

한국인에서 크론병과 Toll-Like Receptor 유전자의 연관성

울산대학교 의과대학 서울아산병원 내과학교실, 생화학·분자생물학교실*

예병덕·양석균·송규영*·양동훈·윤순만·김경조·변정식·명승재·김진호

Association of Toll-Like Receptor Gene with Crohn's Disease in Koreans

Byong Duk Ye, M.D., Suk-Kyun Yang, M.D., Kyuyoung Song, Ph.D.*,
Dong-Hoon Yang, M.D., Soon Man Yoon, M.D., Kyung Jo Kim, M.D.,
Jeong-Sik Byeon, M.D., Seung-Jae Myung, M.D., and Jin-Ho Kim, M.D.

Departments of Internal Medicine and Biochemistry and Molecular Biology*,
University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Seoul, Korea

Background/Aims: Toll-like receptors (TLRs) serve as pattern recognition receptors that recognize specific molecular patterns of pathogens and can mediate the production of proinflammatory cytokines. Recently, TLRs have been identified as susceptibility genes for Crohn's disease (CD) in several studies from Western populations. We investigated the association of genetic variations in *TLR4* and *TLR9* with CD in Korean population. **Methods:** In 380 CD cases and 380 healthy controls, we performed genotyping for *TLR4* Asp299Gly (rs4986790) and Thr399Ile (rs4986791). The genetic variations in the *TLR9* -1237T/C (rs5743836) were also examined. **Results:** Among CD patients genotyped for *TLR4* Asp299Gly and *TLR9* -1237T/C, none had variant alleles. Similarly, none of the subjects genotyped for *TLR4* Thr399Ile showed genetic variations. **Conclusions:** Our results indicate that the major genetic variations in *TLR4* and *TLR9* are rare and may not be associated with susceptibility to CD in Koreans. (Korean J Gastroenterol 2009;54:377-383)

Key Words: Crohn's disease; Toll-like receptor; Korea

서 론

크론병은 전체 장관을 침범하는 원인 불명의 만성 장염으로, 유전적인 소인이 있는 환자가 장내 세균에 대한 부적절한 면역반응을 보임으로써 발병하는 것으로 생각된다. 이러한 장내 세균과 크론병과의 관련성은, 대변 전환(fecal diversion)으로 임상 증상의 호전을 가져오는 점,¹ 크론병에서 항균제나 유산균제제(probiotics)의 효능,^{2,3} 크론병 환자의 상재

균(commensal bacteria)에 대한 면역관용 상실,^{4,5} 유전자 조작으로 장염에 대한 감수성을 갖게 된 실험동물이 무균 상태에서는 장염이 발생하지 않으나, 상재균에 노출되면 장염이 발생하는 점^{6,7} 등을 통해 추정해 볼 수 있다. 포유동물의 두 가지 면역체계인 선천면역(innate immunity)과 적응면역(adaptive immunity) 중, 세균에 대한 즉각적인 반응은 내재 면역 체계를 통해 일어나고, 이는 세균의 구조물을 인지하는 패턴 인지 수용체(pattern recognition receptor)를 통해 매

접수: 2009년 9월 22일, 승인: 2009년 10월 1일

연락처: 양석균, 138-736, 서울시 송파구 풍납동 388-1
울산대학교 의과대학 서울아산병원 내과학교실
Tel: (02) 3010-3901, Fax: (02) 476-0824

E-mail: sky@amc.seoul.kr

* 본 연구는 아산생명과학연구소의 연구비 지원에 의하여 이루어졌음(과제고유번호: 2008-447).

Correspondence to: Suk-Kyun Yang, M.D.

Department of Internal Medicine, University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, 388-1, Pungnap-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea
Tel: +82-2-3010-3901, Fax: +82-2-476-0824
E-mail: sky@amc.seoul.kr

개된다. 패턴 인지 수용체 중 대표적인 것이 NLR family [NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-like receptor family]와 toll-like receptor (TLR)이다.

세포질 내의 패턴 인지 수용체인 NLR 중 NOD2는 세균의 muramyl dipeptide를 인지 후,⁸ 세포 내 신호전달체계를 통해 nuclear factor-kappaB (NF- κ B)를 활성화시킨다.^{9,10} NOD2는 16번 염색체 장완 (q12)에 위치하고 있고, Arg702Trp, Gly098Arg 및 Leu1007fsinsC의 3가지 유전자 변이와 크론병의 연관성이 2001년에 처음으로 보고된 후,^{11,12} 서양에서 이 루어진 여러 후속 연구에서도 그 연관성이 확인되었다.¹³⁻¹⁶

그람음성 세균에 대한 면역반응을 유발하는 주요 물질은 lipopolysaccharide (LPS)이고, LPS 인지는 막통과단백(trans-membrane protein)인 TLR을 통해 이루어진다.¹⁷ 현재까지 인체에서 11종류 이상의 TLR이 규명되었고, 이들은 각각 서로 다른 미생물의 분자 패턴(pathogen-associated molecular pattern)을 인지 후 세포내 신호전달체계를 통하여 친염증성 사이토카인(proinflammatory cytokine) 분비를 매개한다.¹⁰ 이 중 TLR4는 LPS의 lipid A portion에 결합하며, 활동성 장관 염증에서 장 상피세포, 대식세포, 수지상 세포 등에 발현된다.^{18,19} TLR4는 9번 염색체 장완 (q32-33)에 위치하고 있고, TLR4 Asp299Gly 유전자 변이가 LPS에 대한 기관지의 감수성 저하,²⁰ 그람음성 세균에 대한 감수성 증가뿐 아니라,^{21,22} 크론병 및 궤양성 대장염과도 연관이 있다고 보고되었다.²³ 또한 TLR4 Thr399Ile 유전자 변이 역시 LPS에 대한 기관지 감수성 저하,²⁰ 그람음성 세균에 대한 감수성 증가²⁴ 및 궤양성 대장염과의 관련성이 보고된 바 있다.²⁵ 한편 TLR9은 세균이나 바이러스 DNA의 non-methylated CpG-motif을 인지하고,¹⁰ 최근 TLR9 -1237 C/T 유전자 변이가 크론병과의 연관이 보고되었다.^{26,27} 이러한 TLR의 유전자 변이와 염증성 장 질환의 상관 관계는 모두 서구의 백인을 대상으로 한 연구 결과들이고, 동양인에서 TLR4 Asp299Gly 유전자 변이와 궤양성 대장염의 관계에 대한 연구 결과가 일본 및 중국에서 발표되었으나,^{28,29} 아직 한국인 염증성 장질환 환자를 대상으로 한 TLR 유전자 변이에 대한 연구는 발표된 바 없다. 따라서 저자들은 한국인 크론병과 TLR4 Asp299Gly, Thr399Ile 및 TLR9 -1237 C/T 유전자 변이의 상관관계를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

서울아산병원에서 진단 및 치료를 받은 380명의 크론병 환자와 380명의 대조군이 연구에 참여하였다. 모든 크론병 환자는 서울아산병원에서 임상 소견, 영상 소견, 내시경 소

견 및 조직 소견을 바탕으로 진단 받았고, 미분류 염증성 장 질환(inflammatory bowel disease unclassified) 환자는 제외되었다. 환자군 분류는 Montreal 분류를 일부 변형하여 적용하였다.^{30,31} 즉, 진단 당시 연령(A1: ≤16세, A2: 17-40세, A3: >40세), 병변의 위치(L1: 회장, L2: 대장, L3: 회장 및 대장) 및 질병행태(B1: 염증형, B2: 협착형, B3: 관통형)로 분류하였고, Montreal 분류 중 상부 위장관 침범(upper gastrointestinal modifier) 및 항문 주변 병변(perianal disease modifier)은 적용하지 않았다. 대조군은 서울아산병원 전강검진센터 수검자 중 특이질환이 없는 수검자를 대상으로, 성별 빈도 짹짓기(frequency matching)를 통해 선정하였다. 이 연구는 서울아산병원 임상연구심의위원회의 승인을 받았고, 모든 피험자로부터 서면 동의를 취득하였다.

2. 단일염기다형성 유전자형 분석(single nucleotide polymorphism genotyping)

연구 대상자의 말초 정맥에서 5 mL의 혈액을 채취하여 표준적인 proteinase K 및 phenol/chloroform 추출법을 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. TLR4 Asp299Gly (rs4986790) 및 Thr399Ile (rs4986791) 유전자 변이와 TLR9 -1237 C/T (rs5743836) 유전자 변이의 확인은 matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry-based system (Sequenom, San Diego, CA, USA)을 이용하였고 Analytical Genetics Technology Centre, Princess Margaret Hospital/University Health Network (Toronto, Canada)에서 수행하였다.

3. 통계 분석

환자군과 대조군의 임상적인 특성은 χ^2 test 또는 Student's t-test로 비교하였다. 환자군과 대조군의 유전자형 빈도(genotype frequency) 및 대립유전자 빈도(allele frequency)는 χ^2 test로 비교하였다. p값이 0.05 미만인 경우 의미가 있다고 판정하였고, 자료 분석은 SPSS 14.0K for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였다.

결과

1. 연구 대상자의 특성

연구 대상자의 임상적인 특성은 Table 1과 같다. 380명의 크론병 환자군과 380명의 대조군은 성별 분포에서 차이를 보이지 않았으나($p=0.089$), 연령 분포에서는 차이를 보였다($p<0.001$). 크론병 환자의 진단 당시 연령은 17-40세가 가장 많았고(83.7%), 병변의 위치는 회장대장형이 가장 많았다(71.1%). 질병 행태는 염증형이 43.7%로 가장 흔하였고, 55.0%의 환자가 치루 병력이 있었다.

Table 1. Clinical Characteristics of the Study Subjects

	Patients (n=380)	Control (n=380)	p-value*
	n (%)	n (%)	
Male	238 (62.6)	214 (56.3)	0.089
Mean age at sampling (yr)	27.2±7.7	36.6±13.8	<0.001
Mean age at diagnosis (yr)	23.5±7.3		
Mean duration of disease at sampling (mo)	45.0±42.0		
Age group at diagnosis			
≤16 years	53 (13.9)	0 (0)	
17-40 years	318 (83.7)	233 (61.3)	
>40 years	9 (2.4)	147 (38.7)	
Localization			
Ileum	79 (20.8)		
Colon	31 (8.2)		
Ileocolon	270 (71.1)		
Behavior			
Inflammatory	166 (43.7)		
Stricturing	112 (29.5)		
Penetrating	102 (26.8)		
Perianal fistula	209 (55.0)		

* χ^2 test for sex and Student's t-test for age.

2. 유전자형 분석

380명의 크론병 환자군과 대조군의 유전자형을 분석한 결과는 Table 2 및 Table 3과 같다. *TLR4 Asp299Gly* 유전자형 분석에서 크론병 환자는 모두 AA 동형접합자(homozygote)였고, 대조군 337명 중 1명(0.3%)만이 GG 동형접합자였다. 환자군과 대조군에서 유전자형 및 대립유전자 빈도는 차이가 없었다($p=0.484$ 및 0.234). *TLR9 -1237 C/T* 유전자형 분석에서 크론병 환자는 모두 TT 동형접합자였고, 대조군에서는 351명 중 1명(0.3%)만이 TC 이형접합자(heterozygote)였다. 환자군과 대조군에서 유전자형 및 대립유전자 빈도는 역시 차이가 없었다($p=0.490$ 및 0.490). *TLR4 Thr399Ile* 유전자형 분석에서 712명의 피험자(크론병 346명, 대조군 366명) 모두가 CC 동형접합자였다.

고 찰

이번 연구에서는 한국인 크론병과 *TLR4 Asp299Gly* 및 *Thr399Ile* 유전자 변이와 *TLR9 -1237 C/T* 유전자 변이의 상관관계를, 각각 380명의 크론병 환자군과 대조군에서 유전자형 분석을 통해 알아보고자 하였다. 그 결과 크론병 환자 모두가 위 세 부위에서 변이 유전자를 가진 환자는 없었고,

Table 2. Genotype and Allele Distribution for the *TLR4 Asp299Gly*

<i>TLR4 Asp299Gly</i>		Crohn's disease (n=360)	Control (n=337)	p-value*
Genotype, n (%)	AA	360 (100%)	336 (99.7%)	
	AG	0 (0%)	0 (0%)	0.484
	GG	0 (0%)	1 (0.3%)	
Allele (%)	A	100%	99.7%	
	G	0%	0.3%	0.234

* χ^2 test for distribution.

Table 3. Genotype and Allele Distribution for the *TLR9 -1237 C/T*

<i>TLR9 -1237 C/T</i>		Crohn's disease (n=366)	Control (n=351)	p-value*
Genotype, n (%)	TT	366 (100%)	350 (99.7%)	
	TC	0 (0%)	1 (0.3%)	0.490
	CC	0 (0%)	0 (0%)	
Allele (%)	T	100%	99.9%	
	C	0%	0.1%	0.490

* χ^2 test for distribution.

대조군은 *TLR4 Asp299Gly* 변이가 1명(0.3%), *TLR9 -1237 C/T* 변이가 1명(0.1%)에서만 존재하였다. 즉 이번 연구에서 *TLR4 Asp299Gly*, *Thr399Ile*, *TLR9 -1237 C/T* 세 부위의 변이 유전자의 빈도는 크론병 환자군에서 모두 0%, 대조군에서는 각각 0.3%, 0%, 0.1%였다. 이러한 결과는 서구 백인 크론병 환자의 *TLR4 Asp299Gly*, *Thr399Ile* 및 *TLR9 -1237 C/T* 세 부위의 변이 유전자 빈도인 4.3-11.5%,^{23,25,27,32-40} 6.1-8.2%,^{25,27,34,37,41} 및 14.8-19.3%,^{26,27}와, 서구 백인 대조군에서 보고된 1.7-8.8%,^{23,25,27,32-40} 4-8.5%,^{25,27,34,37,41} 및 11.9-15.4%,^{26,27}와 큰 차이를 보인다. 한국인 크론병 환자에서 위 세 부위의 유전자 변이 빈도에 대한 연구는 없었으나, 최근 전신성 홍반성 낭창 환자를 대상으로 한 환자-대조군 연구 결과 대조군에서 *TLR9 -1237 C/T* 부위의 변이 유전자의 빈도가 0.3%로 이번 연구와 유사하게 서구 백인보다 현저히 낮았다.⁴¹

한국인 크론병의 유전적인 배경이 서구와 다르다는 점은 여러 연구들에서 시사되고 있다. *NOD2*의 Arg702Trp, Gly98Arg 및 Leu1007fsinsC의 3가지 유전자 변이는 유럽 및 미국에서 크론병 감수성과 관계가 있을 뿐 아니라,¹¹⁻¹⁶ 또한 크론병 표현형(회장 침범, 협착형 및 관통형)과도 연관된 것으로 보고되었다.^{14-16,42-44} 그러나 한국인을 대상으로 한 연구에서 위 세 가지 부위의 유전자 변이는 크론병과 관련성을 보이지 않았다.^{44,45} 즉, 두 연구 모두에서 크론병 환자군 및 대조군 어느 환자에서도 *NOD2*의 주요 세 부위 유전자 변이는 관찰

되지 않았다.^{44,45} 이는 일본에서 발표된 2개의 연구, 즉 483명의 크론병 환자에서 위 세 부위의 유전자 변이가 관찰되지 않았다는 보고⁴⁶ 및 350명의 크론병 환자, 272명의 궤양성 대장염 환자, 그리고 292명의 대조군 모두에서 위 세 부위 유전자 변이가 관찰되지 않았다는 보고⁴⁷와 동일한 결과이다. 중국을 대상으로 한 연구에서도 *NOD2*의 유전자 변이는 관찰되지 않아,⁴⁸ 한국, 일본, 중국에서 동일한 현상을 보였다. *NOD2* 이외에 *SLC22A4*, *SLC22A5* 및 *DLG5*의 유전자 변이도 서양에서 크론병과 관계 있는 것으로 보고되었으나,⁴⁹⁻⁵¹ 이러한 관련성이 일본에서는 재현되지 못했다.⁵²

다른 유전자 변이에 대한 연구들도 서양인과 동양인에서 차이를 보이고 있다. *TNFSF15*는 일본인에서 크론병과 연관성이 보고된 첫 유전자로,⁵³ 그 연관성은 한국인에서도 확인된 바 있다.³¹ *TNFSF15*와 크론병의 연관성은 유럽에서 역시 입증되었으나, 그 연관성의 정도는 한국 및 일본보다 약하였다.^{54,55} 반면에 서양인에서 전유전체연관성검사(genome-wide association scan)를 통해 크론병 감수성 유전자로 확인된 *IL23R* 및 *ATG16L1*은,^{54,56,57} 일본인에서는 그 연관성이 재현되지 않았다.⁵⁸ 한편 최근 한국인을 대상으로 한 연구에서 2개의 *IL23R* 유전자 변이 부위, 즉 rs1004819 및 rs1495465가 크론병과 연관성을 보였으나 서구인보다 그 정도는 약하였고, *ATG16L1*의 12개 유전자 변이 부위 중 크론병과 연관성을 보인 부위는 없었다.⁵⁹

이번 연구의 크론병 환자군에서는 *TLR4* 및 *TLR9*의 주요 세 부위에서 유전자 변이를 보인 환자는 1명도 관찰되지 않았고, 대조군과 비교할 때 세 부위의 유전자 변이가 크론병과도 관련을 보이지 않았다. 실제로 역학, 임상적인 측면에서 한국인 크론병 환자는 서양과 다른 특성을 보이고 있다. 국내에서 수행된 인구 기반 역학연구 결과를 살펴보면, 그 발병률은 1986-1990년에 인구 10만 명당 0.05명에서 2001-2005년에 인구 10만 명당 1.34명으로 지속적인 증가 추세를 보이나, 아직 서양보다는 매우 낮은 수준이다.⁶⁰ 그 외에서 서양과 다른 특성들을 살펴보면 첫째, 남성에서의 발병률이 여성보다 2배 이상 높다.⁶⁰ 이는 일본에서도 유사하게 관찰된 특징으로,⁶¹ 남녀의 발병률이 유사하였던 서양의 연구결과와 차이를 보인다. 두 번째로 우리나라에서는 회장과 대장을 침범한 크론병이 약 2/3를 차지하나, 대장 크론병의 비율이 약 10%에 그치고 있다.⁶⁰ 이는 대장에 국한된 크론병을 가장 흔한 형태로 보고한 최근 유럽 연구들과 상반되는 결과이다.⁶²⁻⁶⁴ 이번 연구에 참여한 380명의 크론병 환자를 살펴보면 남녀비가 약 1.7:1, 회장과 대장을 침범한 크론병이 71.1%, 대장에 국한된 크론병이 8.2%로 국내 인구기반 연구와 유사한 경향을 보인다. 따라서 이번 연구에 참여한 크론병 환자군에서 *TLR4* 및 *TLR9*의 주요 세 부위에서 유전자 변이가 관찰되지 않은 점은 한국인 크론병 환자에서 일

반적으로 관찰되는 현상으로 생각한다. 더불어 *TLR4* Asp299Gly, Thr399Ile 및 *TLR9* -1237 C/T 세 부위에서 소수 대립유전자 빈도(minor allele frequency)가 전체 피험자에서 각각 0.1%, 0% 및 0.07%로 모두 1% 미만이었다는 점은 이 세 부위의 유전자 다형성은 한국인에서 존재하지 않음을 시사한다.⁶⁵

서양에서 *TLR4* Asp299Gly 유전자 변이와 크론병의 관련성이 처음 보고된 후 후속 연구들은 그 관련성에서 상반된 결과를 보이나, 서구 백인을 대상으로 한 연구들의 메타분석(meta-analysis) 결과 크론병 환자군에서 299Gly 보유자의 빈도가 의미있게 더 높아서(odds ratio 1.45, 95% confidence interval 1.11-1.90),⁴⁰ 크론병과 관련성이 있는 것으로 보인다. 이와 반대로 일본에서 86명의 궤양성 대장염 환자 및 107명의 대조군에서 *TLR4* Asp299Gly 유전자 변이가 발견되지 않은 점²⁸ 및 중국에서 114명의 궤양성 대장염 환자와 160명 대조군에서 *TLR4* Asp299Gly 유전자 변이가 관찰되지 않은 점²⁹은 이번 연구와 유사한 결과로, 동양인에서 *TLR4* Asp299Gly 유전자 변이는 매우 드물고 염증성 장질환과 관련이 없음을 시사하는 것이다.

이번 연구는 아시아에서 크론병 환자들을 대상으로 *TLR4* Asp299Gly 및 Thr399Ile 유전자 변이와 *TLR9* -1237 C/T 유전자 변이를 조사한 첫 연구이지만, 단일기관에서 진단 또는 치료를 받은 크론병 환자를 대상으로 하였고, 일부 환자에서 유전자형 분석에 실패하였다는 제한점이 있다. 그러나 위에서 언급한 대로 환자군의 남녀 성비 및 질병형태(침범 부위)가 인구 기반 연구에서의 크론병 환자군과 차이를 보이지 않았고, 300명 이상의 크론병 환자들 중 위 세 부위의 유전자 변이가 1명도 없었다는 점은 다기관에서 더 많은 수의 환자를 대상으로 하더라도 동일한 결과를 얻을 것으로 예상된다.

결론으로 *TLR4* Asp299Gly 및 Thr399Ile 유전자 변이와 *TLR9* -1237 C/T 유전자 변이는 한국인 크론병 환자에서 관찰되지 않았고, 대조군에서도 매우 드물었으며 이들 유전자 변이는 한국인 크론병과 관련성을 보이지 않았다. 서구와 다른 이 결과들은 한국인 크론병 발생에 기여하는 유전적인 배경이 인종 간에 서로 다름을 시사하는 결과라고 할 수 있다.

요약

목적: Toll-like receptor (TLR)는 병원균의 특정한 분자 패턴을 인지하는 패턴 인지 수용체로 작용하여 친염증성 사이토카인 분비를 매개한다. 최근 서구에서 수행된 몇몇 연구들에서 TLR이 크론병의 감수성 유전자로 밝혀졌다. 이에 연구자들은 한국인에서 크론병과 *TLR4* 및 *TLR9* 유전자 변이

의 관계를 규명하고자 하였다. 대상 및 방법: 380명의 크론병 환자와 380명의 대조군에서 *TLR4* Asp299Gly (rs4986790), Thr399Ile (rs4986791) 및 *TLR9* -1237T/C (rs5743836) 유전자 형을 분석, 양 군 간에 비교하였다. 결과: *TLR4* Asp299Gly 및 *TLR9* -1237T/C 유전자형 분석을 시행한 크론병 환자 중 유전자 변이를 보인 환자는 없었다. 또한 *TLR4* Thr399Ile 유전자형 분석을 시행한 모든 피험자에서도 유전자 변이를 확인되지 않았다. 결론: 이 연구 결과는 한국인에서 *TLR4* 및 *TLR9*의 주요 유전자 변이는 드물고, 또한 크론병 감수성과도 연관성이 없음을 시사한다.

색인단어: 크론병, Toll-like receptor, 한국

참고문헌

- Rutgeerts P, Goboes K, Peeters M, et al. Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum. *Lancet* 1991;338:771-774.
- Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004;126:1620-1633.
- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002;347:417-429.
- Duchmann R, May E, Heike M, et al. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterium, and antigens from resident intestinal flora in humans. *Gut* 1999;44:812-818.
- Landers CJ, Cohavy O, Misra R, et al. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto-and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002;123:689-699.
- Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med* 1994;180:2359-2364.
- Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998;66:5224-5241.
- Girardin SE, Boneca IG, Viala J, et al. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 2003;278:8869-8872.
- Inohara N, Chamaillard M, McDonald C, Nunez G. NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu Rev Biochem* 2005;74:355-383.
- Lee KM. Innate and adaptive immunity in IBD. *Korean J Gastroenterol* 2007;50:S3-S13.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:599-603.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in *NOD2* associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:603-606.
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, et al. Association between insertion mutation in *NOD2* gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001;357:1925-1928.
- Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, et al. The contribution of *NOD2* gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002;122:867-874.
- Vermeire S, Wild G, Kocher K, et al. *CARD15* genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. *Am J Hum Genet* 2002;71:74-83.
- Helio T, Halme L, Lappalainen M, et al. *CARD15/NOD2* gene variants are associated with familiarly occurring and complicated forms of Crohn's disease. *Gut* 2003;52:558-562.
- Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001;1:135-145.
- Cario E, Podolsky DK. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect Immun* 2000;68:7010-7017.
- Hausmann M, Kiessling S, Mestermann S, et al. Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2002;122:1987-2000.
- Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. *TLR4* mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet* 2000;25:187-191.
- Kiechl S, Lorenz E, Reindl M, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2002;347:185-192.
- Lorenz E, Mira JP, Frees KL, et al. Relevance of mutations in the *TLR4* receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002;162:1028-1032.
- Franchimont D, Vermeire S, El Housni H, et al. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut* 2004;53:987-992.
- Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are asso-

- ciated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002;186:1522-1525.
25. Török HP, Glas J, Tonenchi L, Mussack T, Folwaczny C. Polymorphisms of the lipopolysaccharide-signaling complex in inflammatory bowel disease: association of a mutation in the Toll-like receptor 4 gene with ulcerative colitis. *Clin Immunol* 2004;112:85-91.
 26. Török HP, Glas J, Tonenchi L, Bruennler G, Folwaczny M, Folwaczny C. Crohn's disease is associated with a toll-like receptor-9 polymorphism. *Gastroenterology* 2004;127:365-366.
 27. Hong J, Leung E, Fraser AG, Merriman TR, Vishnu P, Krissansen GW. *TLR2*, *TLR4* and *TLR9* polymorphisms and Crohn's disease in a New Zealand Caucasian cohort. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1760-1766.
 28. Okayama N, Fujimura K, Suehiro Y, et al. Simple genotype analysis of the Asp299Gly polymorphism of the *Toll-like receptor-4* gene that is associated with lipopolysaccharide hyporesponsiveness. *J Clin Lab Anal* 2002;16:56-58.
 29. Guo QS, Xia B, Jiang Y, et al. Polymorphisms of CD14 gene and *TLR4* gene are not associated with ulcerative colitis in Chinese patients. *Postgrad Med J* 2005;81:526-529.
 30. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a working party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005;19(suppl A):S5-S36.
 31. Yang SK, Lim J, Chang HS, et al. Association of *TNFSF15* with Crohn's disease in Koreans. *Am J Gastroenterol* 2008; 103:1437-1442.
 32. Arnett ID, Nimmo ER, Drummond HE, et al. NOD2/CARD15, *TLR4* and CD14 mutations in Scottish and Irish Crohn's disease patients: evidence for genetic heterogeneity within Europe? *Genes Immun* 2004;5:417-425.
 33. Braat H, Stokkers P, Hommes T, et al. Consequence of functional Nod2 and Tlr4 mutations on gene transcription in Crohn's disease patients. *J Mol Med* 2005;83:601-609.
 34. Oostenbrug LE, Drenth JP, de Jong DJ, et al. Association between Toll-like receptor 4 and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11:567-575.
 35. Ouburg S, Mallant-Hent R, Crusius JB, et al. The toll-like receptor 4 (TLR4) Asp299Gly polymorphism is associated with colonic localisation of Crohn's disease without a major role for the *Saccharomyces cerevisiae* mannan-LBP-CD14TLR4 pathway. *Gut* 2005;54:439-440.
 36. Gazouli M, Mantzaris G, Kotsinas A, et al. Association between polymorphisms in the Toll-like receptor 4, CD14, and *CARD15/NOD2* and inflammatory bowel disease in the Greek population. *World J Gastroenterol* 2005;11:681-685.
 37. Brand S, Staudinger T, Schnitzler F, et al. The role of Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms and *CARD15/NOD2* mutations in the susceptibility and phenotype of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005;11: 645-652.
 38. Lakatos PL, Lakatos L, Szalay F, et al. Toll-like receptor 4 and *NOD2/CARD15* mutations in Hungarian patients with Crohn's disease: phenotype-genotype correlations. *World J Gastroenterol* 2005;11:1489-495.
 39. Fries W, Renda MC, Lo Presti MA, et al. Intestinal permeability and genetic determinants in patients, first-degree relatives, and controls in a high-incidence area of Crohn's disease in Southern Italy. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2730-2736.
 40. Browning BL, Huebner C, Petermann I, et al. Has toll-like receptor 4 been prematurely dismissed as an inflammatory bowel disease gene? Association study combined with meta-analysis shows strong evidence for association. *Am J Gastroenterol* 2007;102:2504-2512.
 41. Hur JW, Shin HD, Park BL, Kim LH, Kim SY, Bae SC. Association study of Toll-like receptor 9 gene polymorphism in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 2005;65:266-270.
 42. Abreu MT, Taylor KD, Lin YC, et al. Mutations in *NOD2* are associated with fibrostenosing disease in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;123:679-688.
 43. Radlmayr M, Török HP, Martin K, Folwaczny C. The c-insertion mutation of the *NOD2* gene is associated with fistulizing and fibrostenotic phenotypes in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;122:2091-2092.
 44. Croucher PJ, Mascheretti S, Hampe J, et al. Haplotype structure and association to Crohn's disease of *CARD15* mutations in two ethnically divergent populations. *Eur J Hum Genet* 2003;11:6-16.
 45. Lee GH, Kim CG, Kim JS, Jung HC, Song IS. Frequency analysis of *NOD2* gene mutations in Korean patients with Crohn's disease. *Korean J Gastroenterol* 2005;45:162-168.
 46. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T, Kazumori T, Nakamura Y. Absence of mutation in the *NOD2/CARD15* gene among 483 Japanese patients with Crohn's disease. *J Hum Genet* 2002;47:469-472.
 47. Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, et al. Lack of common *NOD2* variants in Japanese patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002;123:86-91.
 48. Leong RW, Armuzzi A, Ahmad T, et al. *NOD2/CARD15* gene polymorphisms and Crohn's disease in the Chinese

- population. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:1465-1470.
49. Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2000; 66:1863-1870.
50. Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, et al. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet* 2004;36:471-475.
51. Stoll M, Corneliusen B, Costello CM, et al. Genetic variation in *DLG5* is associated with inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2004;36:476-480.
52. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T, et al. Association analysis of *SLC22A4*, *SLC22A5* and *DLG5* in Japanese patients with Crohn disease. *J Hum Genet* 2004;49:664-668.
53. Yamazaki K, McGovern D, Ragoussis J, et al. Single nucleotide polymorphisms in *TNFSF15* confer susceptibility to Crohn's disease. *Hum Mol Genet* 2005;14:3499-3506.
54. The Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3000 shared controls. *Nature* 2007;447:661-678.
55. Tremelling M, Berzuini C, Massey D, et al. Contribution of *TNFSF15* gene variants to Crohn's disease susceptibility confirmed in UK population. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14: 733-737.
56. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, et al. A genome-wide association study identifies *IL23R* as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006;314:1461-1463.
57. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in *ATG16L1*. *Nat Genet* 2007;39:207-211.
58. Yamazaki K, Onouchi Y, Takazoe M, et al. Association analysis of genetic variants in *IL23R*, *ATG16L1* and 5p13.1 loci with Crohn's disease in Japanese patients. *J Hum Genet* 2007;52:575-583.
59. Yang SK, Park M, Lim J, et al. Contribution of *IL23R* but not *ATG16L1* to Crohn's disease susceptibility in Koreans. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1385-1390.
60. Yang SK, Yun S, Kim JH, et al. Epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong District, Seoul, Korea, 1986-2005: a KASID study. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:542-549.
61. Yao T, Matsui T, Hiwatashi N. Crohn's disease in Japan: diagnostic criteria and epidemiology. *Dis Colon Rectum* 2000;43:S85-S93.
62. Moun B, Vatn MH, Ekbom A, et al. Incidence of Crohn's disease in four counties in southeastern Norway, 1990-93. A prospective population-based study. The Inflammatory Bowel South-Eastern Norway (IBSEN) Study Group of Gastroenterologists. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:355-361.
63. Vind I, Riis L, Jess T, et al. Increasing incidences of inflammatory bowel disease and decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003-2005: a population-based study from the Danish Crohn colitis database. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1274-1282.
64. Bjornsson S, Johannsson JH. Inflammatory bowel disease in Iceland, 1990-1994: a prospective, nationwide, epidemiological study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:31-38.
65. Crawford DC, Akey DT, Nickerson DA. The patterns of natural variation in human genes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2005;6:287-312.