP2C (7.0%), TAP2Bky2 (6.5%), TAP2E (4.5%), TAP2D (3.0%), TAP2G (0.5%)의 순이었다.

**TAP1-TAP2 일배체형 빈도 및 연관성.** TAP1-TAP2 일배체형 중에서 1% 이상의 빈도를 보이는 것은 A-B (29.0%), A-A1 (20.0%), A-A2 (12.0%), B-A1 (8.0%) 등 11 종류였는데, 그 빈도와 LD 값은 Table III과 같다. 그중에서 유의한 양성 연관성( $P<0.05$ )을 보이는 것은 A-B, B-A1, B-E, C-E의 4종류였다. TAP1-TAP2 일배체형 중에서 B-B는 유의한 음성 연관성( $P<0.05$ )을 보였다.

**TAP1, TAP2와 HLA-DRB1의 연관성.** Table IV에 제시된 바와 같이 유의한 양성 연관성( $P<0.05$ )을 보이는 일배체형은 TAP1-DRB1 일배체형이 3종, TAP2-DRB1 일배체형이 7종 있었다. TAP2-DRB1 일배체형 중에 4종 (A2-0406, B-0405, Bky2-0803, D-1202)은 강한 연관성( $P\leq 0.001$ )을 보였으며 이 중에 TAP2Bky2-DRB1\*0803은 가장 강한 연관성을 갖는 것으로 나타났다.

**HLA-DRB1-DQB1과 TAP1-TAP2 일배체형의 연관성.** DRB1-DQB1 일배체형 중에서 dots 3 (1.5%) 이상의 빈도를 보이는 일배체형에 대하여 연관된 TAP1-TAP2 일배체형을 Table V에 제시하였다. 대부분의 DRB1-

DQB1 일배체형은 2-6종의 서로 다른 TAP1-TAP2 일배체형과 연관되어 일배체형을 형성하였으며, 총 19종의 DRB1-DQB1이 TAP1-TAP2와 연결되는 경우 58종의 서로 다른 일배체형을 형성하는 것으로 나타났다. 1.5% 이상의 빈도를 보이는 19종의 DRB1-DQB1 일배체형 중에서 8종만이 각 일배체형의 60% 이상에서 한 종류의 특정한 TAP1-TAP2 일배체형과 연관되어 일배체형을 형성하였다. 일반적으로 DRB1과 TAP1 및 TAP2의 연관성 (Table IV)에 비해서는 DRB1-DQB1과 TAP1-TAP2의 연관성은 훨씬 강한 것으로 나타났다. DRB1-DQB1과 TAP1-TAP2가 연결된 일배체형 중에 10종이 강한 연관성( $P<0.001$ )을 보였으며 이 중에 DRB1\*0803-DQB1\*0601과 TAP1A-TAP2Bky2 사이에 가장 강한 연관성을 보였다. DRB1\*0803과 연관된 2종의 DRB1-DQB1 일배체형(0803-0601, 0803-0301) 중에서 0803-0601만이 TAP1A-TAP2Bky2와 강한 연관을 보였고, DRB1\*1302와 연관된 2종의 DRB1-DQB1 일배체형(1302-0604, 1302-0609) 중에서 1302-0604만이 TAP1A-TAP2A2와 강한 연관을 보여, 같은 DRB1 형별과 연관된 서로 다른 DRB1-DQB1 일배체형은 서로 다른 TAP1-TAP2와 연관됨을 알 수 있었다. 한편 TAP1-TAP2 일배체형 중심으로 보면 가장 흔한 일배체형인 A-B의 경우 약 70%(40/58)에서 5종의 DRB1-DQB1과 연관되어 일배체형을 형성하였는데 이 중에 2종만이 강한 연관성( $P<0.001$ )을 나타내었다. 일부 특징적인 TAP1-TAP2 일배체형은 60% 이상에서 특정한 종류의 DRB1-DQB1과 연관되어 일배체형을 형성하였는데 A-Bky2(8/11)는 0803-0601과, B-E(4/6)는 0901-03032와, A-D(4/6)는 1202-0301과 특징적으로 강하게 연관되었다( $P<0.001$ ).

**Table V.** Association between DRB1-DQB1 and TAP1-TAP2 haplotypes in Koreans (n=100)

DRB1-DQB1 haplotypes		Associated TAP1-TAP2 haplotypes				
DRB1-DQB1*	N/n**	Total No.	TAP1-TAP2*	n	Chi-square	P value
0405-0401	18/19	2	A-B	16***	30.42	$3.5 \times 10^{-8}$
1501-0602	16/17	5	A-A1	12***	29.22	$2.4 \times 10^{-6}$
0101-0501	15/16	3	A-B	7	1.74	$4.0 \times 10^{-5}$
			B-A1	7	29.66	
			B-E	4	28.36	
			A-A1	3	0.03	
0901-03032	15/18	6	A-C	3	3.57	$4.0 \times 10^{-4}$
			A-B	10***	13.36	
			A-Bky2	8***	76.82	
0701-0202	13/14	3	A-D	4	36.80	$1.5 \times 10^{-4}$
0803-0601	13/13	5	B-A1	3	4.30	$3.4 \times 10^{-6}$
1202-0301	12/12	4	A-A2	8***	36.74	
0406-0302	11/11	2	A-A1	3	0.21	
			A-A2	8***	41.80	$1.0 \times 10^{-6}$
1302-0604	10/10	3	A-B	4	1.32	$3.9 \times 10^{-5}$
1101-0301	8/8	4	B-A1	4***	42.93	
1302-0609	5/5	4				
1405-05031	5/5	3				
0301-0201	4/5	1	A-B	3***	6.63	0.03***
0403-0302	4/4	2				
1201-0301	4/5	4				
1001-0501	3/3	1				
0410-0402	3/3	2				
0802-0302	3/3	2				
0803-0301	3/3	2				

\*Haplotypes with haplotype count  $\geq 3$  are listed. Number of deducible haplotypes: DRB1-DQB1, 200; TAP1-TAP2, 184. \*\*Number of deducible TAP1-TAP2 haplotypes/number of DRB1-DQB1 haplotypes. \*\*\*More than 60% (62~100%) of given DRB1-DQB1 haplotypes are associated with particular TAP1-TAP2 haplotypes

## 고 찰

최근에 사람의 MHC 유전자 영역에 TAP 유전자를 포함해 20가지 이상의 새로운 유전자가 발견되었으며 이들 새로운 유전자의 일부는 질환과 연관된 단순한 표지자(marker) 유전자가 아니고 질환의 발병에 직접적으로 관여하는 질병감수성 유전자로 작용할 가능성이 높은 것으로 생각되고 있다. TAP 유전자는 MHC 내의 HLA class II 유전자인 DPB1 및 DQB1 유전자 사이에 위치하여 유전자의 위치로 보아 HLA 연관을 나타내는 질환에서 질병감수성과의 연관성에 대해 활발히 연구되고 있다. 또한 유전자 산물인 TAP 단백질의 기능이 면역반응에서 세포내 항원의 처리 및 운반에 관여하므로 HLA 연관 면역질환에 있어서 발병기전에 중요한 역할을 할 것이라고 생각되고 있다.

TAP 유전자의 다형성을 검사하는 방법으로 ARMS-

PCR, SSCP, SSOP, PCR-RFLP 등 여러 가지 방법이 이용되고 있으나 모두 기본적으로 이형성부위 codon의 염기서열의 차이를 검출하며 이들 이형성을 보이는 codon들의 여러 조합에 의해 유전자형을 결정하는 원리를 공통적으로 갖고 있다. 어떤 방법을 사용하든지 몇가지 대립 유전자 조합의 이형접합체(heterozygote)에 있어서는 2가지 또는 그 이상의 유전자형이 같은 표현형을 가지게 되므로 이런 표현형을 나타내는 경우 유전자형을 어느 한 종류로 결정할 수 없게 된다. 예를 들어 TAP1에 있어서 AB형과 CD형은 모두 codon 333에 Ile, Val을 갖게 되고 codon 637에는 Asp와 Gln을 갖게 된다. TAP1의 경우는 이런 경우가 하나밖에 없으나 TAP2의 경우는 훨씬 복잡하여 여러 경우에서 2가지 이상의 유전자형이 같은 표현형을 나타내어 유전자형을 결정하기가 어렵다. 이런 경우 가계분석을 통하지 않고는 정확한 유전자형을 결정할 수 없으므로 대부분의 다른 연구에서는 이렇게 두 가

지 이상의 유전자형이 가능한 경우 더 흔하게 나올 수 있는 유전자형으로 결정하는 방법을 임의적으로 사용하였다(17). 본 연구에서는 표현형으로부터 유전자형을 판정할 수 없었던 TAP1 24명 중 2명과 TAP2 12명 중 1명을 제외한 대부분의 경우에서 자녀의 TAP 유전자형 검사를 통한 가계분석과 HLA 일배체형을 참고로 하여 한 가지 유전자형으로 판정할 수 있었다. 본 연구에서 가계분석과 HLA 일배체형을 참고로 하여 판정한 유전자형 결과와 다른 문헌에서처럼 가장 흔한 유전자형으로 결정하였을 때 나올 수 있는 유전자형 결과를 비교해보면 TAP2에서 AD형과 CE형의 판정이 불가능했던 1예에서 가계분석상 더 흔한 AD형이 아니고 CE형으로 판정된 1예를 제외하고는 모두 가장 흔한 유전자형으로 결정한 결과와 일치하였다. 따라서 가장 흔한 유전자형으로 결정하였을 때의 결과는 실제 가계분석결과와 거의 유사한 것으로 생각되며 앞으로 환자군에 대한 연구에서는 가계분석을 하기 어려우므로 이렇게 가장 흔한 유전자형으로 결정하는 방법이 비교적 타당한 것으로 생각한다.

본 연구에서 얻은 한국인의 TAP1 및 TAP2 대립유전자의 빈도를 백인(12) 및 한국인과 유전적으로 가깝다고 알려진 일본인의 빈도(16)와 비교해 보았다(Table II). 일본인에서는 TAP1 및 TAP2 유전자에서 모두 한국인과 거의 유사한 빈도를 보였다. 백인에 있어서는 TAP1의 경우 한국인과 큰 차이를 보이지 않았고 TAP2는 분석방법상 codon 651과 577을 분석하지 않았기 때문에 TAP2A를 A1과 A2로, TAP2B를 B와 Bky2로 세분하지 않아 직접적인 비교는 불가능하였지만 A1과 A2를 합친 빈도는 한국인에서 백인보다 낮았고(44.5% vs 61.8%) B와 Bky2를 합친 빈도는 반대로 한국인에서 높았다(40.5% vs 25.1%). 또한 TAP2E의 대립유전자 빈도도 한국인에서 더 높았다(4.5% vs 0.9%). 이전에 한국인에 대한 연구결과로 역시 TAP2에서 codon 651과 577의 분석은 되어 있지 않은 자료(19)와 비교해 볼 때 TAP1 및 TAP2 대립유전자 빈도는 본 연구의 결과와 대체로 유사하였다.

한편 한국인에서 TAP 대립유전자의 빈도는 일본인과 비교적 유사하였으나 TAP1-TAP2 일배체형이나 TAP1-DRB1, TAP2-DRB1 일배체형에서 관찰된 연쇄불평형은 다소 차이를 나타내었다(20). 일본인에서 강한 연관성( $P < 0.001$ )을 보인 TAP1B-TAP2E 및 TAP2E-DR9 일배체형은 한국인에서도 비교적 강한 연관성( $P < 0.01$ )이 관찰되었다. 일본인에서도 TAP2B-DRB1\*0803 일배체형에서 가장 강한 연관성( $P=0.00001$ )을 나타내었는데(20), Maruya 등에 의해 발견된 새 대립유전자인 TAP2Bky2가 DRB1\*0803과 강한 연관성을 갖는 것으로 밝혀져(16) 본 연구의 결과와 일치된 소견을 보였다. 그 외에 덜 강한 연관성을 나타내는 일본인에서 관찰된 수종의 일배체형

(TAP1A-TAP2A, TAP1B-DR9, TAP2A-DRB1\*1502)(20)은 한국인에서 유의한 연관성을 보이지 않았다. 또한 한국인에서 유의한 연관성을 보인 TAP2-DRB1 일배체형 중 TAP2-DR9를 제외하고는 일본인에서 유의한 연관성을 보이지 않았으나 일본인에서 DR 유전자의 대부분을 혈청학적 수준(DR1-DR16)에서 분석하였으므로 정확히 비교해 볼 수는 없었다.

여러 유전자와 사이의 연쇄불평형에 관한 그간의 연구에 의하면 사람의 MHC 유전자와 내에서 유전자 재조합이 빈번하게 일어나는 다발부위(hotspot)가 존재하는 것으로 생각되어 왔다. 특히 동형접합 세포주 패널의 HLA 유전자 분석에서 TAP1 및 TAP2 유전자와 사이 또는 DQ 및 TAP 유전자와 사이에 이러한 재조합 다발부위가 존재한다는 간접적인 증거가 관찰되었으며 여러 MHC 유전자와 중에서 TAP1과 TAP2 유전자와 사이에는 연쇄불평형 현상이 거의 없거나 매우 약하고 HLA-DQ와 DP 유전자와 사이에서 재조합의 빈도가 높다는 것이 밝혀진 바 있다(5,21-23). 실제로 CEPH (Centre d'Etude du Polymorphisme Humain) 가계 연구에서 40 가족을 대상으로 248개의 독립적인 염색체의 연쇄불평형 분석 결과 불과 15 kb 이내에 가까이 위치하고 있는 TAP1 및 TAP2 유전자가 연쇄불평형이 매우 약하다는 것이 입증되었다(24). 또한 최근에는 HLA class II 유전자좌에서 재조합이 일어난 것이 증명된 11개의 염색체를 분석하여 11개 중 2개의 재조합이 TAP2의 2번째 intron의 850 bp 부위에 위치하고 있는 것이 유전자 지도화(mapping)를 이용하여 증명되었다(23).

본 연구에서 TAP1-TAP2 및 HLA-TAP 일배체형의 연쇄불평형의 강도에 대한 분석 결과를 보면 TAP1-TAP2는 매우 약한 연관성을 보이고, 이에 비해 DRB1-TAP2의 연관성은 강하고, (DRB1-DQB1)-(TAP1-TAP2) 연관성은 더 강한 연관성을 보이는 것을 알 수 있었다(Table III, IV, V). 그러나 이전의 한국인의 가계분석에서 관찰된 DRB1-DQB1의 아주 강한 연관성(14)에 비하면 (DRB1-DQB1)-(TAP1-TAP2)의 연관성은 상당히 약하여 DRB1-DQB1과 TAP1-TAP2 간에 또는 TAP 유전자 부위나 그 주변에서 유전자 재조합이 많이 일어날 수 있음을 시사해 준다. 빈도 1.5% 이상의 DRB1-DQB1 일배체형은 총 19종인데 이들은 각각 1-6종의 다른 TAP1-TAP2와 연결되어 58종의 일배체형을 형성하여 일배체형이 상당히 다양화됨을 알 수 있었다(Table V). TAP 유전자는 HLA-DP와 HLA-DQ 유전자 사이에 위치하므로, DRB1-DQB1의 강한 연관성에 비해 DQB1-DPB1이 상당히 약한 연관성을 나타내는 데에 TAP 유전자 부위가 상당히 기여할 것으로 추측할 수 있고 본 연구의 결과도 TAP 유전자 주위에 재조합 다발부위가 존재한다는 기존의 연구결과를 뒷받침해 주는 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구를 통하여 한국인의 TAP1 및 TAP2의 대립유전자 빈도를 밝히고 가계분석을 통해 TAP1-TAP2 및 HLA-TAP 일배체형 분포에 관한 자료를 제시하였다. 또한 본 연구의 TAP 대립유전자의 빈도를 백인 및 일본인과 비교하여 유사점과 차이점을 제시하였다. 본 연구의 결과는 앞으로 인류유전학적 연구 및 한국인에서 TAP 유전자와 여러 질환간의 연관성 연구 등 관련분야에서 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

## 참 고 문 헌

- Deverson EV, Gow IR, Coadwell WJ, Monaco JJ, Butcher GW, Howard JC: MHC class II region encoding proteins related to the multidrug resistance family of transmembrane transporters. *Nature* 348;738-741, 1990
- Trowsdale J, Hanson I, Mockridge I, Beck S, Townsend A, Kelly A: Sequences encoded in the class II region of the MHC related to the 'ABC' superfamily of transporters. *Nature* 348;741-744, 1990
- Spies T, Bresnahan M, Bahram S, Arnold D, Blanck G, Mellins E, Pious D, DeMars R: A gene in the human major histocompatibility complex class II region controlling the class I antigen presentation pathway. *Nature* 348;744-747, 1990
- Monaco JJ, Cho S, Attaya M: Transport protein genes in the murine MHC: possible implications for antigen processing. *Science* 250;1723-1726, 1990
- Powis SH, Tonks S, Mockridge I, Kelly AP, Bodmer JG, Trowsdale J: Alleles and haplotypes of the MHC-encoded ABC transporters TAP1 and TAP2. *Immunogenetics* 37; 373-380, 1993
- Jackson DG, Carra JD: TAP1 alleles in insulin-dependent diabetes mellitus: a newly defined centromeric boundary of disease susceptibility. *Proc Natl Acad Sci USA* 90;11079-11083, 1993
- Shi L, Yan G, Fu Y, Ma L, Penforis A, Faustman D: Human TAP1 polymorphisms detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Tissue Antigens* 49;421-426, 1997
- Cano P, Baxter-Lowe LA: Novel human TAP2\*0103 allele shows further polymorphism in the ATP binding domain. *Tissue Antigens* 45;139-142, 1995
- Moins-Teisserenc H, Semana G, Alizadeh M, Loiseau P, Bobrynina V, Deschamps I, Edan G, Birebent B, Genetet B, Sabouraud O, Charron D: TAP2 gene polymorphism contributes to genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Hum Immunol* 42;195-202, 1995
- Marsh SGE, Bodmer JG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI: Nomenclature for factors of the HLA system, 2000. *Tissue Antigens* 57;236-283, 2001
- Powis SJ, Deverson EV, Coadwell WJ, Ciruela A, Huskisson NS, Smith H, Butcher GW, Howard JC: Effect of polymorphism of an MHC-linked transporter on the peptides assembled in a class I molecule. *Nature* 357;211-215, 1992
- Teisserenc H, Besnault L, Briaud I, Busson M, Albert E, Bignon JD, Caraballo L, Charron D, Danze PM, Louie L, Mora B, Semana G, Powis SH: TAP, LMP and HLA-DM polymorphism: 12th International Histocompatibility Workshop study. In: Charron D ed.: HLA: genetic diversity of HLA functional and medical implication, p159-170, Paris, EDK, 1997
- Calliat-Zucman S, Daniel S, Djilali-Saiah I, Timsit J, Garchon HJ, Boitard C, Bach JF: Family study of linkage disequilibrium between TAP2 transporter and HLA class II genes. Absence of TAP2 contribution to association with insulin-dependent diabetes mellitus. *Hum Immunol* 44;80-87, 1995
- Song EY, Park MH, Kang SJ, Park HJ, Kim BC, Tokunaga K, Akaza T, Juji T: HLA class II allele and haplotype frequencies in Koreans based on 107 families. *Tissue Antigens* 59;475-486, 2002
- Kuwata S, Yanagisawa M, Sacki H, Nakagawa H, Etoh T, Tokunaga K, Juji T, Shibata Y: Lack of primary association between transporter associated with antigen processing genes and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 96;1051-1060, 1995
- Maruya E, Ishikawa Y, Lin L, Tokunaga K, Kumagi S, Yokoyama S, Saji H: New polymorphisms within human TAP2 in the ATP-binding domain and profiles of TAP polymorphism in Japanese. *MHC* 3;1-8, 1996
- Powis SH, Rosenberg WM, Hall M, Mockridge I, Tonks S, Ivinson A, Ciclitira PJ, Jewell DP, Lanchbury JS, Bell JI, Trowsdale J: TAP1 and TAP2 polymorphism in coeliac disease. *Immunogenetics* 38;345-350, 1993
- Dausset J, Columbani J, Legrand J: Genetics of the HLA system: Deduction of 480 haplotypes. In: Terasaki PI ed.: Histocompatibility Testing 1970, p53-77, Copenhagen, Munksgaard, 1970
- Lee HJ, Ha SJ, Han H, Kim JW: Distribution of HLA-A, B alleles and polymorphisms of TAP and LMP genes in Korean patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 31;1867-1874, 2001
- Takeuchi F, Kuwata S, Nakano K, Nabeta H, Hong GH, Shibata Y, Tanimoto K, Ito K: Association of TAP1 and TAP2 with systemic sclerosis in Japanese. *Clin Exp Rheumatol* 14;513-521, 1996
- van Ender PM, Lopez MT, Patel SD, Monaco JJ, McDevitt HO: Genomic polymorphism, recombination, and linkage disequilibrium in human major histocompatibility complex-encoded antigen-processing genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 89;11594-11597, 1992
- Carrington M, Colonna M, Spies T, Stephens JC, Mann DL: Haplotype variation of the transporter associated with antigen processing (TAP) genes and their extension of HLA class II region haplotypes. *Immunogenetics* 37;266-273, 1993
- Cullen M, Erlich H, Klitz W, Carrington M: Molecular mapping of a recombination hotspot located in the second intron of the Human TAP2 locus. *Am J Hum Genet* 56;

- 1350-1358, 1995
24. Carrington M, Stephens JC, Klitz W, Begovich AB, Erlich HA, Mann D: Major histocompatibility complex class II haplotypes and linkage disequilibrium values observed in the CEPH families. *Hum Immunol* 41;234-240, 1994