

한국인 폐결핵 환자에서 HLA-DRB1 및 -DQB1 유전자의 다형성에 관한 연구

박명희, 송은영, 권성연¹, 박혜진², 한성구¹, 심영수¹

서울대학교 의과대학 검사의학교실, 내과학교실¹, 서울대학교병원 임상의학연구소²

=Abstract=

Polymorphisms of HLA-DRB1 and -DQB1 Genes in Korean Patients with Pulmonary Tuberculosis

Myoung Hee Park, M.D., Eun Young Song, M.D., Sung Youn Kwon, M.D.¹,
Hejin Park, B.Sc.², Sung Koo Han, M.D.¹, and Young-Soo Shim, M.D.¹

*Departments of Laboratory Medicine and Internal Medicine¹, Seoul National University College of Medicine,
Clinical Research Institute², Seoul National University Hospital, Seoul, Korea*

Background : It is well known that only 10% of those infected with Mycobacterium tuberculosis actually develop clinical disease, indicating the existence of host genetic factors regulating disease expression. In this study, we investigated HLA-DRB1 and -DQB1 gene polymorphisms in Korean patients with pulmonary tuberculosis (PTB).

Methods : HLA-DRB1 and -DQB1 gene polymorphisms were investigated in 67 PTB patients without previous treatment history, 38 drug-sensitive (DS) and 29 multidrug-resistant (MDR) cases, and 200 healthy controls. HLA-DRB1 typing was done using reverse SSO (sequence specific oligonucleotide) and PCR-SSCP (single strand conformational polymorphism) methods and DQB1 typing was done using PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism), PCR-SSCP and PCR-SSP (sequence specific primer) methods.

Results : Among the PTB patients, MDR-TB cases showed frequencies of DRB1*0701 and *08032 increased by about two-fold compared to those of normal controls, and likewise for their associated DQB1 alleles, DQB1*0202 and *0601 (15.5% vs. 34.5%, p=0.01). The frequency of HLA-DQB1*0609 was

[†] 이 논문은 서울대학교병원 일반연구비(04-1999-064-0) 지원에 의해 이루어진 것임.

Address for correspondence:

Myoung Hee Park, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine

28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea

Phone : 02-760-3388 Fax : 02-3672-3337 E-mail : parkmhee@snu.ac.kr

significantly increased in PTB patients (4.0% vs. 14.9%, $p=0.004$), showing similar increases in both DS and MDR cases. There was also an association of HLA alleles with the clinical severity of the disease according to the extent of lung lesion. Significantly increased frequencies of DRB1*08032 (4.2% vs. 32.6%, $p=0.007$) and DQB1*0601 (12.5% vs. 34.9%, $p=0.047$) were observed in more advanced (moderately & far advanced/DS and far advanced/MDR), compared with less advanced (minimal/DS and moderately advanced/MDR) lung lesions. Although DRB1*0701, DQB1*0202 and DQB1*0609 showed significant increases in different subsets of the disease, these HLA alleles did not show consistent association with disease severity.

Conclusion : HLA-DRB1*08032 and DQB1*0601 alleles were associated with genetic susceptibility to MDR-TB in Korean patients, and also with disease severity and progression of PTB. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2003, 54:367-377)

Key words : Pulmonary tuberculosis, Drug-sensitive tuberculosis, Multidrug-resistant tuberculosis, HLA-DRB1, HLA-DQB1, Korean.

서 론

세계보건기구의 통계에 의하면 전세계 인구의 1/3 인 17억명이 결핵에 이환되어 있고, 해마다 7-8백만명이 새로이 결핵에 감염되고 있다¹. 국내에서도 활동성 폐결핵 유병률이 1965년도 5.1%에서 점차 감소되는 추세이나 1995년도에 조사한 유병률이 아직 1%로 100명 중 1명은 폐결핵을 앓고 있다^{2,3}. 결핵은 *Mycobacterium tuberculosis*라는 원인균에 의해 생기지만 실제로 *M. tuberculosis*에 감염된 사람 중 10%만이 임상적으로 질병으로 발병하게 되며 그 중 극히 소수에서만 당뇨, 알코올 중독, HIV 감염, corticosteroid 치료 등 명백한 위험인자가 확인되고 있다⁴. 따라서 똑같이 감염되어도 어떤 사람에서는 임상적으로 질환을 일으키고 어떤 사람에서는 질환으로 발현되지 않는가에 대해서 숙주의 유전적 인자가 질병감수성에 작용할 것이라는 의견이 지배적이다⁵. 결핵 발병에 대한 유전적 인자의 관여에 대한 증거로 결핵감수성의 인종에 따른 차이를 들 수 있는데, Qu'Appelle 인디안이 1890년 처음 결핵에 노출되었을 때 매년 결핵에 의한 사망률이 전체 인구의 10%에 달했으나⁶

그 후 40년간 인디안 가족의 반 이상이 결핵으로 인하여 사망하고 난 뒤 매년 결핵에 의한 사망률이 0.2%로 감소함을 보고한 바 있어 아마도 이러한 변화는 결핵감수성 유전자에 대한 강한 선택압력(selection pressure)에 의한 것으로 생각되고 있다. 또한, 쌍생아에 대한 연구에서 이란성 쌍생아보다 일란성 쌍생아에서 결핵 발병의 일치율이 일관되게 높아 결핵의 질병감수성에 있어서 유전인자가 중요하다는 사실이 증명되었다⁷.

여러 질환에 있어서 질병감수성과 연관된 유전적 인자로 가장 널리 알려진 것은 사람의 주조직적합복합체(major histocompatibility complex, MHC) 유전자 산물인 HLA (human leukocyte antigen)이다. HLA는 펩타이드 항원을 T-림프구의 T 세포 수용체에 전달하는 당단백 물질로서 class I과 class II의 2군으로 분류되며, 세포매개성 면역반응 유도에 중요한 역할을 담당하여 각종 질환에 대한 유전적 연관성을 연구하는데 널리 사용되어 왔다. 결핵의 발병기전 또한 세포매개성 면역반응의 결함에 기인하는 것으로 생각되므로, HLA와의 연관성에 대해 다양한 인종의 결핵 환자에서 연구 결과가 나와 있으나 연관성을 보이는 HLA 형별의 중

류는 인종이나 연구자에 따라 차이가 있다. 결핵감수성과 HLA class II의 연관성에 대해서는 진행성 결핵과 HLA-DR2 항원이 연관이 있다는 사실이 인도, 인도네시아, 러시아에서 증명되었다^{8,9}. 반면, 결핵환자와 대조군간에 특별히 HLA class II의 빈도 차이를 보이지 않는다는 보고도 있다^{10,11}. 한국인에서는 HLA class I 항원 중 B12와¹² HLA class II 형별 중 DQA1*04가¹³ 결핵에 대한 저항성과 연관성을 보인다는 보고가 있으나 혈청학적 형별에 해당하는 저해상도 수준의 형별검사만을 시행하여 결핵감수성에 연관된 대립유전자 수준의 HLA 형별을 파악할 수는 없었다.

본 연구에서는 한국인에서 폐결핵 환자의 발병감수성에 관계된 유전적 소인을 알아보고자 이전의 치료력이 없는 결핵 환자 중 약제감수성 결핵으로 확인된 38례와 다제내성 결핵으로 확인된 29례를 대상으로 HLA-DRB1과 DQB1 유전자의 연관성에 대해 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

이전 결핵 치료력이 없는 폐결핵 환자 67명을 대상으로 하였으며, 약제감수성에 따라 두 군으로 분류하였다. 약제감수성검사서 모든 약제에 감수성을 보인 환자군(이하 약제감수성군으로 약함)이 38명이었고, 다제내성 결핵으로 진단받은 환자군(이하 다제내성군으로 약함)이 29명(이 중에 25명은 약제감수성검사로 확인되었고 4명은 임상적으로 진단 받음)이었다. 폐병변의 범위에 따른 1961년 National Tuberculosis Association (NTA) 분류에 의하면 약제감수성군(n=38)은 중증(far advanced) 14명, 중등증(moderately advanced) 16명, 경증(minimal) 8명이었고, 다제내성군(n=29)은 중증 19명, 중등증 10명이었고 경증은 없었다. 정상대조군

으로는 한국인 가족에 대해 HLA class II를 분석하여 보고한 결과¹⁴ 중에 혈연관계가 없는 부모 200명의 자료를 이용하였다.

2. HLA-DRB1 및 -DQB1 형별검사

결핵 환자 67명의 말초혈액으로부터 QIAamp Blood kit(Quiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 건강대조군의 DNA 추출은 phenol/chloroform 추출법¹⁵을 사용하였다. HLA-DR 형별(DR1~DR16)을 reverse-sequence specific oligonucleotide(SSO) 방법을 이용한 Dynal RELI™ SSO HLA-DRB Test(Dynal Biotech Ltd., Wirral, U.K.) 키트로 검사하였고, DRB1 유전자형 검사는 PCR-single strand conformational polymorphism(SSCP) 방법¹⁶을 일부 변형하여 사용하였다. PCR로 증폭된 DNA 용액 1 µL과 95% formamide 혼합액(95% formamide, 20 mM EDTA, 0.05% bromphenol blue, 0.05% xylene cyanol FF) 7 µL를 혼합하고, 95℃에서 5분간 방치하여 외가닥(single strand) 상태로 만든 후 즉시 얼음에 담갔다. 12.5%의 polyacrylamide gel(acrylamide:bisacrylamide=49:1, 5% glycerol)에 혼합액 2 µL를 걸어 22℃에서 5× Tris-borate-EDTA buffer에서 20 mA로 2시간 30분간 전기영동을 시행하였다. 단 DRB1*1201과 *1202의 구분은 glycerol이 포함 안된 12.5% polyacrylamide gel에서 20 mA로 1시간 30분간 전기영동을 하였다. 은염색을 시행하여 외가닥 DNA의 전기영동에서 나타난 밴드로 DRB1의 대립유전자형을 판정하는데 이 때 검체와 나란히 전기영동시킨 DRB1 표준 DNA의 영동 패턴과 비교하여 판정하였다. 표준 DNA는 International Cell Exchange(UCLA Tissue Typing Lab 주관)에서 그 특성이 잘 규명된 것을 사용하였다. HLA-DQB1 유전자형 검사는 PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP)

Table 1. Phenotype frequencies of HLA-DRB1 alleles in patients with pulmonary tuberculosis and in healthy controls

	Pulmonary Tuberculosis			Controls n=200 (%)
	Drug-sensitive n=38 (%)	MDR n=29 (%)	Total n=67 (%)	
0101	4 (10.5)	2 (6.9)	6 (9.0)	28 (14.0)
0301	3 (7.9)	0 (0.0)	3 (4.5)	7 (3.5)
0401	0 (0.0)	1 (3.4)	1 (1.5)	0 (0.0)
0403	3 (7.9)	3 (10.3)	6 (9.0)	10 (5.0)
0404	1 (2.6)	1 (3.4)	2 (3.0)	4 (2.0)
0405	4 (10.5)	1 (3.4)	5 (7.5)	32 (16.0)
0406	9 (23.7)	1 (3.4)	10 (14.9)	22 (11.0)
0407	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)
0410	0 (0.0)	2 (6.9)	2 (3.0)	4 (2.0)
0701	6 (15.8)	8 (27.6)	14 (20.9)	27 (13.5)
0802	1 (2.6)	1 (3.4)	2 (3.0)	12 (6.0)
08032	7 (18.4)	8 (27.6)	15 (22.4)	29 (14.5)
0901	8 (21.1)	5 (17.2)	13 (19.4)	33 (16.5)
1001	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (4.5)
1101	5 (13.2)	3 (10.3)	8 (11.9)	13 (6.5)
1201	2 (5.3)	0 (0.0)	2 (3.0)	18 (9.0)
1202	1 (2.6)	0 (0.0)	1 (1.5)	19 (9.5)
1301	0 (0.0)	1 (3.4)	1 (1.5)	6 (3.0)
1302	9 (23.7)	5 (17.2)	14 (20.9)	31 (15.5)
1307	0 (0.0)	1 (3.4)	1 (1.5)	0 (0.0)
1401	2 (5.3)	1 (3.4)	3 (4.5)	11 (5.5)
1402	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)
1403	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)
1405	1 (2.6)	5 (17.2)	6 (9.0)	15 (7.5)
1407	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)
1501	6 (15.8)	2 (6.9)	8 (11.9)	34 (17.0)
1502	3 (7.9)	3 (10.3)	6 (9.0)	9 (4.5)

Abbreviation : MDR, multidrug-resistant

과 PCR-SSCP를 병용하는 방법¹⁷으로 검사하였고, DQB1*02 아형(DQB1*0201, *0202) 검사는 PCR-sequence specific primer (SSP) 방법¹⁸으로 시행하였다.

3. 통계분석

HLA 형별의 표현형 빈도의 비교는 chi-square test를 이용하였고, 2×2 표의 기대수치가 하나라도 5 미

만인 경우에는 Fisher's exact test (two-tailed)를 이용하였다. 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 로 판정하였다. 통계적 유의성을 나타내는 HLA 형별에 대해서는 odds ratio (OR)와 95% 신뢰구간을 구하였다.

결 과

폐결핵 환자군과 정상대조군의 HLA-DRB1 대립 유전자의 표현형 빈도(Table 1)를 비교해 보면 정

Table 2. Phenotype frequencies of HLA-DQB1 alleles in patients with pulmonary tuberculosis and in healthy controls

	Pulmonary Tuberculosis			Controls n=200 (%)
	Drug-sensitive n=38 (%)	MDR n=29 (%)	Total n=67 (%)	
0201	3 (7.9)	0 (0.0)	3 (4.5)	7 (3.5)
0202	6 (15.8)	7 (24.1)	13 (19.4)	25 (12.5)
0301	9 (23.7)	5 (17.2)	14 (20.9)	53 (26.5)
0302	12 (31.6)	5 (17.2)	17 (25.4)	40 (20.0)
0303	8 (21.1)	6 (20.7)	14 (20.9)	41 (20.5)
0401	4 (10.5)	1 (3.4)	5 (7.5)	31 (15.5)
0402	1 (2.6)	3 (10.3)	4 (6.0)	13 (6.5)
0501	4 (10.5)	3 (10.3)	7 (10.4)	37 (18.5)
0502	2 (5.3)	1 (3.4)	3 (4.5)	6 (3.0)
0503	1 (2.6)	4 (13.8)	5 (7.5)	20 (10.0)
0601	9 (23.7)	10 (34.5)*	19 (28.4)	31 (15.5)
0602	6 (15.8)	2 (6.9)	8 (11.9)	33 (16.5)
0603	0 (0.0)	1 (3.4)	1 (1.5)	7 (3.5)
0604	3 (7.9)	1 (3.4)	4 (6.0)	25 (12.5)
0609	6 (15.8) [†]	4 (13.8) [‡]	10 (14.9) [§]	8 (4.0)

Abbreviation: MDR, multidrug-resistant

* p=0.01, OR=2.9 (1.3-6.5)

[†] p=0.01, OR=4.5 (1.5-13.8)

[‡] p=0.05, OR=3.8 (1.1-13.7)

[§] p=0.004, OR=4.2 (1.6-11.2)

Table 3. Phenotype frequencies of HLA-DRB1 and DQB1 alleles in clinical subtypes of pulmonary tuberculosis showing significant differences compared with controls

	Drug-sensitive TB (n=38)				MDR TB (n=29)		Controls n=200 (%)
	Minimal n=14 (%)	MA n=16 (%)	FA n=8 (%)	MA+FA n=24 (%)	MA n=10 (%)	FA n=19 (%)	
DRB1*0701	2 (14.3)	1 (6.3)	3 (37.5)	4 (16.7)	5 (50.0)*	3 (15.8)	27 (13.5)
DRB1*08032	0 (0.0)	5 (31.3)	2 (25.0)	7 (29.2)	1 (10.0)	7 (36.8) [†]	29 (14.5)
DQB1*0202	1 (7.1)	1 (6.3)	3 (37.5)	4 (16.7)	5 (50.0) [‡]	2 (10.5)	25 (12.5)
DQB1*0601	2 (14.3)	6 (37.5) [§]	1 (12.5)	7 (29.2)	1 (10.0)	8 (42.1)	31 (15.5)
DQB1*0609	3 (21.4) [¶]	2 (12.5)	1 (12.5)	3 (12.5)	0 (0.0)	4 (21.1) ^{**}	8 (4.0)

Abbreviations: TB, tuberculosis; MA, moderately advanced; FA, far advanced

* p=0.009 OR=6.4 (1.7-23.6)

[†] p=0.02 OR=3.4 (1.3-9.5)

[‡] p=0.006 OR=7.0 (1.9-25.9)

[§] p=0.04 OR=3.3 (1.1-9.7)

^{||} p=0.008 OR=4.0 (1.5-10.6)

[¶] p=0.03 OR=6.5 (1.5-28.2)

^{**} p=0.01 OR=6.4 (1.7-23.7)

상대조군에 비해 다제내성군에서 DRB1*0701이 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었고(13.5% vs 27.6%, p=0.06) DRB1*08032도 증가하는 경향을

보였으나 역시 유의성은 없었(14.5% vs 27.6%, p=0.11).

HLA-DQB1 대립유전자의 표현형 빈도(Table 2)

Table 4. Reported associations of HLA-DR and DQ genes with tuberculosis

Ethnic group	Susceptible		Protective		References
	DRB1	DQB1	DRB1	DQB1	
Allele level typing					
Thais	-	0502	-	0301	(19)
Asian Indian	1501	0601	-	-	(20,21)
Mexican	1501	0501	0402, DR8	-	(22)
Caucasian (MAC)*	1501	0602	-	-	(23)
Cambodian	-	0503	-	-	(24)
Korean	08032	0601	-	-	Present study
Generic level typing					
Chinese [†]	DR15	NT	DR11	NT	(25)
Asian Indian [†]	DR2	DQ1	-	-	(26)
Polish	DR16	NT	DR13	NT	(27)
Japanese (MAC)	DR6	NT	-	NT	(28)

Abbreviations: NT, not tested; MAC, Mycobacterium avium complex

* disseminated Mycobacterium avium complex infection in AIDS patients

[†] More retreated, drug-resistant cases were found in DRB1*15 positive patients.

[‡] stronger association in the drug-failure group

를 보면 한국인에서 DRB1*08032와 강한 연쇄불평형(linkage disequilibrium) 현상을 보이는 DQB1*0601이 정상대조군에 비해 다제내성군에서 유의한 증가를 보였다(15.5% vs 34.5%, $p=0.01$). DRB1*0701과 강한 연쇄불평형을 보이는 DQB1*0202는 증가하는 경향은 보였으나 유의성은 없었다(12.5% vs 24.1%, $p=0.15$). DQB1*0401은 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다(15.5% vs 3.4%, $p=0.09$). DQB1*0609는 전체 결핵 환자군에서 정상대조군에 비해 유의한 증가를 보였는데(4.0% vs 14.9%, $p=0.004$), 약제감수성군(4.0% vs 15.8%, $p=0.01$)과 다제내성군(4.0% vs 13.8%, $p=0.05$) 모두에서 유사한 정도로 증가하였다.

폐결핵 환자군을 폐병변의 중증도에 따라 분류하고 HLA-DRB1 및 DQB1 대립유전자의 표현형

빈도의 차이를 정상대조군과 비교하여 분석한 결과는 Table 3과 같다. 다제내성군을 중등증군과 중증군으로 나누어 분석한 결과 DRB1*0701은 중등증군에서만 유의한 증가를 보였고($p=0.009$) DRB1*08032는 중증군에서만 유의한 증가를 보였으며($p=0.02$), DQB1 대립유전자 중에는 DQB1*0601과 DQB1*0609가 중증군에서만 유의한 증가를 보였다(각각 $p=0.008$, $p=0.01$). 약제감수성군을 폐병변의 정도에 따라 경증군, 중등증군과 중증군으로 나누어 분석한 결과, DQB1*0601은 중등증군에서만 유의한 증가를 보였고($p=0.04$), DQB1*0609는 경증군에서만 유의한 증기를 보였다($p=0.03$). 한편 결핵 환자 전체에서 폐병변이 덜 진행된 환자군(약제감수성군의 경증, 다제내성군의 중등증)과 더 많이 진행된 환자군(약제감수성군의 중등증+중증, 다제

내성균의 증증)을 비교해 보면 전자에 비해 후자에서 DRB1*08032(4.2% vs 32.6%, $p=0.007$)와 DQB1*0601(12.5% vs 34.9%, $p=0.047$)의 빈도가 유의한 증가를 보였다.

고 찰

결핵과 HLA의 연관성에 대한 기존의 보고(Table 4)¹⁹⁻²⁸를 살펴보면 인종마다 차이가 많지만, HLA-DR의 경우엔 인도인(아시아 인디언), 백인, 멕시코인, 폴란드인, 중국인 등 여러 인종에서 DR2나 DR2의 아형이 연관되어 있다는 보고가 가장 많다^{20-23,25-27}. HLA-DQB1의 연관성에 대한 보고에서는 인도인에서는 DRB1*1501-DQB1*0601 일배체형이 증가하고^{20,21}, 멕시코인에서는 DRB1*1501-DQB1*0501이 증가하며²², 캄보디아인에서는 DQB1*0503이²⁴, 태국인에서는 DQB1*0502가 증가하는 등¹⁹ 더 다양한 결과를 보인다.

본 연구의 한국인 결핵 환자에서는 HLA-DR2나 그 아형의 빈도는 대조군과 차이가 전혀 없어 위에 기술한 여러 인종과는 상당히 다른 결과를 보였다. 본 연구에서 HLA-DRB1 대립유전자는 결핵 환자군에서 대조군과 유의한 차이를 보이는 것이 없었으나 DRB1*0701과 *08032가 결핵 환자군에서 증가되는 경향을 보였고, 이러한 경향은 다제내성균에서 더 현저하여 대조군의 2배 가까이 높은 빈도를 나타내었다(Table 1). HLA-DQB1 대립유전자의 변화를 보면 한국인에서 DRB1*0701 및 *08032와 강하게 연관되어 있는 DQB1*0202와 *0601이 결핵 환자군에서 증가되는 경향을 보였고 특히 다제내성균에서 더 현저하여 대조군의 2배 전후의 높은 빈도를 나타내었는데 DQB1*0601의 증가($p=0.01$)는 통계적으로도 유의한 차이였다(Table 2). 이 외에도 DQB1*0609 대립유전자가 결핵 환자군에서 유의하게 증가하였는데($p=0.004$), 약제감수성균과 다제내성균에서 비슷한 정도의 증

가를 나타내었다. 한국인에서 DQB1*0609는 DR6의 아형인 DR13(DRB1*1302)과 강한 연관성을 보이는데¹⁴, 일본인에서 DR6가 결핵의 감수성인자로 작용한다는 보고²⁸와 부분적으로 부합되는 소견으로 생각할 수 있겠다. 요약하면 한국인에서 결핵은 특히 다제내성 결핵은 DRB1*0701-DQB1*0202 일배체형과 약한 연관성을 보였고, DRB1*08032-DQB1*0601 일배체형과는 좀 더 강한 연관성을 보였다. 따라서 결핵의 감수성에 관여하는 인자가 기존의 다른 연구에서 DR2 아형이나 이와 연관된 DQB1 대립유전자로 보고된 데 반해 한국인의 다제내성 결핵에서는 DRB1*08032와 DQB1*0601이 연관된 것으로 나타나, 결핵의 감수성에 관여하는 인자가 인종에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

약제내성 결핵과 관련해서 인도인에서 HLA-DR2가 결핵 환자군에서 증가되어 있고, 치료실패군(drug-failure group)에서 더 유의하게 증가되어 있음을 보고하였고²⁶, 최근 중국인에서 DRB1*15가 결핵환자군에서 증가되어 있으며, 재치료와 약제내성률이 DRB1*15 양성환자군에서 더 빈도가 높다고 보고한 바 있다²⁵. 이처럼 결핵과 약제내성 결핵과의 HLA 연관성 보고에 큰 차이가 없으며, 다만 결핵과 연관성을 나타내는 HLA가 약제내성이거나 재발한 결핵에서는 좀 더 강한 연관성을 보이는 것으로 생각된다. 이는 대개의 결핵과 HLA 연관성 연구에서 약제내성에 따른 구분을 하지 않았기 때문에, 기존의 보고에 포함된 환자 중 약제내성 결핵환자가 상당수 포함되어 있었기 때문으로 생각된다. 한편 본 연구에서 HLA-DRB1 및 DQB1 대립유전자는 결핵의 중증도와도 연관성을 보였는데 약제감수성 결핵과 약제내성 결핵 모두에서 DRB1*08032와 DQB1*0601의 빈도가 폐병변이 덜 진행된 환자군에 비해 더 진행된 환자군에서 유의하게 증가되었다(각각 $p=0.007$, $p=0.047$). 따라서 결핵 감수성에 연관된 HLA가 있는 경우 숙주가 결핵균에 대한 면역반응을 잘 하지 못하여 폐

병변이 더 중증으로 진행되고 약제내성이 생기거나 재발이 잘 되는 것으로 생각할 수 있겠다.

이전의 결핵 치료력이 있는 경우에 다제내성 결핵의 발생빈도가 높다는 사실이 잘 알려져 있어 일본인에서는 결핵 환자 중 다제내성 결핵의 비율이 이전 치료력이 없는 환자에서는 0.8%로 낮음에 비해 이전 치료력이 있는 환자에서는 19.7%로 상당히 높은 것으로 보고되었다²⁹. 따라서 결핵 치료력이 있는 환자에서 생기는 획득 다제내성(acquired MDR) 결핵인 경우 부적절한 치료로 인해 다제내성 결핵균주가 선택(selection)되는 것으로 생각되고 있다. 한편으로는 다제내성 결핵균주가 약제감수성인 균주에 비해 전파되는 능력이나 병을 일으키는 능력이 약한 것으로 보고된 바 있어³⁰⁻³², 이전의 결핵 치료력이 없는 환자에서 다제내성 결핵균주에 감염되어 발병하는 초회 다제내성(primary MDR) 결핵은 정상적인 면역능을 갖고 있는 사람에서는 상당히 드물 것으로 생각되고 있다. 따라서 숙주에 침입한 결핵균을 적절히 제거하지 못하는 숙주의 유전적 소인이 초회 다제내성 결핵의 발병에 관여할 가능성이 있는 것으로 생각된다. 본 연구 결과 초회 다제내성 결핵환자군에서 DQB1*0601의 빈도가 유의하게 증가된($p=0.01$) 것으로 보아 DRB1*08032-DQB1*0601 또는 이와 연관된 다른 유전적 인자가 초회 다제내성 결핵의 발병 감수성에 관여하는 것으로 생각된다. DRB1*08032-DQB1*0601 일배체형은 아시아 인종(빈도 3.9%)에는 비교적 흔하지만 흑인(0%)이나 백인(<0.01%)에는 매우 드문 편으로³³ 다제내성 결핵의 지역적 분포와도 관련이 있는지에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

한편 결핵의 발병 감수성과 연관된 HLA 대립유전자의 종류가 인종에 따라 차이가 있는 것으로 보아 HLA-DR 또는 DQ 유전자와 연쇄불평형을 이루는 HLA 이외의 또 다른 유전자가 결핵의 발병 감수성에 더 직접적으로 관여하는 유전적 인자

일 가능성도 생각해 볼 수 있겠다. 향후 HLA-DR과 DQ 유전자 주위로 microsatellite marker 또는 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism) 분석을 시행한다면 결핵 감수성과 더 직접적으로 연관된 인자를 찾을 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

결핵균에 감염된 사람 중 약 10%만이 임상적으로 발병하는 것으로 보아 결핵의 발병 감수성에 숙주의 유전적 인자가 작용할 것으로 생각되고 있다. 저자들은 한국인 폐결핵 환자를 대상으로 고해상도 HLA 형별검사를 이용한 대립유전자 수준의 HLA-DR 및 DQ 유전자의 연관성에 대해 분석해 보았다.

방 법 :

이전 결핵 치료력이 없는 결핵 환자 67명(약제감수성군 38명, 다제내성군 29명)과 200명의 정상대조군을 대상으로 하였으며 HLA-DRB1 형별검사는 reverse SSO (sequence specific oligonucleotide)와 PCR-SSCP (single strand conformational polymorphism) 방법으로, DQB1 형별검사는 PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism), PCR-SSCP 및 PCR-SSP (sequence specific primer) 방법으로 시행하였다.

결 과 :

결핵환자군 중 다제내성군에서 대조군에 비해 DRB1*0701과 *08032의 빈도가 약 2배 정도 증가되는 경향을 보였고 이들 대립유전자와 연관된 DQB1*0202와 *0601(15.5% vs 34.5%, $p=0.01$)이 증가되었다. DQB1*0609는 결핵환자군에서 대조군에 비해 유의하게 증가되었고(4.0% vs 14.9%, $p=0.004$), 약제감수성군과 다제내성군에서 유사한 정도의 증가를 보였다. 폐병변의 중증도와 HLA의 연관성을 보면 덜 진행된 군(약제감수성군의 경증,

다제내성균의 중등증)에 비해 더 진행된 군(약제감수성균의 중등증+중증, 다제내성균의 중증)에서 DRB1*08032(4.2% vs 32.6%, $p=0.007$)와 DQB1*0601(12.5% vs 34.9%, $p=0.047$)이 유의하게 증가되었다. DQB1*0609는 다제내성균에서는 중증군에서, 약제감수성균에서는 경증군에서 대조군에 비해 유의하게 증가되었고 DRB1*0701과 DQB1*0202는 다제내성균의 중등증군에서만 유의하게 증가되어 이들 대립유전자는 폐병변의 중증도와 일정한 연관성을 보이지는 않았다.

결 론 :

HLA-DRB1*08032 및 DQB1*0601 대립유전자는 한국인에서 다제내성 결핵의 유전적 감수성인자로 생각되며 질환의 중증도와도 연관성을 보이는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Heifets LB. The mycobacteriology laboratory. Past, present, and future. Clin Lab Med 1996;16:513-25.
2. 홍영표. 결핵의 역학-전국실태조사 성적을 중심으로. 대한의학협회지 1991;34:468-76.
3. 홍영표. 우리나라의 결핵-어제, 오늘, 내일. 결핵 및 호흡기질환 1997;44:1-10.
4. Murray CJL, Styblo K, Rouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. Bull IUATLD 1990;65:6-24.
5. Bellamy R. Genetic susceptibility to tuberculosis in human populations. Thorax 1998; 53:588-93.
6. Motulsky AG. Metabolic polymorphisms and the role of infectious diseases in human evolution. 1960. Hum Biol 1989;61:835-69.
7. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophis study. Am Rev Respir Dis 1978;117:621-4.
8. Bothamley GH, Beck JS, Schreuder GM, D'Amaro J, de Vries RR, Kardjito T, et al. Association of tuberculosis and M. tuberculosis-specific antibody levels with HLA. J Infect Dis 1989;159:549-55.
9. Singh SP, Mehra NK, Dingley HB, Pande JN, Vaidya MC. Human leukocyte antigen (HLA)-linked control of susceptibility to pulmonary tuberculosis and association with HLA-DR types. J Infect Dis 1983;148:676-81.
10. Sanjeevi CB, Narayanan PR, Prabakar R, Charles N, Thomas BE, Balasubramaniam R, et al. No association or linkage with HLA-DR or -DQ genes in south Indians with pulmonary tuberculosis. Tuber Lung Dis 1992;73:280-4.
11. Cox RA, Downs M, Neimes RE, Ognibene AJ, Yamashita TS, Ellner JJ. Immunogenetic analysis of human tuberculosis. J Infect Dis 1988;158:1302-8.
12. Lee SY, Ko KW. A study on the frequency of HLA antigens in various diseases. Seoul Med J 1976;17:159-70.
13. 김영리, 김희진, 조윤정. 한국인 폐결핵 환자의 HLA-DQA1, DQB1, HLA-DRB1. 감염 1999; 31:402-9.
14. Song EY, Park MH, Kang SJ, Park HJ, Kim BC, Tokunaga K, et al. HLA class II allele and haplotype frequencies in Koreans based on 107 families. Tissue Antigens 2002;59: 475-86.
15. Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, et al. Current protocols in molecular biology. Indianapolis : John Wiley & Sons, Inc. ; 1998. 2.1.1-2.1.3.

16. Bannai M, Tokunaga K, Lin I, Kuwata S, Mazda T, Amaki I, et al. Discrimination of human HLA-DRB1 alleles by PCR SSCP (single-strand conformation polymorphism) method. *Eur J Immunogenet* 1994;21:1-9.
17. Park MH, Whang DH, Kang SJ. High resolution HLA-DQB1 typing by combination of PCR-RFLP and PCR-SSCP. *Hum Immunol* 1999;60:901-7.
18. Pera C, Delfino L, Longo A, Pistillo MP, Ferrara GB. Novel associations among HLA-DQA1 and -DQB1 alleles, revealed by high-resolution sequence-based typing (SBT). *Tissue Antigens* 2000;55:275-9.
19. Vejbaesya S, Chierakul N, Luangtrakool K, Srinak D, Stephens HA. Associations of HLA class II alleles with pulmonary tuberculosis in Thais. *Eur J Immunogenet* 2002; 29:431-4.
20. Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K, Lakshmi SS, Kumaran PP, Paramasivan CN, et al. Associations of HLA-DRB1, DQB1 and DPB1 alleles with pulmonary tuberculosis in south India. *Tuber Lung Dis* 1999;79:309-17.
21. Mehra NK, Rajalingam R, Mitra DK, Taneja V, Giphart MJ. Variants of HLA-DR2/DR51 group haplotypes and susceptibility to tuberculoïd leprosy and pulmonary tuberculosis in Asian Indians. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1995;63:241-8.
22. Teran-Escandon D, Teran-Ortiz L, Camarena-Olvera A, Gonzalez-Avila G, Vacamarin MA, Granados J, et al. Human leukocyte antigen-associated susceptibility to pulmonary tuberculosis: molecular analysis of class II alleles by DNA amplification and oligonucleotide hybridization in Mexican patients. *Chest* 1999;115:428-33.
23. LeBlanc SB, Naik EG, Jacobson L, Kaslow RA. Association of DRB1*1501 with disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in North American AIDS patients. *Tissue Antigens* 2000;55:17-23.
24. Goldfeld AE, Delgado JC, Thim S, Bozon MV, Ugliarolo AM, Turbay D, et al. Association of an HLA-DQ allele with clinical tuberculosis. *JAMA* 1998;279:226-8.
25. Wang J, Song C, Wang S. Association of HLA-DRB1 genes with pulmonary tuberculosis. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2001;24:302-5.
26. Rajalingam R, Mehra NK, Jain RC, Myneedu VP, Pande JN. Polymerase chain reaction-based sequence-specific oligonucleotide hybridization analysis of HLA class II antigens in pulmonary tuberculosis: relevance to chemotherapy and disease severity. *J Infect Dis* 1996;173:669-76.
27. Dubaniewicz A, Lewko B, Moszkowska G, Zamorska B, Stepinski J. Molecular subtypes of the HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis* 2000;4:129-33.
28. Takahashi M, Ishizaka A, Nakamura H, Kobayashi K, Nakamura M, Namiki M, et al. Specific HLA in pulmonary MAC infection in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:316-8.
29. Abe C. Anti tuberculosis drug resistance in Japan and in the world. *Kekkaku* 2001;76: 699-706.
30. van Soolingen D, Borgdorff MW, de Haas

- PE, Sebek MM, Veen J, Dessens M, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. *J Infect Dis* 1999;180:726-36.
31. Nitta AT, Knowles LS, Kim J, Lehnkering EL, Borenstein LA, Davidson PT, et al. Limited transmission of multidrug-resistant tuberculosis despite a high proportion of infectious cases in Los Angeles County, California. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:812-7.
32. Li Z, Kelley C, Collins F, Rouse D, Morris S. Expression of katG in *Mycobacterium tuberculosis* is associated with its growth and persistence in mice and guinea pigs. *J Infect Dis* 1998;177:1030-5.
33. Gjertson DW, Lee SH. HLA-A/B and -DRB1/DQB1 allele-level haplotype frequencies. In : Gjertson DW, Terasaki PI, editors. *HLA* 1998. Lenexa : American Society for Histocompatibility and Immunogenetics; 1998. p. 365-450.
-