

한국인의 신생아 황달과 UGT1A1 및 CYP1A2 유전자 다형성과의 연관성

성애병원 소아과, 경희대학교 의과대학 소아과학교실*, 약리학교실†

강 훈 · 임준호 · 김지숙 · 김은령 · 김성도* · 이희제† · 정주호†

The Association of Neonatal Hyperbilirubinemia with UGT1A1 and CYP1A2 Gene Polymorphism in Korean Neonates

Hoon Kang, M.D., Jun Ho Lim, M.D., Ji Sook Kim, M.D., Eun Ryoung Kim, M.D.
Sung Do Kim, M.D.*, Hee Jae Lee, M.D.† and Joo Ho Chung, M.D.†

Department of Pediatrics, Sung-Ae General Hospital, Department of Pediatrics*, Pharmacology†,
College of Medicine, Kyunghee University, Seoul, Korea

Purpose : The incidence of nonphysiologic neonatal hyperbilirubinemia is twice as high in East Asians as in whites. Recently, UGT1A1 mutation was found to be a risk factor for neonatal hyperbilirubinemia. In congenitally-jaundiced Gunn rats, which lack expression of UDP-glucuronosyltransferase, alternative pathways can be stimulated by inducers of CYP1A1 and CYP1A2 enzymes. CYP1A2 plays a major role in bilirubin degradation of the alternate pathway. We studied the relationship between UGT1A1 and CYP1A2 gene polymorphism of neonatal hyperbilirubinemia in Koreans.

Methods : Seventy-nine Korean full term neonates who had hyperbilirubinemia (serum bilirubin >12 mg/dL) without obvious causes of jaundice, were analyzed for UGT1A1 and CYP1A2 gene polymorphism; the control group was sixty-eight. We detected the polymorphism of Gly71Arg of UGT1A1 gene by direct sequencing and T2698G of CYP1A2 by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP) using MboII and direct sequencing.

Results : Allele frequency of Gly71Arg mutation in the hyperbilirubinemia group was 32 percent, which was significantly higher than 11 percent in the control group($P<0.0001$). Mutant gene frequency of T2698G was 41.8 percent in patients and 32.3 percent in the control group($P=0.015$), but allele frequency was 21 percent in patients and 19 percent in the control group, which was not significantly higher($P=0.706$). There was no relationship between mutations of two genes($P=0.635$).

Conclusion : The polymorphism of UGT1A1 gene(Gly71Arg) and CYP1A2 gene(T2698G) was detected in Korean neonatal hyperbilirubinemia. Only polymorphisms of Gly71Arg in UGT1A1 were significantly higher than control group. (Korean J Pediatr 2005;48:380-386)

Key Words : UGT1A1, CYP1A2, Neonatal hyperbilirubinemia, Polymorphism

서 론

황달은 신생아에서 가장 흔히 볼 수 있는 문제 중 하나로 대 부분 간접빌리루빈의 상승을 보이고, 빌리루빈 수치가 높은 경우에는 중추신경계에 손상을 주는 핵 황달을 일으키기도 한다¹⁾. 신생아 황달에 영향을 줄 수 있는 위험인자로는 저출생 체중아

나 미숙아, 모유수유, 남아, 두혈중, 영양장애, 출생 후 체중의 감소, 당뇨병 산모 및 임신성 고혈압, 분만촉진제의 사용, 황달의 가족력 등이 있으며, 한국, 중국, 일본을 비롯한 동양인이 백인보다 신생아 황달이 많이 발생하고, 흑인에 비해 백인의 황달 발생 빈도가 낮으며, 그리스인 등에서 특발성 신생아 황달이 많이 발생한다고 알려져 있어 신생아 황달과 유전적 요인과의 연관성이 있을 것으로 생각되어 왔다²⁻¹⁰⁾.

Gilbert 증후군과 Crigler-Najjar 증후군은 선천성 불포합빌리루빈혈증으로 빌리루빈 포함효소로 알려져 있는 Uridine diphosphoglucuronosyl transferase(UDPGT)의 활동도가 감소되어 있으며, 그 원인이 UGT1A1 유전자의 돌연변이(mutation)라

접수 : 2004년 9월 1일, 승인 : 2004년 10월 13일
책임저자 : 김은령, 성애병원 소아과
Correspondence : Eun Ryoung Kim, M.D.
Tel : 02)840-7230 Fax : 02)832-8569
E-mail : NICU@chollian.net

는 것이 최근에 확인되었고¹¹⁻¹³⁾, 다른 위험인자가 없는 한국인, 타이완 중국인, 일본인 신생아 황달에서도 UGT1A1 유전자의 돌연변이 중 Gly71Arg이 신생아 황달과 연관이 있는 것으로 확인되었다¹⁴⁻¹⁹⁾. 선천적으로 UDPGT의 활동도가 저하되어 불포합빌리루빈혈증을 보이는 사람과 쥐에서 빌리루빈 대사의 부경로가 존재하며 이에 관여하는 효소가 Cytochrome P450의 CYP1A1과 CYP1A2이며^{20, 21)}, 이 효소의 활동도는 CYP1A1과 CYP1A2 유전자의 돌연변이에 의해 조절된다는 연구가 발표되었다²²⁾. 빌리루빈 대사의 주경로인 UDPGT 효소는 신생아의 경우 출생 6주에서 14주가 되어야 어른 수준으로 활성화되므로, CYP1A2 효소가 작용하는 부경로가 영향을 미칠 것으로 생각된다.

이에 본 저자는 UGT1A1 및 CYP1A2 유전자의 돌연변이와 신생아 황달에 어떤 상관관계가 있는지 알아보려고 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2002년 4월부터 2004년 1월까지 성애병원 신생아실에서 출생하거나 입원한 신생아 중 황달 환자군은 재태 기간 37주 이상, 몸무게 2,500 g 이상이며, 용혈성 빈혈, 다혈증, 신생아가사, 두피혈종, 감염, 간 기능 장애, 당뇨병 산모 및 임신성 고혈압 등의 황달위험인자가 없고 혈중 빌리루빈 수치가 12 mg/dL 이상인 환자 79명이었다. 대조군은 재태 기간 37주 이상, 몸무게 2,500 gm 이상, 다른 위험 인자가 없는 신생아에서 혈중 빌리루빈 수치가 12 mg/dL 이하인 환자 68명이었다.

2. 방법

1) 혈액 채취 및 DNA 추출

혈액 0.5 cc를 채혈하여 EDTA 튜브에 넣어 응고를 방지한 다음 DNA를 추출하기 전까지 -20°C에서 보관하였으며 DNA 추출은 genomic DNA isolation Kit(Corebio system co., Seoul, Korea)을 이용하였다.

2) DNA 증폭(amplification)

UGT1A1 유전자의 exon 1을 증폭하기 위해 Primer로 사용된 염기서열은 UGT1A1-Sense는 5'-TCTCTGAAAGTGA-ACTCCCT-3'이고, UGT1A1-Antisense는 5'-CCAGAAGA-TGATGCCAAAGA-3'(Bioneer Co., Daejeon, Korea)이다. CYP1A2 유전자의 5'-Flanking region에서 *Mbo*II 제한효소에 절단되는 부위를 증폭하기 위해 Primer로 사용된 염기서열은 CYP1A2-Sense는 5'-GCTACACATGATCGAGCTATA-3'이고, CYP1A2-Antisense는 5'-CAGGTCTCTTCACTGTAA-AGTTA-3'(Bioneer co., Daejeon, Korea)이다.

DNA 증폭을 위한 PCR은 추출된 20-100 ng/ μ L의 DNA 1.5 μ L에 10배 PCR 완충용액(PH 8.3, 100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂) 2 μ L, 2.5 mM dNTP 1 μ L, 10

pmol primer 각 0.5 μ L, Taq DNA polymerase(Takara shuzo, Shiga, Japan) 0.2 μ L(5 U/ μ L), 3차 증류수 14.3 μ L를 혼합하여 총 20 μ L을 만든 후 Master cycler gradient(Eppendorf, Hamburg, Germany)에서 시행하였다. 온도주기는 UGT1A1에서는 94°C에서 5분을 유지한 후, denaturation은 94°C에서 45초, annealing은 60°C에서 45초, extension은 72°C에서 45초로 40회 반복한 후 extension을 극대화하기 위해 72°C에서 5분을 유지하였고, CYP1A2에서는 94°C에서 5분을 유지한 후, denaturation은 94°C에서 45초, annealing은 56°C에서 45초, extension은 72°C에서 45초로 40회 반복한 후 extension을 극대화하기 위해 72°C에서 5분을 유지하였다.

3) 유전자형의 판별

PCR로 증폭한 UGT1A1 유전자의 exon 1부위와 CYP1A2 유전자의 프로모토(promotor) 부위의 DNA를 각각 BigDye Sequencing chemistry Kit(Amersham, Uppsala, Sweden)내의 방법에 따라 혼합액을 만든 후 다음의 방법에 따라 반응을 시켰다. Denaturation은 96°C에서 30초, annealing은 50°C에서 15초, extension은 60°C에서 4분으로 25회 반복하였다. 이것을 microcentrifuge tube에 20 μ L을 담고 95% 에탄올 40 μ L을 첨가하여 실온에서 원심분리 하였다(12×g, 15분). 피펫으로 상층 액을 버리고 침전물을 75% 에탄올 150 μ L로 세척한 후 원심분리 하였다(12×g, 10분). 다시 피펫으로 상층 액을 버리고 침전물을 10-15분간 진공 원심분리 하여 건조시킨다. 이것을 튜브에 넣고 90°C에서 열을 가한 후 ABI 3100 DNA sequencer(Perkin-elmer, Torrance, USA)를 이용하여 염기서열 분석으로 확인하였다(Fig. 1, 2).

한편, CYP1A2 유전자의 증폭된 DNA 10 μ L에 제한효소 *Mbo*II(Boehringer Mannheim, Indianapolis, USA) 0.2 unit, 효소완충용액 3 μ L, 3차 증류수 16.8 μ L를 혼합하여 총 30 μ L를 만들어 37°C에서 밤새 처리한 후 ethidium bromide 포함된 2% agarose gel에서 전기영동 하여 UV trans-illuminator위에서 DNA띠의 위치를 관찰하였다. *Mbo*II 제한효소에 절단되지 않는 경우에는 596 bp 야생형 동형접합체 단일띠(TT), 모두 절단되는 경우의 393 bp, 203 bp의 변이형 동형접합체이중띠(GG), 그리고 일부 절단되어 596 bp, 393 bp와 203 bp가 모두 나타나는 이형접합체 삼중띠(TG)의 3가지 유전자형을 구분할 수 있었다(Fig. 3).

4) 통계

황달 환자군과 대조군 사이에서 UGT1A1과 CYP1A2의 변이 유전자형에 대한 발현 빈도의 유의성 검정은 Chi-square와 Fisher 정확 검증, Standard t-test로 시행하였고, 변이형의 발현 빈도와 황달과의 연관성을 정량화하기 위한 검사는 교차비(Odds ratio)와 95%의 신뢰구간(confidence interval)을 이용하였다. 통계분석은 GraphPad PRISM 통계 패키지(version 2.00, Graphpad software)를 이용하였고, 유의수준은 $P < 0.05$ 로 하였다.

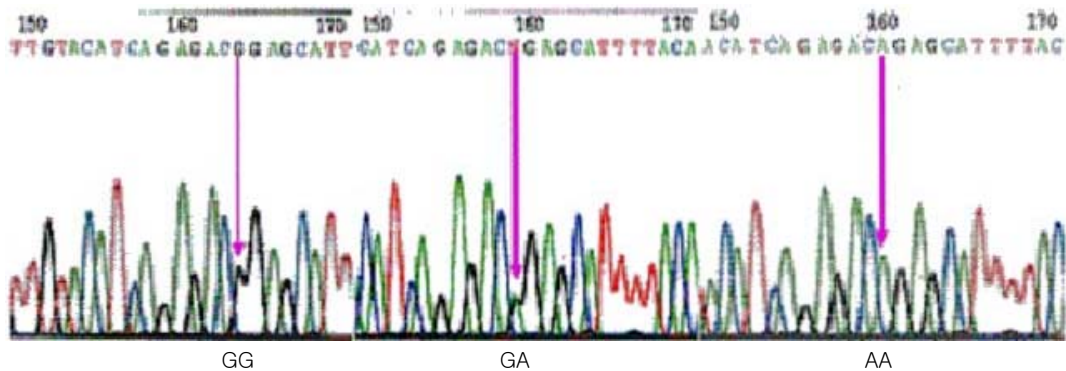


Fig. 1. Sequencing analysis of UGT1A1; The mutation in nucleotide -211 portion leads an exchange of guanine to adenine. Wild type(GG), variant heterozygous type(GA) and variant homozygous type(AA).

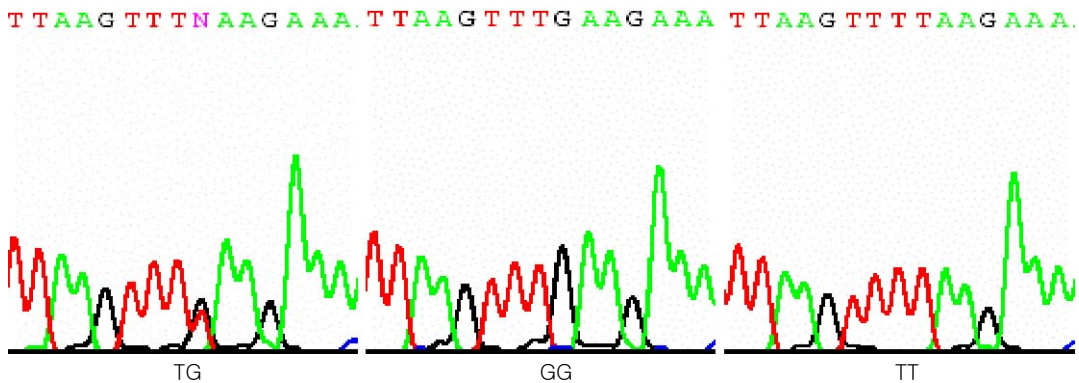


Fig. 2. Nucleotide sequence of CYP1A2 *Mbo*II site. The mutation in nucleotide -2698 portion leads an exchange of thymidine to guanine. Heterozygous mutant(TG), homozygous mutant(GG), wild type(TT).

결 과

1. 대상환자의 임상적 특징

황달 환자군 79명의 평균 재태 기간은 39.0 ± 1.1 (mean \pm 2SD) 주, 출생체중은 $3,241 \pm 318$ (mean \pm 2SD) gm이고, 대조군 68명의 평균 재태 기간은 39.3 ± 1.0 주, 출생체중은 $3,226 \pm 535$ gm이었다. 성별은 환자군에서 남자 46명, 여자 33명이고, 대조군에서는 남자 37명, 여자 31명이었다. 환자군에서 제왕절개 48명(60.8%), 질식분만 31명(39.2%)이고, 대조군에서 제왕절개 44명(64.7%), 질식분만이 24명(35.3%)이었다. 출생체중, 재태기간, 분만방법, 성별 등은 환자군과 대조군에서 차이가 없었다. 수유 방법은 환자군에서 모유수유와 혼합수유가 56명(70.9%), 분유수유가 23명(29.1%), 대조군에서 모유수유와 혼합수유가 36명(52.9%), 분유수유가 32명(47.1%)으로 환자군에서 모유수유가 많았으며 통계학적으로 의의가 있었다($P=0.025$)(Table 1).

2. UGT1A1 유전자의 다형성의 발현율과 빈도

UGT1A1 유전자의 exon 1의 염기서열 211번에서 Guanine \rightarrow Adenine으로의 염기치환을 검사한 결과 변이형 이종접합(GA)

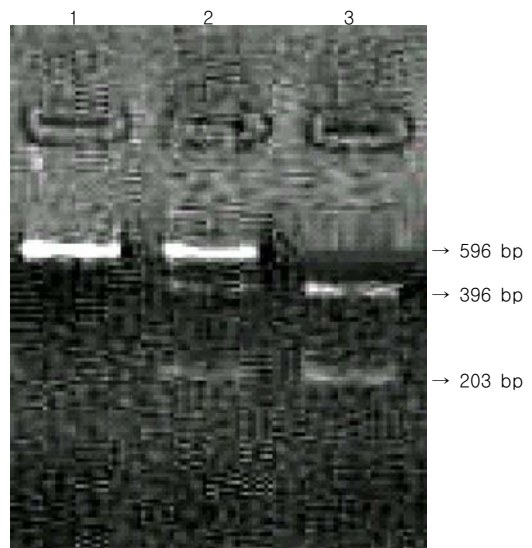


Fig. 3. Polymorphism of CYP1A2 PCR-amplified fragments is obtained by *Mbo*II(Lane 1 TT, Lane 2 TG, Lane 3 GG).

유전형은 환자군에서 36명(45.6%), 대조군에서 13명(19.1%)으로 환자군에서 더 많았으며 통계학적으로도 유의한 차이를 보였다

Table 1. Characteristics of Hyperbilirubinemia Group and Control Group

	Hyperbilirubinemia	Control	P value
Number of subjects(n)	79	68	>0.05
Gestational age(weeks)	39.0(±1.1)	39.3(±1.0)	>0.05
Body weight(gm)	3,241(±318)	3,226(±535)	>0.05
Male/Female(n)	46/33	37/31	>0.05
C-sec/Vaginal(n)	48/31	44/24	>0.05
Breast/Artificial(n)	56/23	36/32	0.025

Table 2. Distribution of UGT1A1 Genotype and Frequency of Allele with Codon 71(Gly71Arg) in the Control Group and in Hyperbilirubinemia Group

	Control group(n=68)	Hyperbilirubinemia group(n=79)
Genotype distribution		
GG [*]	54	36
GA [†]	13	36
AA [‡]	1	7
Allele frequency		
G [§]	89%	68%
A	11%	32%

*GG: Wild type, †GA: Variant heterozygous type, ‡AA: Variant homozygous type, §G: Guanine, ||A: Adenine
Significant difference from control group: P<0.0001

(P=0.0007)[OD ratio=3.54, 95% CI(1.67-7.49)]. 변이형 동형접합(AA) 유전형은 환자군에서 7명(8.8%), 대조군에서 1명(1.5%)으로 환자군에서 더 많았으며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(P=0.069)[OD ratio=6.51, 95% CI(0.78-54.38)]. 환자군에서 돌연변이형 대립 유전자(mutant allele frequency) 빈도는 32%이었고 대조군에서는 11%로, 환자군이 더 높았고 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(P<0.0001)(Table 2). 변이형의 발현 빈도와 황달과의 위험도를 분석한 결과 3배 이상의 위험도를 나타내었다[OD ratio=3.73, 95% CI(1.98-7.03)].

3. CYP1A2 유전자의 다형성의 발현율과 빈도

CYP1A2 유전자의 프로모토 부위의 -2698위치에서 thymidine의 guanine(T→G)으로의 염기치환을 발견하였다(Fig. 2). 이 부위를 MboII 제한효소로 처리한 결과 변이형 이중접합(TG) 유전형은 환자군에서 33명(41.8%), 대조군에서 18명(26.5%)으로 환자군에서 더 많았으며 통계학적으로도 유의한 차이를 보였다(P=0.038)[OD ratio=1.99, 95% CI(0.99-4.01)]. 변이형 동형접합(GG) 유전형은 환자군에서 0명, 대조군에서 4명(5.9%)으로 대조군에서 더 많았으며 통계학적으로 유의한 차이를 보였다(P=0.004)[OD ratio=0.090, 95% CI(0.005-1.71)]. 반면에 대립유전자 빈도의 경우, 황달 환자군에서 돌연변이형의 대립 유전자 빈도는 21%이었고 대조군에서는 19%로, 환자군이 더 높았으나 통계학적으로 의미는 없었다(P=0.706)[OD ratio=1.12, 95% CI

Table 3. Distribution of CYP1A2 Genotype and Frequency of Allele with T2698G in the Control Group and in Hyperbilirubinemia Group

	Control group(n=68)	Hyperbilirubinemia group(n=79)
Genotype distribution		
TT [*]	46	46
TG [†]	18	33
GG [‡]	4	
Allele frequency		
T [§]	81%	79%
G	19%	21%

*TT: Wild type, †TG: Variant heterozygous type, ‡GG: Variant homozygous type, §T: thymidine, ||G: Guanine
P>0.1

(0.63-1.98)](Table 3).

4. UGT1A1 유전자와 CYP1A2 유전자의 변이의 연관성

UGT1A1 유전자의 Gly71Arg 돌연변이와 CYP1A2 유전자의 T2698G 돌연변이가 발생과는 상관관계가 없는 것으로 조사되었다(P=0.635). 즉 각각의 유전자 변이형의 발생은 어떤 하나의 유전자의 영향을 받기보다 독립적으로 변이가 일어난다고 생각할 수 있다[OD ratio=1.244, 95% CI(0.5053-3.063)].

고 찰

신생아에서는 하루 생성되는 빌리루빈의 약 75%가 세망내피계에서 정상적으로 수명이 다한 순환적혈구가 파괴되는 과정에서 만들어지고, 25%는 비혈색소 heme 단백질이나 비효율적인 조혈작용에 의해 골수나 순환으로 나온 직후의 미숙한 적혈구로부터 만들어진다. 이러한 무극성의 비수용성인 불포합빌리루빈은 heme의 마지막 부산물이며 microsomal heme oxygenase와 biliverdin reductase에 의해 biliverdin을 거쳐 bilirubin으로 전환되며 알부민과 결합하여 간세포까지 도달한 후 ligandin과 결합하여 간세포내로 흡수되어 UDPGT에 의한 포합과정을 통해 수용성 포합빌리루빈인 bilirubin monoglucuronide와 diglucuronide로 전환되어 담즙으로 배설된다.

신생아 황달의 생리적인 발생 기전으로는 첫째, 순환 적혈구량이 많고 평균수명이 짧아서 하루 생성되는 빌리루빈의 양이 생후 2주 정도까지는 어른의 약 2배 정도로 많은 것이고 둘째, 소장과 대장의 세균 수가 적고 불포합 효소인 β-glucuronidase의 활동도가 증가되어 장내에서 다량의 포합빌리루빈이 불포합 빌리루빈으로 전환된 후에, 장간 순환에 의해 재흡수 되는 양이 어른에 비해 상당히 많아서 간세포에서 빌리루빈의 부하량이 증가하는 것이며, 셋째는 ligandin이나 UDPGT의 활동도 및 간세포에서의 포합빌리루빈의 배설 등이 성인에 비해 감소되어 있을 수 있는 요인으로 이 중에서 UDPGT의 활동도 감소에 의해 빌리루빈의 포합이 저하되는 것이 오랜 기간동안 신생아의 생리

적 황달 발생의 주요 원인으로 생각되어 왔으며, 생후 7일 이내의 만삭아와 미숙아에서 UDPGT의 활동도는 어른에 비해 1% 정도에 불과하며 생후 6주에서 14주 정도 경과 후에 급속히 어른 수준에 이르는 것으로 알려져 있다¹⁾.

UDPGT의 유전자인 UGT1A1은 2번 염색체의 장완 37에 위치하며 promoter 부위와 5개의 exon으로 구성되어 있다²³⁾. 최근까지의 연구를 통해 Gly71Arg, Pro299Gln, Tyr486Asp, (TA)₇ 등 UGT1A1 유전자의 여러 돌연변이가 발견되었다. UGT1A1 유전자의 다형성은 인종에 따라 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있고, UGT1A1의 promoter로 알려진 TATA box의 돌연변이의 빈도가 서양인에서는 38.7-66%이나 동양인에서는 14-24%로 낮았고²⁴⁻²⁸⁾, 일본, 타이완 중국인에서 신생아 황달과는 연관이 없었다¹⁶⁻¹⁹⁾. 다른 위험인자가 없는 한국, 일본, 타이완 중국 신생아 황달에서 Gly71Arg의 돌연변이가 각각 22%, 32-47%, 30.1%로 많았다고 보고되었다¹⁴⁻¹⁹⁾. 본 연구에서도 다른 연구결과들과 마찬가지로 한국 신생아 황달 환자에서 Gly71Arg의 대립유전자 빈도가 32%로 대조군의 11%보다 높았고 통계학적으로도 의의가 있었다($P < 0.0001$).

Cytochrome P450 효소의 유전자는 현재까지 13개의 gene family로 분류되며, 선천성 불포합빌리루빈혈증을 보인 사람과 쥐에서 빌리루빈대사의 부경로가 활성화된다는 것이 증명된 이후^{20, 21)}, 이때 작용하는 효소가 Cytochrome P450A1(CYP1A1)과 Cytochrome P450A2(CYP1A2)라는 것이 확인되었다²⁹⁾. β -naphthoflavone, 3-methylchoanthrene, 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl 등 간의 monooxygenase의 유발자들에 의해 빌리루빈의 대사가 증가하는 것으로 알려져 있고, Cyp1a2(-/-) 돌연변이를 가진 쥐의 실험에서 유발자들에 의한 빌리루빈 대사의 증가를 보이지 않았다. 이것을 근거로 CYP1A1과는 달리 CYP1A2는 유발자들 없이도 빌리루빈 대사에 관여하는 것으로 확인되었고, CYP1A2의 조절을 통해 빌리루빈 포합의 이상을 가진 환자에서 치료 효과를 볼 수 있을 것으로 기대하였으며²²⁾, NADPH만 존재하는 경우 빌리루빈의 산화에 있어 CYP1A1보다 그 작용이 더 왕성하다고 보고되었다³⁰⁾.

CYP1A2 유전자는 15번 염색체의 장완 22에 위치하고 7개의 exon으로 구성되었으며 1986년 Jaiwal 등³¹⁾과 Quattrochi 등³²⁾에 의해 그 nucleotide의 염기서열이 밝혀진 이후 1989년 Ikeya 등³³⁾에 의해서는 CYP1A1 유전자와는 다른 위치에 발현을 조절하는 regulatory element가 존재한다고 했으며 Quattrochi 등³⁴⁾과 Chung 등³⁵⁾도 CYP1A2 유전자의 regulatory elements가 존재한다고 보고한 바 있다. Nakajima 등^{36, 37)}은 이전에 발표했던 CYP1A2 유전자와는 염기서열에서 차이를 보이는 구조를 확인하여 CYP1A2의 다형성을 처음으로 보고하였으며 제한효소인 DdeI을 이용해 5'-Flanking region의 G2964A 점상 돌연변이가 존재하는 것을 확인했고 이것에 의해 CYP1A2의 활성도가 감소한다고 했다. Huang 등³⁸⁾은 중국인에서 제한효소인 MboII를 이용하여 C2886G 점상돌연변이를 확인했다.

빌리루빈대사에 UDPGT 외에도 Cytochrome P450이 관여한다는 것을 문헌고찰을 통해 확인하였고, Cytochrome P450의 빌리루빈 대사에 대한 활동도가 CYP1A2 유전자의 다형성과 관련이 있을 것이라는 가설 하에 본 연구를 시작하였으며, UGT1A1과 CYP1A2의 다형성간의 연관성에 대해서도 실험을 하게 되었다.

본 연구에서는 신생아 황달 환자에서 빌리루빈 대사에 부경로로 관여하는 CYP1A2 유전자 -2698 위치에서 thymidine에서 guanine으로의 염기치환 여부를 조사했으며, CYP1A2의 경우 변이형 유전형의 분포는 환자군에서 41.8%로 대조군의 32.3%보다 높았고 통계학적으로도 의의가 있었으나($P=0.0152$), T2698G 대립유전자의 빈도는 환자군에서 21%로 대조군의 19%보다 높았지만 통계학적으로는 의의가 없었다($P=0.706$).

한편, UGT1A1 유전자와 CYP1A2 유전자의 변이형 발생에 있어서의 연관성은 없는 것으로 조사되었다($P=0.635$). 즉, 두 유전자는 독립적으로 변이가 일어난다고 생각할 수 있다.

저자들의 연구에서는 환자군과 대조군의 수가 적었고, 빌리루빈대사에 주경로와 부경로로 작용하는 많은 유전자들 중에서 Gly71Arg과 T2698G만을 대상으로 했기 때문에, 더 많은 환자를 대상으로 다양한 유전자들을 선택하여 신생아 황달 및 각 유전자간의 상관관계에 관한 연구가 계속 된다면 더 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

목적 : 신생아 황달은 백인에 비해 중국, 일본, 한국 등 동아시아인에서 2배 이상 많이 발생하는 것으로 보아 유전적 연관성이 있을 것으로 생각되어 왔고, 최근 일본인, 타이완 중국인, 한국인에서 UGT1A1 유전자의 Gly71Arg 다형성이 신생아 황달과 연관성이 있다고 보고되었다. 선천적으로 UDP-glucuronosyltransferase(UDPGT)에 결함이 있는 경우에는 부경로(alternative pathway)로 CYP1A2 효소를 자극하여 빌리루빈 대사가 이루어진다. 출생 후 6-14주가 되어야 성인 UDPGT 정상치에 도달하기 때문에 신생아 황달에서 빌리루빈 대사에 CYP1A2 부경로가 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 이에 저자들은 UGT1A1과 CYP1A2 유전자의 다형성이 한국인 신생아 황달의 발생과 어떤 연관성이 있는지 알아보려고 본 연구를 시행하였다.

방법 : 혈중 빌리루빈 수치가 12 mg/dL 이상의 건강하고, 황달의 다른 위험인자가 없는 만삭아 79명과 대조군 68명으로부터 혈액 0.5 cc를 채취하여 DNA를 분리하였다. UGT1A1 유전자는 Polymerase chain reaction(PCR) 후에 염기서열 분석을 통해서 Gly71Arg 유전자 다형성을 확인하였으며, CYP1A2는 제한효소인 MboII를 이용하여 PCR-restriction fragment length polymorphism 방법과 염기서열 분석을 통해서 T2698G 유전자 다형성을 확인하였다.

결과 : UGT1A1 유전자의 Gly71Arg 다형성은 변이형 대립

유전자 분포가 환자군에서 32%로 대조군 11%보다 높았다($P < 0.0001$). CYP1A2 유전자의 다형성은 변이형 유전형 분포가 환자군에서는 41.8%, 대조군에서 32.3%로 환자군이 높았으며 통계학적으로 유의하였다($P=0.015$). 변이형 대립유전자의 빈도는 환자군에서 21%로 대조군 19%보다 높았으나 통계학적 유의성은 없었다($P=0.706$). Gly71Arg와 T2698G의 변이형 발생의 연관성은 없었다($P=0.635$).

결론 : 한국인의 신생아 황달에서 체내의 빌리루빈 대사의 주경로와 부경로에 작용하는 효소의 유전자인 UGT1A1과 CYP1A2의 다형성이 확인되었고, UGT1A1 유전자의 Gly71Arg 다형성은 신생아 황달과 연관이 있었으나 CYP1A2 유전자의 T2698G 다형성은 신생아의 황달과 연관이 없었다.

References

- Maisels MJ. Jaundice. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG, editors. Neonatology: pathophysiology and management of the newborn. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1999:765-819.
- Friedman L, Lewis PJ, Clifton P, Bulpitt CJ. Factors influencing the incidence of neonatal jaundice. Br Med J 1978; 1:1235-7.
- Horiguchi T, Bauer C. Ethnic differences in neonatal jaundice: Comparison of Japanese and Caucasian newborn infants. Am J Obstet Gynecol 1975;121:71-4.
- Linn S, Schoenbaum SC, Monson RR, Rosner B, Stubblefield PG, Ryan KJ. Epidemiology of neonatal hyperbilirubinemia. Pediatrics 1985;75:770-4.
- Brown WR, Boon WH. Ethnic group differences in plasma bilirubin levels of full-term, healthy Singapore newborns. Pediatrics 1965;36:745-51.
- Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. Am J Dis Child 1988; 142:1065-9.
- Newman TB, Easterlin MJ, Goldman ES, Stevenson DK. Laboratory evaluation of jaundice in newborns. Am J Dis Child 1990;144:364-8.
- Gale R, Seidman DS, Dollberg S, Stevenson DK. Epidemiology of neonatal jaundice in the Jerusalem population. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1990;10:82-6.
- Nielsen HE, Haase P, Blaabjerg J, Stryhn H, Hilden J. Risk factors and sib correlation in physiological neonatal jaundice. Acta Paediatr Scand 1987;76:504-11.
- Drew JH, Kitchen WH. Jaundice in infants of greek parentage: the unknown factor may be environmental. J Pediatr 1976;89:248-52.
- Koiwai O, Nishizawa M, Hasada K, Aono S, Adachi Y, Mamiya N, et al. Gilbert's syndrome is caused by a heterozygous missense mutation in the gene for bilirubin UDP-glucuronosyltransferase. Hum Mol Genet 1995;4:1183-6.
- Yamamoto K, Sato H, Fujiyama Y, Doida Y, Bamba T. Contribution of two missense mutations(G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase(UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II. Biochim Biophys Acta 1998;1406:267-73.
- Kadakol A, Ghosh SS, Sappal BS, Sharma G, Chowdhury NR. Genetic lesions of bilirubin uridine-diphosphoglucuronate glucuronosyltransferase(UGT1A1) causing Crigler-Najjar and Gilbert syndromes: correlation of genotype to phenotype. Hum Mutat 2000;16:297-306.
- Hong KW, Kang H, Kim IS, Kim JS, Kim ER, Lee HJ, et al. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase gene (UGT1A1) of neonatal hyperbilirubinemia in Korea. Korean J Pediatr 2004;47:18-23.
- Maruo Y, Nishizawa K, Sato H, Doida Y, Shimada M. Association of neonatal hyperbilirubinemia with bilirubin UDP-glucuronosyltransferase polymorphism. Pediatrics 1999;103:1224-7.
- Huang CS, Chang PF, Huang MA, Chen ES, Hung KL, Tsou KI. Relationship between bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene and neonatal hyperbilirubinemia. Pediatr Res 2002;52:601-5.
- Yamamoto A, Nishio H, Waku S, Yokoyama N, Yonetani M, Uetani Y, et al. Gly71Arg mutation of the bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene is associated with neonatal hyperbilirubinemia in the Japanese population. Kobe J Med Sci 2002;48:73-7.
- Akaba K, Kimura T, Sasaki A, Tanabe S, Wakabayashi T, Hiroi M, et al. Neonatal hyperbilirubinemia and a common mutation of the bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene in Japanese. J Hum Genet 1999;44:22-5.
- Akaba K, Kimura T, Sasaki A, Tanabe S, Ikegami T, Hashimoto M, et al. Neonatal hyperbilirubinemia and mutation of bilirubin uridine-diphosphate-glucuronosyltransferase gene: A common missense mutation among Japanese, Koreans and Chinese. Biochem Molec Biol Int 1998;46:21-6.
- Schmid R, Hammaker L. Metabolism and disposition of C14-bilirubin in congenital nonhemolytic jaundice. J Clin Invest 1963;42:1720-34.
- Kapitulnik J, Ostrow JD. Stimulation of bilirubin catabolism in jaundiced Gunn rats by an inducer of microsomal mixed-function mono-oxygenases. Proc Natl Acad Sci USA 1977;75:682-5.
- Zaccaro C, Sweitzer S, Pipino S, Gorman N, Sinclair PR, Sinclair JF, et al. Role of cytochrome P450A2 in bilirubin degradation studies in Cyp1a2(-/-) mutant mice. Biochem Pharmacol 2001;61:843-9.
- Ritter JK, Crawford JM, Owens IS. Cloning of two human liver bilirubin UDP-glucuronosyltransferase cDNAs with expression in COS-1 cells. J Biol Chem 1991;266:1043-7.
- Monaghan G, Ryan M, Seadon R, Hume R, Burchell B. Genetic variation in bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. Lancet 1996;347: 578-81.
- Ando Y, Chida M, Nakayama K, Saka H, Kamataki T. The UGT1A1*28 allele is relatively rare in a Japanese population. Pharmacogenetics 1998;8:357-60.
- Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyl transferase 1(UGT1A1) promoter: A balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? Proc. Natl Acad Sci USA 1998;95:8170-4.
- Huang CS, Chang PF, Huang MJ, Chen ES, Chen WC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, the UDP-

- glucuronosyltransferase 1A1 gene, and neonatal hyperbilirubinemia. *Gastroenterology* 2002;123:127-33.
- 28) Huang CS, Luo GA, Huang MJ, Yu SC, Yang SS. Variations of the bilirubin uridine-diphosphoglucuronosyl transferase 1A1 gene in healthy Taiwanese. *Pharmacogenetics* 2000;10:539-44.
- 29) Kapitunlik J, Gonzalez FJ. Marked endogenous activation of the CYP1A1 and CYP1A2 genes in congenitally jaundiced Gunn rat. *Mol Pharmacol* 1993;43:722-5.
- 30) Pons N, Pipino S, De Matteis F. Interaction of polyhalogenated compounds of appropriate configuration with mammalian or bacterial CYP enzymes. Increased bilirubin and uroporphyrinogen oxidation in vitro. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:405-14.
- 31) Jaiswal AK, Nebert DW, Gonzalez FJ. Human P3450: cDNA and complete amino acid sequence. *Nucleic Acids Res* 1986;14:6773-4.
- 32) Quattrochi LC, Pendurthi UR, Okino ST, Potenza C, Tukey RH. Human cytochrome P-450 4 mRNA and gene: Part of a multigene family that contains Alu sequences in its mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:6731-5.
- 33) Ikeya K, Jaiswal AK, Owens RA, Jones JE, Nebert DW, Kimura S. Structure, comparison with the mouse and rat orthologous gene and differences in liver 1A2 mRNA expression. *Mol Endocrinol* 1989;3:1399-408.
- 34) Quattrochi LC, Tukey RH. The human cytochrome CYP1A2 gene contains regulatory elements responsive to 3-Methylcholanthrene. *Mol Pharmacol* 1989;36:66-71.
- 35) Chung I, Bresnick E. Identification of positive and negative regulatory elements of the human cytochrome P4501A2 (CYP1A2) gene. *Arch Biochem Biophys* 1997;338:220-6.
- 36) Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Shin S, Kadlubar FF, Kamataki T. Phenotyping of CYP1A2 in Japanese population by analysis of caffeine urinary metabolites: Absence of mutation prescribing the phenotype in the CYP1A2 gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994;3:413-21.
- 37) Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: Effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem* 1999;125:803-8.
- 38) Huang JD, Guo WC, Lai MD, Guo YL, Lambert GH. Detection of a novel cytochrome P-450 1A2 polymorphism (F21L) in Chinese. *Drug Metab Dispos* 1999;27:98-101.