

심한 Respiratory Syncytial Virus 감염증과 선천성 면역에 관련된 유전적 소인에 관한 연구 : Mannose Binding Lectin 유전자 다형성

최은화 · 김희섭* · 윤보영 · 최승은 · 나송이 · 김동호 · 박기원 · 이환종

서울대학교 의과대학 소아과학교실, 동국대학교 의과대학 소아과학교실*

= Abstract =

Innate Immunity and Genetic Susceptibility to Severe Respiratory Syncytial Virus Infection : Lack of an Association with Mannose Binding Lectin Gene Polymorphism

Eun Hwa Choi, M.D., Hee Sup Kim, M.D.*, Bo Young Yun, M.D.
Seung Eun Choi, M.D., Song Yi Nah, M.D., Dong Ho Kim, M.D.
Ki Won Park, M.D. and Hoan Jong Lee, M.D.

*Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine,
Department of Pediatrics*, DongGuk University College of Medicine, Korea*

Purpose : We hypothesized that mannose binding lectin gene(*MBL2*), a key molecule of innate immunity, may contribute to the development and the outcome of respiratory syncytial virus(RSV) disease in early childhood. This study was performed to investigate the genetic basis of polymorphisms and haplotypes of *MBL2* for RSV disease severity in Korean children.

Methods : Cases with severe RSV diseases are 99 children with severe RSV lower respiratory tract infections, who were admitted to the Seoul National University Children's Hospital through 1993~2000. The control subjects consisted of 224 anonymous healthy Korean blood donors. The frequency of promoter variant(-221, X/Y) and structural variant(codon 54) were compared between the case patient group and the control subject group.

Results : The mean age of patients was 11.8 months; 49% were <6 months, 39% were 6-24 months and 12% were >24 months. In the cohort of cases of severe RSV diseases, the genotypic frequencies of structural variant in codon 54 were 61% for AA, 34% for AB, and 5% for BB. Those of the promoter X/Y variant were 85% for YY and 15% for XY. There were no significant differences in overall distribution of both structural and promoter variants between the cases and the control subjects. We did not observe statistical difference in the haplotypic frequencies of *MBL2*.

Conclusion : Common variants of *MBL2* gene most likely do not contribute to the risk for severe RSV diseases in Korean children. Further genetic association studies should be

본 연구는 2004년 서울대학교병원 신진연구과제(04-04-001)의 지원으로 이루어졌음.

책임저자 : 이환종, 서울대학교 의과대학 소아과학교실

Tel : 02)2072-3633, Fax : 02)745-4703, E-mail : hoanlee@snu.ac.kr

conducted in a larger prospectively recruited cohort of children with RSV infection.

Key Words : Respiratory syncytial virus, Mannose binding lectin gene, Polymorphism

서 론

Respiratory syncytial virus(RSV) 감염증은 만 2세까지의 어린 영아들이 거의 100% 앓는 질환으로 소아에서 가장 중요한 호흡기 바이러스성 감염증이다. 어린 나이에 초감염을 앓은 후 평생동안 반복 감염될 수 있으며 노인층에서는 인플루엔자와 유사한 폐렴을 일으켜 노인 사망률을 증가시킨다¹⁾.

심한 RSV 세기관지염은 기관지폐 이형성증, 미숙아, 선천성 심질환 그리고 기존의 면역력 및 폐기능의 저하가 동반된 소아들에게 흔히 병발하나, 위험 인자가 없는 건강한 영아도 심한 RSV 세기관지염으로 입원하는 경우가 적지 않다²⁾. 또한, 영아 및 2세 미만 어린 연령의 소아에서 RSV에 의한 심한 세기관지염은 소아의 반복적인 천명, 천식 및 기도 과민반응 등을 흔히 합병할 수 있다³⁾. 현재까지 심한 RSV 감염증이나 감염 후 기도 과민반응이 RSV 감염증을 앓고 난 후 이차적인 결과로 나타나는 것인지 아니면, 개인의 유전적인 성향에 따라 심한 RSV 감염증이 발병하는지가 논란의 대상이 되고 있다.

선천성 면역(innate immunity)은 인체의 방어 기전에서 일차적인 방어에 근본적인 역할을 할 뿐 아니라, 적응성 면역(adaptive immunity)의 활성화 및 상호 작용에 대한 선천성 면역의 조절 기능은 임상적으로 매우 중요하다⁴⁾. 특히, 아직 적응성 면역이 완전하지 않은 어린 영아에서 선천성 면역과 관련된 인자는 감염성 질환으로부터 숙주를 보호하는 중요한 방어 기전으로 작용할 수 있다. 그 예로, 개 개인의 선천성 면역의 기능은 소아의 급성 호흡기 감염증의 발생과 예후에 지대한 영향을 미칠 수 있다^{5, 6)}.

Collectin(C-type lectin)은 선천성 면역에 관련된 중추적 기능을 하며, 주로 세균, 곰팡이 및 바이러스 표면의 mannose나 N-acetylglucosamine을 인지하는데, RSV 감염증에서는 가장 중요한 표면 항원인 fusion 단백을 인지한다고 알려져 있다⁷⁾. 특히, man-

nose binding lectin(MBL)을 코딩하는 유전자 Mannose Binding Lectin(MBL2)은 단백질 코딩 부위와 promoter 부위의 유전적 다형성(polymorphisms)이 감염성 질환, 자가면역 질환 등 다양한 질환의 유전적 소인으로 밝혀진 바 있다^{8, 9)}.

본 연구는 어린 연령의 소아에서 선천성 면역력의 중요한 인자인 MBL2 유전자의 다형성 및 일배체형의 분포를 환자 대조군 연구를 통하여 분석함으로써, MBL2 유전자의 다형성이 소아 RSV 감염증의 발생과 예후에 기여하는지를 밝히고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1993년부터 2000년까지 7년 동안 서울대학교 어린이병원 소아과에 발열, 기침, 및 천명 등의 호흡기 증상으로 내원하여 세기관지염 및 폐렴 등의 하기도 감염증으로 입원하였던 소아 중 미숙아, 기관지폐 이형성, 선천성 심기형 등의 위험인자를 동반하지 않은 RSV 감염증 환자 99명을 대상으로 하였다. 하기도 감염증의 진단은 2명 이상의 의사가 진찰하여 천명이나 누음을 확실하게 청진하였거나, 하기도 증상을 가진 소아의 흉부 방사선 소견에서 침윤이나 과팽창의 소견이 확인된 경우로 하였다. 대조군은 서울대학교병원 건강검진센터에서 진찰받은 성인 중 만성 또는 특이 기저 질환이 없는 건강한 성인 224명으로 하였다.

2. 방 법

1) 바이러스 진단

폐렴과 세기관지염의 임상적 진단하에 입원한 소아 중 응급실 치료 중 또는 입원 후 2일 이내에 환자의 비강에서 비인두 흡인물을 채취하여 4℃에 보관하였다. 비인두 흡인물의 도말에서 RSV에 대한 단클론 항체를 이용한 면역형광 염색으로써 항원을 검출하거나, 비인두 흡인물을 HEp-2 단층세포에 접종하여 RSV의 배양을 시도하였다. RSV 감염증은 면역형광 염색 양성 또는 배양 양성인 경우에

진단하였다.

2) 핵산 추출

대상 환자 99명의 비인두 흡인물은 바이러스 진단 이후 -70℃에 보관하였으며, 이를 해동하여 modified salt precipitation 방법을 이용하여 genomic DNA(gDNA)를 추출하였다(Gentra, Inc. Minneapolis, MN, USA)¹⁰. gDNA 추출 과정 중 충분한 양의 gDNA 침전물을 얻지 못한 경우는 glycogen을 사용하여 핵산의 양을 최대화하였다. 정상 대조군은 EDTA 전혈을 채취하여 같은 방법으로 gDNA를 추출하였다.

3) *MBL2* 유전자의 유전형 결정

MBL2 유전자의 다형성 중 promoter -221 X/Y 다형성과 exon 1에서 아미노산 서열의 변화를 초래하는 codon 52(대립유전자 D), 54(대립유전자 B), 그리고 57(대립유전자 C)의 3가지 코딩 변이를 분석하였다. 이 중 3개의 codon에서 모두 변이가 없는 경우를 대립 유전자 "A"로 표시하였으며, 후자의 3가지 코딩 부위의 다형성을 하나라도 소유한 경우를 모두 합하여 구조 변이(structural variants) "O"로 표시하였다⁸).

중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)에 사용한 시발체는 Table 1과 같다. PCR 반응은 gDNA를 10~50 ng을 사용하였으며, 10X reaction buffer 1 μL, MgCl₂ 2.0 mM, dNTP mix 0.2 mM, 전시발체와 역시발체 각각 20 pmol, AmpliTaq Gold DNA polymerase 2.5 units(Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA)를 혼합하여 PCR을 시행하였다. 증폭된 각 PCR 생산물은 1.5%의 agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다. 증폭한 PCR 생산물 중 8 μL를 취하여 Exonuclease I과

Shrimp alkaline phosphatase를 이용하여 정제(37℃ 1시간, 72℃ 15분 반응)한 후 4℃에 보관하였다가 염기서열 분석에 사용하였다.

염기서열 반응은 BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA)를 사용하여 dideoxy chain termination법으로 DNA Engine(MJ research, Waltham, MA, USA)에서 96℃ 2분 [94℃ 30초, 55℃ 30초, 60℃ 4분] cycle을 25회 시행하였다. 반응 후에 산물을 Sephadex column을 이용하여 정제한 후에 ABI 3100 automated sequencer(Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA)에서 전기영동한 후 자료는 Sequencing analysis v3.3(Applied Biosystems, Inc, Foster City, CA, USA)으로 분석하였다. 염기 서열의 변이 분석에는 Sequencher 4.1.1 (Gene Codes Co, Ann Arbor, MI, USA)를 사용하였다. 정상 대조군 48명의 gDNA(96 염색체)를 무작위로 선정하여 한국인에도 이러한 유전적 변이가 존재하는지 염기 서열 분석법으로 스크린한 후 정상대조군에 유전형 빈도가 5% 이상으로 흔한 다형성인 경우에 후보 유전형으로 선택하여 분석하였다.

4) 일배체형 결정

일배체형을 분석하기 위하여 각 부위의 유전형 데이터를 일배체형 분석 프로그램인 PHASE v2.0 (<http://www.stat.washington.edu/stephens/phase.html>)을 이용하여 일배체형의 구조를 분석하였다¹¹).

5) 의무기록 고찰

RSV 감염증의 중증도 및 위험 인자의 동반 여부를 확인하기 위하여 RSV 감염증이 확인된 예들의 의무 기록을 검토하여, 환자들의 연령, 임상 증상 및 입원 경과 등을 분석하였다. 입원의 기준은

Table 1. Primers Used for Genotyping Assays of Mannose Binding Lectin(*MBL2*) Gene

| Locus | Sequence (5'→3') |
|----------------------------|--|
| Structural variant(exon 1) | F : cct gag tat ggt ggc agc gtc tta ct R : cag gca gtt tcc tct gga agg S : act gtg acc tgt gag gat gcc caa aag |
| Promoter X/Y variant(-221) | F : cat gga gag aaa gag gaa gct cct R : tag gca cta tga tga gca gtg gg atc S : tcc cta agc taa cag gca taa |

Abbreviations : F, forward; R, reverse; S, sequence primer

청색증, 연령기준에 따른 빈호흡, 10초 이상의 무호흡, 그리고 경구섭취 감소가 있는 경우로 하였다. 심한 RSV 세기관지염은 입원이 필요한 경우 또는 입원 치료 중에 무호흡, 청색증, 빈호흡 또는 호흡곤란증이 나타났거나, 산소 요법이나 인공 환기요법이 요구된 경우로 정의하였다.

6) 통계적 분석

환자군과 대조군간의 각 유전형과 일배체형의 빈도는 3×2 표를 이용한 Chi square test를 이용하여 비교하였으며, P값이 0.05 미만인 경우 두 군간의 빈도에 차이가 있는 것으로 해석하였다(GraphPad InStat V3.06(GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA).

결 과

1. 환자 대조군의 특성

환자군은 총 99명으로 중앙 연령은 9.5개월로 생후 6일부터 49개월까지 분포하였다. 이 중 6개월 미만이 48명(49%), 6~24개월 사이 39명(39%), 그리고 24개월 이상이 12명(12%)이었다. 남아는 58명(59%), 여아는 41명(41%)이었다(Table 2). 대조군 224명의 연령분포는 평균 46.9세(SD±9.2세)로 23세부터 62세 사이에 분포하였다. 대조군의 남녀비는 남자 125명(56%) 여자 99명(44%)이었다.

심한 RSV 감염증으로 진단된 환아에서 동반된 증상은 경구섭취 저하 61명(62%), 빈호흡 68명(69%), 무호흡 5명(5%), 산소 보충 요법 52명(53%), 중환자실 입원 16명(16%), 인공환기요법 시행 12명(12%) 등이었다. 산소 포화도는 총 52명에서 측정하였는데, 그 중 산소 포화도가 90% 이하로 감소한 경우가 18명(35%)이었다.

2. 정상 대조군 스크린

한국인에서 *MBL2* 유전자의 다형성 빈도를 스크린하기 위하여 정상 대조군 48명(96 염색체)을 무작위로 선정하여 분석하였다. *MBL2* 유전자의 exon 1은 codon 구조 변이 중 대립유전자 C와 D는 스크린군에서 발견되지 않아 정상 한국인에서의 대립유전자 C와 D의 빈도는 1% 이하일 것으로 추측되었다. 반면, codon 54 다형성(대립유전자 B)의 빈도는

31%로 본 환자 대조군의 연구에 포함하였다. *MBL2* 유전자의 promoter -221 부위 다형성도 대립유전자 X의 빈도가 18%로 나타나 환자 대조군의 연구에 포함하였다.

3. 환자 대조군에서 *MBL2* 구조 다형성과 promoter 다형성의 분포

심한 RSV 감염증 환자군 99명과 대조군 224명에서 *MBL2* codon 54의 대립유전자 B의 빈도는 Table 3에 제시하였다. 대조군에서 유전형 AA 141(63%), 이형접합 AB 69(31%), 그리고 유전형 BB 14(6%)로 나타났다. 환자군에서는 유전형 AA 60(61%), 이형접합 AB 34(34%), 그리고 유전형 BB 5(5%)로 나타났다. 두 군간의 exon 1의 대립유전자 B의 빈도에는 유의한 차이가 없었다(P=0.78).

Promoter -221 X/Y 유전형의 분포는 대조군에서 유전형 YY 174(78%), 이형접합 XY 46(20%), 그리고 유전형 XX 4(2%)로 나타났다. 환자군에서는 유전형 YY 84(85%), 이형접합 XY 15(15%)이었으며, 유전형 XX는 발견되지 않아, 역시 두 군간에 차이가 없었다(P=0.20).

Table 2. Demographic Characteristics of the 99 Patients with Severe Respiratory Syncytial Virus Disease

| | |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| Age | |
| Median(range) | 9.5 months (6 days ~ 49 months) |
| Range | |
| <6 months | 48(49%) |
| 6~24 months | 39(39%) |
| >24 months | 12(12%) |
| Sex ratio(male : female) | 58 : 41(1.4 : 1) |
| Clinical features | |
| Tachypnea | 68(69%) |
| Poor feeding | 61(62%) |
| Desaturation(SaO ₂ <90%)* | 18(35%) |
| Apnea | 5(5%) |
| Required oxygen supply | 52(53%) |
| Admission to intensive care unit | 16(16%) |
| Mechanical ventilation | 12(12%) |

*The SaO₂(Saturation of arterial oxygenation) were checked in 52 patients

4. 환자 대조군에서 MBL2 일배체형의 분포

MBL2의 promoter와 exon 1의 다형성 부위를 대상으로 하여 일배체형 분석을 한 결과, AX, AY, BY 등 3가지 유형의 일배체가 존재하였다(신뢰도 $\geq 95\%$). 일배체형의 분포는 대조군 448개 염색체 중 AX 54(12%), AY 297(66.3%), 그리고 BY 97(21.7%)로 나타났다. 환자군 198개 염색체 중 AX 15(7.6%), AY 139(70.2%), 그리고 BY 44(22.2%)로 나타나, 두 군간에 통계적인 차이가 없었다($P=0.23$) (Table 4).

고 찰

본 연구는 1993년부터 2000년까지 심한 RSV 하기도 감염증으로 입원하였던 한국인 소아 99명을

Table 3. The Frequency of Genotypes of the Mannose Binding Lectin(MBL2) Gene between the Case Patients and the Control Subjects

| Loci | Cases with RSV disease (N=99) | Controls (N=224) | P value |
|---------------------|-------------------------------|------------------|---------|
| Structural | | | |
| AA | 60(61%) | 141(63%) | 0.78 |
| AB | 34(34%) | 69(31%) | |
| BB | 5(5%) | 14(6%) | |
| Promoter X/Y | | | |
| XX | 0(0%) | 4(2%) | 0.20 |
| XY | 15(15%) | 46(20%) | |
| YY | 84(85%) | 174(78%) | |

Comparative analysis was performed at each of 2 loci using a 2 analysis(3×2 tables with 2 degrees of freedom)

Table 4. The Frequency of Haplotypes of the Mannose Binding Lectin(MBL2) Gene between the Case Patients and the Control Subjects

| Haplotypes | Cases with RSV disease (198 chromosomes) | Healthy controls (448 chromosomes) | P value |
|------------------------|--|------------------------------------|---------|
| Codon 54/-221XY | | | |
| AX | 15(7.6%) | 54(12.0%) | 0.23 |
| AY | 139(70.2%) | 297(66.3%) | |
| BY | 44(22.2%) | 97(21.7%) | |

Comparative analysis was performed using a 2 analysis(3×2 tables with 2 degrees of freedom)

대상으로 선천성 면역에 중요한 인자인 MBL2 유전자가 RSV 감염증에 기여하는지를 환자 대조군 연구를 시행한 결과, 한국인 소아에서는 MBL2 유전자의 다양성이 심한 RSV 감염증의 발병과 연관이 없는 것을 확인하였다.

RSV 감염증은 만 2세까지 거의 100%의 영아 및 어린 소아들이 앓는 질환으로 그 중 약 25~30%는 세기관지염이나 폐렴 등의 하기도 감염증을 일으키며, 전체 감염된 환자의 1~2%가 심한 세기관지염 또는 폐렴으로 입원 치료를 요하고 이 중에는 인공 환기요법이나 중환자 관리가 필요한 경우도 있다^{2, 12}. 이처럼 다양한 RSV 감염증의 중증도를 결정하는 인자는 아직까지 정확하게 밝혀진 바는 없으나, 다양한 바이러스 인자, 환경의 영향, 그리고 숙주의 감수성 등이 기여할 것으로 이해되고 있다. 특히, 숙주의 감수성을 결정하는 인자에는 연령, 기저 질환의 동반, 그리고 개개인의 유전적 소인이 중요한 인자로 작용할 수 있다.

심한 RSV 감염증의 발병과 예후에 관련된 숙주의 유전적 소인은 IL4, IL4 receptor, IL8, 그리고 IL10 등의 케모카인과 싸이토카인 관련 유전자의 다양성이 연관된 것으로 보고된 바 있다¹³⁻¹⁶. 또한 폐의 일차적인 숙주 방어를 담당하는 선천성 면역 인자로 알려져 있는 surfactant protein A1(SFTPA1)과 surfactant protein A2(SFTPA2) 유전자 중 SFTPA2 유전자의 1A3 대립유전자는 영아의 심한 RSV 감염증과 연관된다고 보고되었다¹⁷.

MBL2 유전자는 SFTPA1과 SFTPA2와 동일하게 염색체 10q11-q23에 위치하면서 amino-terminal region, collagen-like domain, neck, carbohydrate recognition domain 등의 4가지 기본 구조를 이루는 col-

lectin(C-type lectin) 계에 속한다^{9, 18-20}. *MBL2* 유전자의 다형성 중 본 연구에서는 mannose binding protein의 구조적인 결합 및 기능적인 변화를 야기하는 부위로 알려진 promoter -221X/Y 다형성과 exon 1의 구조 변이(대립유전자 O; B, C, 그리고 D)를 분석하였다²¹. Promoter -221X/Y 다형성은 *MBL* 발현의 조절 기능을 변화시키며, exon 1의 구조 변이 부위는 collagen domain의 정상적인 소중합체(oligomer) 구조를 약화시킴으로써 혈청내 단백질의 농도 저하, 오폭소닌화의 저하, 고전 보체계 연쇄반응 등의 기능적인 장애를 초래한다. *MBL2* 유전형에 따른 기능적 변화에 따라 대립 유전자 O와 X를 *MBL*-불충분(insufficient) 군, 대립 유전자 A와 Y는 *MBL*-충분(sufficient) 군으로 구별한다²¹. 이들의 다형성은 각 인종별로 차이가 나는 것으로 알려져 있는데, 본 연구의 대상에서는 구조 변이 중 대립유전자 C와 D가 발견되지 않아서 한국인 중에는 이 두 가지 유전형이 없거나 아주 미미한 빈도로 존재함을 알 수 있었다.

덴마크의 한 연구에 의하면⁹, 1996년부터 1998년까지 급성 호흡기 감염증에 이환된 2세 미만 소아 252명을 대상으로 한 연구에서 *MBL*-불충분 대립유전자를 갖는 소아는 *MBL*-충분 군에 비하여 급성 호흡기 감염증의 비교위험도(relative risk)가 2.08배 증가하였는데, 이는 주로 5~17개월 사이의 영유아에서 현저하였으며(비교위험도 2.92), 6개월 미만이거나, 18-23개월의 소아에서는 비교위험도의 증가가 유의하지 않은 것으로 나타났다.

숙주의 유전적인 소인 이외에도 *RSV* 감염증의 중증도는 바이러스 농도, 바이러스 아형, 바이러스 유전형, 그리고 환경(예, 간접흡연) 등의 인자에 의하여 결정될 수 있다²²⁻²⁵. 하지만, 연구마다 각기 방법과 대상 환자에 차이가 있고 특히, 질환의 중증도에 대한 정의가 통일되지 않아서 이러한 인자들이 *RSV* 감염증의 중증도에 미치는 영향이 아직 정확하게 검증되지 않았다. 본 연구에서는 바이러스 아형(A 또는 B 아형)과 유전형에 따른 *RSV* 감염증의 예후를 직접적으로 분석하지는 않았다. 그러나, 과거의 연구에서 9년의 유행기 동안(1990~1999년) 분리된 바이러스 아형 및 유전형이 *RSV* 감염증의 예후와 직접적으로 연관되지 않았다²⁶.

이 연구에서 분석된 대부분의 바이러스가 본 연구의 대상 환자에서 분리되었으므로 바이러스 아형이나 유전형의 차이가 *RSV* 감염증의 예후와 연관되지 않다고 간접적으로 해석할 수 있을 것으로 생각된다. 반면에, 본 연구는 환자의 환경적인 요인과 바이러스 농도 정량을 분석하지 못한 제한점을 지니고 있다.

환자 대조군 연구로서의 연구 방법 및 결과 해석에 있어서 제한점 또한 크게 두 가지로 요약할 수 있다. 첫째, 환자 대조군 연구는 원칙적으로 검증하고자 하는 인자 이외에는 모두 동일한 요소를 가지는 집단을 선정하는 것이 바람직하다. 하지만, 본 연구의 대조군은 모두 성인으로 환자군이 어린 소아인 점을 고려하였을 때 연령의 분포에 큰 차이를 보이고 있다. 둘째, 대조군 역시 소아기에 1회 이상의 *RSV* 감염증을 앓았을 것이며, 일부는 심한 *RSV* 감염증이 있었을 것으로 추측되나, 성인을 대상으로 어린 영아기 때의 호흡기 질환을 후향적으로 분석하는 것은 회상 치우침(recall bias)으로 신뢰할 수 없다. 즉, 이러한 두 가지 인자는 본 연구의 결과에 교란 변수로 작용하여 결과에 영향을 미칠 수 있음을 고려하여야 하겠다.

이 연구가 비교하고자 하는 유전자형 이외에 환경, 연령, 및 성별 등이 모두 일치한 정상 대조군을 사용하지 못하였으며 특히, 성인과 소아로 연령에 차이를 보이는 두 군을 비교하였다는 점이 가장 두드러진 제한점이라고 볼 수 있다. 그러나, 유전적 연구가 인간의 수명을 결정하거나 생명에 큰 위협을 주는 유전자로 확인된 특정 유전자의 빈도를 비교하지 않는다면, 대부분의 유전자가 나이나 성별에 따라서 변화할 가능성이 매우 적기 때문에 환자 대조군 연구에서 나이나 성별을 일치시켜야 할 필요성은 환경과 인종을 일치시켜야 할 필요성에 비하여 그 중요성이 상대적으로 덜 강조된다²⁷.

결론적으로, 본 연구는 *MBL2* 유전자의 다형성과 일배체형이 한국인 소아의 심한 *RSV* 감염증에 기여하는 예후 인자임을 증명하지 못하였지만, 본 연구에 포함된 환자의 수, 대조군의 적절성 등을 고려할 때, 이러한 결과가 *MBL2*와 *RSV* 감염증의 연관성이 전혀 없다고 결론 내리기는 아직 미흡하다. 따라서, 향후 전향적으로 수집한 더 많은 수의 환

자군과 적절한 대조군을 통한 연구의 뒷받침이 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

목 적 : 본 연구는 어린 연령의 소아에서 선천성 면역력의 중요한 인자인 Mannose Binding Lectin (*MBL2*) 유전자의 다형성 및 일배체형의 분포를 심한 respiratory syncytial virus(RSV) 감염증 환자군과 정상대조군에서 분석함으로써, *MBL2* 유전자의 다양성이 소아 RSV 감염증의 발생과 예후에 기여하는지를 밝히고자 하였다.

방 법 : 1993년부터 2000년까지 7년 동안 서울대학교 어린이병원 소아과에서 RSV 감염증으로 치료 받은 심한 RSV 감염증 환자 99명을 환자군, 건강한 성인 224명을 대조군으로 선정하였다. 유전형 분석은 선천성 면역의 중추적 역할을 하는 *MBL2* 유전자의 promoter -221 X/Y와 exon 1의 구조 변이의 분포를 환자대조군에서 비교하여 분석하였다.

결 과 : 환자군 99명의 중앙 연령은 9.5개월로, 6개월 미만 48명(49%), 6~24개월 사이 39명(39%), 그리고 24개월 이상이 12명(12%)이었다. 남아는 58명(59%)이었다. 환자군에서 *MBL2* 대립유전자 B 다형성의 빈도는 유전형 AA 60(61%), 이형접합 AB 34(34%), 그리고 유전형 BB 5(5%)로 나타났다. 환자군의 promoter -221 X/Y 유전형의 분포는 유전형 YY 84(85%), 이형접합 XY 15(15%)이었으며, 유전형 XX는 발견되지 않았다. Exon 1의 구조 변이와 promoter 변이 모두 환자군과 대조군간에 차이가 없었다. *MBL2* 일배체형의 분포에도 두 군간에 차이가 없었다.

결 론 : 본 연구 결과, 한국인 소아에서 *MBL2* 유전자의 다형성과 일배체형이 심한 RSV 감염증에 기여하는 예후 인자임을 밝히지 못하였다. 향후 전향적으로 수집한 더 많은 수의 환자군과 적절한 대조군을 통한 연구가 시행되어야 할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1) Collins PL, Chanock RM, Murphy BR. Respira-

tory syncytial virus. In : Knipe DM, Howley PM, Griffin D, editors. Fields Virology. 4th ed. Philadelphia : Lippincott-Raven, 2001:1443-86.

2) Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. Am J Dis Child 1986;140:543-6.

3) Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Taussig LM, Halonen M. Differential immune responses to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. J Allergy Clin Immunol 1998;102:915-20.

4) Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. Nat Immunol 2006;7:131-7.

5) Koch A, Melbye M, Sorensen P, Homoe P, Madsen HO, Molbak K, et al. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. JAMA 2001;285:1318-21.

6) Harris J, Werling D. Binding and entry of respiratory syncytial virus into host cells and initiation of the innate immune response. Cell Microbiol 2003;5:671-80.

7) Barr FE, Pedigo H, Johnson TR, Shepherd VL. Surfactant protein-A enhances uptake of respiratory syncytial virus by monocytes and U937 macrophages. Am J Respir Cell Mol Biol 2000;23:586-92.

8) Garred P, Madsen HO, Hofmann B, Svejgaard A. Increased frequency of homozygosity of abnormal mannan-binding-protein alleles in patients with suspected immunodeficiency. Lancet 1995;346:941-43.

9) Garred P, Madsen HO, Svejgaard A. Genetics of human mannan-binding protein. In : Ezekowitz RAB, Sastry K, Reid KBM, eds. Collectins and innate immunity, Austin, USA : RG Landes, 1996:139-64.

10) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988;16:1215.

11) Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new sta-

- tistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001; 68:978-89.
- 12) Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Parrott RH. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. I. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* 1973;98:216-25.
 - 13) Choi EH, Lee HJ, Yoo T, Chanock SJ. A common haplotype of interleukin-4(IL4) gene is associated with severe respiratory syncytial virus disease in Korean children. *J Infect Dis* 2002;186:1207-11.
 - 14) Hoebee B, Rietveld E, Bont L, Oosten M, Houdemaekers HM, Nagelkerke NJ, et al. Association of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis with interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha polymorphisms. *J Infect Dis* 2003;187:2-11.
 - 15) Hull J, Ackerman H, Isles K, Usen S, Pinder M, Thomson A, et al. Unusual haplotypic structure of IL8, a susceptibility locus for a common respiratory virus. *Am J Hum Genet* 2001;69:413-9.
 - 16) Wilson J, Rowlands K, Rockett K, Moore C, Lockhart E, Sharland M, et al. Genetic variation at the IL10 gene locus is associated with severity of respiratory syncytial virus bronchiolitis *J Infect Dis* 2005;191:1705-9.
 - 17) Lofgren J, Ramet M, Renko M, Marttila R, Hallman M. Association between surfactant protein A gene locus and severe respiratory syncytial virus infection in infants. *J Infect Dis* 2002;185:283-9.
 - 18) DiAngelo S, Lin Z, Wang G, Philips S, Ramet M, Luo J, et al. Novel, non-radioactive, simple and multiplex PCR-cRFLP methods for genotyping human SP-A and SP-D marker alleles. *Dis Markers* 1999;15:269-81.
 - 19) Eggleton P, Reid K. Lung surfactant proteins involved in innate immunity. *Cur Opin Immunol* 1999;11:28-33.
 - 20) Floros J, Hoover GG. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D. *BBA* 1998; 1408:312-22.
 - 21) Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Sveigaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and south America. *J Immunol* 1998;161:3169-75.
 - 22) McConnochie KM, Hall CB, Walsh EE, Roghmann KJ. Variation in severity of respiratory syncytial virus infections with subtype. *J Pediatr* 1990;117:52-62.
 - 23) Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. *J Infect Dis* 1997;175:81-20.
 - 24) Hall CB, Walsh EE, Schnabel KC, Long CE, McConnochie KM, Hildreth SW, et al. Occurrence of group A and B of respiratory syncytial virus over 15 years : associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J Infect Dis* 1990;162: 1283-90.
 - 25) McIntosh ED, De Silva LM, Oates RK. Clinical severity of respiratory syncytial virus group A and B infection in Sydney, Australia. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:815-9.
 - 26) Choi EH, Lee HJ. Genetic diversity and molecular epidemiology of the G protein of subgroups A and B of respiratory syncytial viruses isolated over 9 consecutive epidemics in Korea. *J Infect Dis* 2000;181:1547-56.
 - 27) Segal S, Hill AV. Genetic susceptibility to infectious disease. *Trends Microbiol* 2003;11:445-8.