

## NRAMP1 유전자 다형성과 폐결핵의 감수성과의 관계

<sup>1</sup>부산대학교 의과대학 내과학교실, <sup>2</sup>흉부외과학교실, <sup>3</sup>국립마산병원

이지석<sup>1</sup>, 조진훈<sup>1</sup>, 김기욱<sup>1</sup>, 박혜경<sup>1</sup>, 김윤성<sup>1</sup>, 이호석<sup>2</sup>, 김영대<sup>2</sup>, 전두수<sup>3</sup>, 박승규<sup>3</sup>, 이민기<sup>1</sup>, 박순규<sup>1</sup>

### Relations between Polymorphism of NRAMP1 Gene and Susceptibility to Pulmonary Tuberculosis

Ji Seok Lee, M.D.<sup>1</sup>, Jin Hoon Cho, M.D.<sup>1</sup>, Ki Uk Kim, M.D.<sup>1</sup>, Hye-Kyung Park, M.D.<sup>1</sup>, Yun Seong Kim, M.D.<sup>1</sup>, Ho Seok Lee, M.D.<sup>2</sup>, Young Dae Kim, M.D.<sup>2</sup>, Doo Soo Jeon, M.D.<sup>3</sup>, Seung Kyu Park, M.D.<sup>3</sup>, Min Ki Lee, M.D.<sup>1</sup>, Soon Kew Park, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departments of Internal Medicine and <sup>2</sup>Thoracic Surgery, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea,

<sup>3</sup>Masan National Hospital, Masan, Korea

**Background:** Several lines of evidence suggest that a host's genetic factors influence the outcome of exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. The aim of this study was to determine whether polymorphism in NRAMP1 (natural resistance associated macrophage protein 1) gene is associated with the susceptibility or resistance to tuberculosis infection for patients with drug-sensitive pulmonary tuberculosis (DS-TB) and multi-drug resistant pulmonary tuberculosis (MDR-TB).

**Methods:** Eight genetic polymorphisms of the NRAMP1 gene were investigated in patients suffering with DS-TB (n=100) or MDR-TB (n=102), and in healthy normal controls (NC, n=96). The genetic polymorphisms of NRAMP1 were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

**Results:** The frequency of D543N A/G heterozygotes was significantly higher in the DS-TB subjects than the NCs (OR=2.10, 95% CI: 1.00 to 4.41, p=0.049). The frequency of 823C/T T/C heterozygotes was significantly higher in the DS-TB subjects (OR=2.79, 95% CI: 1.11 to 7.04, p=0.029) and the MDR-TB subject (OR=3.30, 95% CI 1.33 to 8.18, p=0.010) than in the NCs. However, the frequency of these genotypes was not different between the DS-TB and MDR-TB subjects.

**Conclusion:** A significant association was found between NRAMP1 823 C/T polymorphism and pulmonary tuberculosis. This result suggests that NRAMP1 polymorphism may be involved in the development of pulmonary tuberculosis in Koreans. (*Tuberc Respir Dis* 2007; 62: 492-498)

**Key words:** NRAMP1, Polymorphism, Tuberculosis.

## 서론

결핵은 진단기법이나 치료에 있어서 많은 발전을 이루면서 환자가 처방된 약제를 복용한다면 거의 95% 이상에서 치유할 수 있는 여건이 되었다. 그러나 이러한 발전에도 불구하고 전 세계적으로 지난 수년간 결핵 신환자의 수는 점차 증가하는 추세이다<sup>1</sup>. 전 인류의 약 1/3에서 결핵균(*Mycobacterium tuber-*

*culosis*)에 감염되지만 그 중 약 10%만이 임상적 질환으로 발병한다고 알려져 있으며<sup>2</sup>, 결핵균 감염자 중 일부만이 임상적인 질환으로 발병하는 것은 숙주의 유전적 인자가 관여하기 때문으로 생각된다<sup>3,4</sup>. 이러한 숙주 반응은 결핵에 대한 선천적 내성과 bacille Calmette Guérin(BCG) 접종과 같은 획득 면역으로 결정된다. 이 중 선천적 내성은 결핵균에 대한 감수성을 결정하는 유전적 요인으로 이에 기여하는 유전자 및 단백질 등의 발현에 대한 연구는 결핵균에 대한 인체 방어기전을 이해하고, 결핵을 예방하고 치료하는데 있어서 유용한 정보를 제공할 것으로 인식되고 있다. 실제로 백서를 이용한 동물 실험에서 결핵균을 포함하는 몇몇 세포내 병원체에 대한 감수성 및 내성이 1번 염색체에 존재하는 Bcg 유전자에 의해 조절되는 것으로 밝혀졌다<sup>5-7</sup>. 이후 Vidal 등<sup>8</sup>은 Bcg에 대한 후보 유전자를 유전자 클로닝(cloning) 방법을 이용하여

\* 본 연구는 부산대학교 자유과제 학술 연구비(2년)의 지원으로 연구되었음

Address for correspondence: Min Ki Lee, MD.  
Departments of Internal Medicine, College of Medicine,  
Pusan National University, 1-10 Ami-dong, Suh-gu,  
Busan 602-739, Korea  
Phone: 82-51-240-7216, Fax: 82-51-254-3127  
E-mail: leemk@pusan.ac.kr  
Received: Apr. 20. 2007  
Accepted: May. 28. 2007

분리하고, 이를 natural resistance associated macrophage protein 1(*Nramp1*)으로 명명하였으며, 이 유전자로부터 합성되는 *Nramp1* 단백질의 기능에 이상이 있는 경우 결핵균과 같은 세포내 병원균에 대한 감수성이 증가하는 것으로 보고하였다.

한편 Cellier 등<sup>9</sup>은 인간의 염색체 2q35에서 16개의 액손(axon)으로 구성된 백서 *Nramp1* 유전자와 상동체인 *NRAMP1* 유전자를 밝혀내었으며, Liu 등<sup>10</sup>은 이 유전자에는 약 9가지의 유전자 다형성(genetic polymorphism)이 존재하며, 이러한 다형성은 이 유전자에 의해 합성되는 *NRAMP1* 단백질의 합성 또는 기능에 이상을 초래하여 결핵균에 대한 감수성을 증가시킬 수 있음을 보고하였다. 또한, Bellamy 등<sup>11</sup>은 서아프리카 지역의 폐결핵 환자에서 이 유전자 다형성이 결핵의 감수성과 관련성이 있음을 보고하였다.

결핵은 발병 뿐 만 아니라 치료에 대한 반응과 경과에도 숙주의 유전적 요인이 관여할 가능성이 존재한다고 알려져 있으며, 특히 다제내성결핵은 부적절한 치료와 순응도 부족으로 인한 획득 내성이 주요 원인으로 알려져 있지만 숙주에 침입한 결핵균을 적절히 제거하지 못하는 유전적 소인이 관여할 가능성도 제기되고 있다<sup>12</sup>. 최근에 재치료균과 치료실패균에서 보다 더 강한 연관 관계를 보이는 유전자<sup>13,14</sup>와 다제내성 폐결핵과 연관된 유전자<sup>12,15</sup>에 대한 보고가 있었다.

이에 본 연구에서는 *NRAMP1* 유전자 다형성이 폐결핵의 발생에 미치는 영향을 평가하기 위해 한 삼차병원과 결핵전문병원의 결핵 환자를 대상으로 다형성의 빈도를 확인하였으며, 약제내성 유무와의 관계를 알아보기 위해 약제감수성 및 다제내성 폐결핵 환자로 나누어서 다형성의 빈도를 비교하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

2002년 5월부터 2004년 6월까지 부산대학교병원과 국립마산병원을 내원하여 폐결핵으로 진단된 202명을 환자군으로 하였고, 동일 기간에 부산대학교병원

건강검진센터를 방문한 사람 중 폐결핵의 과거력이 없고 흉부 X-선상 정상소견을 보이며 다른 동반된 질환이 없는 성인 96명을 대조군으로 하였다.

폐결핵은 세균학적, 임상적 기준을 이용하여 진단하였다. 세균학적 기준은 결핵균 배양검사서 양성을 보이는 경우로 하였고, 임상적 진단기준은 폐결핵을 시사하는 증상(기침, 객담, 발열, 발한, 체중감소 등)이 있으면서 흉부 X-선이나 고해상도 흉부전산화단층촬영에서 활동성 폐결핵에 합당한 소견이 있으면서 항결핵제 투여 후 임상적, 방사선학적 호전을 보이는 경우로 하였다. 약제감수성검사 결과에 따라 약제감수성균과 다제내성균으로 구분하였으며, 다제내성균은 약제감수성검사 결과에 의해 최소 isoniazid와 rifampicin에 동시 내성을 보이는 경우로 하였다. 약제감수성검사를 시행하지 않았거나 배양음성으로 약제감수성검사를 시행할 수 없었던 경우는 초치료 환자로서 단기표준요법으로 치료를 종결한 경우에만 약제감수성균에 포함시켰다. 이 연구는 부산대학교병원 임상시험위원회의 승인을 받았으며, 참여하는 환자로부터 고지된 승낙을 얻어 시행하였다.

### 2. 방 법

#### 1) Genomic DNA의 추출

환자군과 대조군의 상완정맥에서 전혈 3 mL를 EDTA가 함유된 시험관에 채혈하여 실온에서 2,500 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층의 연막(buffy coat)을 생리식염수에 희석한 뒤 Ficoll-Paque<sup>TM</sup> PLUS (Amersham Biosciences, Sweden)에 중층시켜 2,500 rpm으로 20분간 원심 분리하여 림프구를 분리하였다. 분리된 림프구는 DNA를 추출하기 전까지 -20℃에 보관하였다.

DNA 추출은 Wizard<sup>®</sup> Genomic DNA Purification Kit (Promega Co, Madison, USA)를 이용하였다. 림프구를 진탕하여 재부유시킨 뒤 핵용해완충액 300  $\mu$ l를 첨가한 다음 단백질 침전용액 100  $\mu$ l를 넣어서 강하게 진탕한 후 12,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 회수한 상층액에 isopropanol 300  $\mu$ l를 첨가하여 섞은 뒤 원심분리하여 얻어진 DNA 압착 결정에 70%

**Table 1. Identification of *NRAMP1* polymorphisms**

Name	Primers
274C/T	F TGC CAC CAT CCC TAT ACC CAG
	R TCT CGA AAG TGT CCC ACT CAG
469+14G/C	F TCTCTG GCT GAA GGC TCT CC
	R TGT GCT ATC TGA GCC TC
577-18G/A	F CTG GAC CAG GCT GGG CTG AC
	R CCA CCA CTC CCC TAT GAG GTG
823C/T	F CTT GTC CTG ACC AGG CTC CT
	R CAT GGC TCC GAC TGA GTG AG
A318V	F TCC TTG ATC TTC GTA GTC TC
	R GGC TTA CAG GAC ATG AGT AC
1465-85G/A	F GCA AGT TGA GGA GCC AAG AC
	R ACC TGC ATC AAC TCC TCT TC
D543N	F GCA TCT CCC CAA TTC ATG GT
	R AAC TGT CCC ACT CTA TCC TG
1729+55del4	F GCA TCT CCC CAA TTC ATG GT
	R AAC TGT CCC ACT CTA TCC TG

에탄올 1 mL를 주입하여 세척 후 멸균된 증류수에 녹여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)에 사용하기 전까지 -20°C에 보관하였다.

2) *NRAMP1* genotyping

*NRAMP1* 유전자 다형성은 기존에 보고된 8개의 유전자형에 대해 추출된 DNA를 중합효소연쇄반응(PCR)과 중합효소연쇄반응-제한분절길이 다형성법(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)을 이용하여 결정하였다. 각 시발체들은 기존에 보고된 염기서열을 이용하여 제작하였다(Table 1).

PCR 반응은 AccuPower® PCR PreMix(Bioneer Co. Seoul, Korea)에 DNA 0.5 µg, 시발체(primer) 각각 10 pmol, 그리고 증류수로 최종 20 µl를 맞춘 후 274C/T, A318V, D543N 그리고 1729+55del4의 경우는 94°C에서 5분간 반응시킨 후 변성반응은 94°C에서 1분, 결합반응은 55°C에서 1분, 연장반응은 72°C에서 1분씩 반복적으로 35회전을 실행하여 72°C에서 7분간 반응시켰다. 469+14G/C는 94°C에서 1분, 60°C에서 1

분, 72°C에서 1분을 반응시켰으며, 577-18G/A와 823C/T는 94°C에서 30초, 65°C에서 30초, 72°C에서 30초를, 1465-85G/A는 94°C에서 30초, 61°C에서 30초, 72°C에서 30초로 하고 기타 조건은 274C/T와 동일하였다.

PCR 산물에 각각의 다형성 확인을 위해 제한효소 2 unit를 넣어 반응시킨 후 469+14G/C와 1729+55del4는 3% agarose gel에서 274C/T, 577-18G/A, 823C/T, A318V, 1465-85G/A 그리고 D543N은 7.5% polyacrylamide gel에서 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 조사기에서 결과를 확인하였다.

3. 통계분석

각 군의 *NRAMP1* 유전자형과 각 대립형질의 빈도는 카이제곱 검정(Chi-square test)을 통해 분석하였고, p 값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다. 통계학적 의미가 있는 유전자형에 대해 위험도를 교차비(odds ratio, OR)와 95% 신뢰구간(confidence interval, CI)으로 표현하였다. 모든 통계분석은 SPSS for Windows 13.0 (SPSS Inc. Chicago, USA)을 이용하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특성

약제감수성균은 100명으로 90명은 결핵균 배양검사에서 양성(이 중 54명은 항산균 도말검사상 양성)이었고 10명은 임상적 기준으로 진단되었으며, 다제

**Table 2. Demographic characteristics of subjects**

	Normal Control	DS-TB	MDR-TB
No. of cases	96	100	102
Sex (M:F)	1 : 1	1 : 1	2.4 : 1
Age*	50.0 ± 8.9	40.4 ± 16.9	44.0 ± 15.7

DS-TBL: Drug sensitive tuberculosis; MDR-TB: Multi-drug resistant tuberculosis.

\*Data are Mean ± standard deviation.

내성균은 102명이었고 모두 도말 및 배양검사에서 양성이었다.

건강 대조군, 약제감수성균, 다제내성균의 남녀 비는 각각 1:1, 1:1, 2.4:1이었으며, 평균연령(연령분포)은 각각 50.0(15-59)세, 40.4(15-79)세, 44.0(21-91)세였으며 연령에 따른 차이는 관찰되지 않았다(Table 2).

## 2. 건강대조군과 약제감수성균에서 *NRAMP1* 유전자 다형성의 빈도

*NRAMP1* 유전자의 D543N 유전형의 경우 G/G 동형접합체의 빈도가 약제감수성균에서 75%, 건강 대

조군에서 85.4%였고, A/G 이형접합체의 빈도는 약제감수성균에서 25%, 건강대조군에서 13.5%로 약제감수성균에서 높았다(OR=2.10, 95% CI=1.00 to 4.41, p=0.049). 823C/T 유전자형의 경우 C/C 동형접합체의 빈도가 약제감수성균에서 81%, 건강대조군에서 91.7%였고, T/C 이형접합체의 빈도는 약제감수성균에서 18%, 건강대조군에서 7.3%로 약제감수성균에서 높은 빈도를 보였다(OR=2.79, 95% CI=1.11 to 7.04, p=0.029).

그러나 *NRAMP1* 유전자의 1729+55del4, 274C/T, 469+14G/C, 577-18G/A, 1465-85G/A, A318V 유전형의 빈도는 건강대조군과 약제감수성균에서 유의한 차

Table 3. Genotype frequencies of *NRAMP1*

Polymorphism	Genotype	Number of subject (%)			p value and OR(95% CI)		
		NC (n=96)	DS-Tb (n=100)	MDR-Tb (n=102)	NC vs DS-Tb	NC vs MDR-Tb	DS-Tb vs MDR-Tb
D543N	G/G	82(85.4)	75(75)	82(80.4)	0.049 2.10(1.00 - 4.41)	NS	NS
	A/G	13(13.5)	25(25)	18(18.7)			
	A/A	1(1)	0	2(2)			
1729+55del4	(+)TG TG	80(83.3)	74(74)	81(79.4)	NS	NS	NS
	(±)TG TG	15(15.6)	26(26)	19(18.6)			
	(-)TG TG	1(1)	0	2(2)			
274C/T	C/C	60(62.5)	72(72)	67(65.7)	NS	NS	NS
	T/C	32(33.3)	28(28)	29(28.4)			
	T/T	4(4.2)	0	6(5.9)			
469+14G/C	G/G	62(64.6)	72(72)	68(66.7)	NS	NS	NS
	G/C	30(31.3)	28(28)	28(27.5)			
	C/C	4(4.2)	0	6(5.9)			
577-18G/A	G/G	86(89.6)	95(95)	95(93.1)	NS	NS	NS
	A/G	8(8.3)	5(5)	7(6.9)			
	A/A	2(2.1)	0	0			
0823C/T	C/C	88(91.7)	81(81)	80(78.4)	0.029 2.79(1.11 - 7.04)	0.010 3.30(1.33 - 8.18)	NS
	T/C	7(7.3)	18(18)	21(20.6)			
	T/T	1(1)	1(1)	1(1)			
1465-85G/A	G/G	44(45.8)	41(41)	53(52)	NS	NS	NS
	A/G	44(45.8)	47(47)	37(36.3)			
	A/A	8(8.3)	12(12)	12(11.8)			
A318V	Ala	96(100)	100(100)	102(100)	NS	NS	NS
	Val,Ala	0	0	0			
	Val	0	0	0			

NC: Normal control; DS-Tb: Drug sensitive tuberculosis; MDR-Tb: Multi drug resistance tuberculosis; OR: Odds ratio; CI: Confidence interval. NS: Not significant p>0.05.

이를 보이지 않았다(Table 3).

### 3. 건강대조군과 다제내성군에서 *NRAMP1* 유전자 다형성의 빈도

*NRAMP1* 유전자의 823C/T 유전형의 경우 C/C 동형접합체의 빈도가 다제내성군에서 78.4%, 건강대조군에서 91.7%였고, T/C 이형접합체의 빈도는 다제내성군에서 20.6%, 건강대조군에서 7.3%로 두 군 사이에 유의한 차이가 있었다(OR=3.30, 95% CI=1.33 to 8.18, p=0.010).

그러나 *NRAMP1* 유전자의 D543N, 1729+55del4, 274C/T, 469+14G/C, 577-18G/A, 1465-85G/A, A318V 유전형의 빈도는 건강대조군과 다제내성군에서 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

### 4. 약제감수성군과 다제내성군에서 *NRAMP1* 유전자 다형성의 빈도

*NRAMP1* 유전자의 D543N, 823C/T, 1729+55del4, 274C/T, 469+14G/C, 577-18G/A, 1465-85G/A, A318V 유전형의 빈도는 약제감수성군과 다제내성군에서 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

## 고 찰

결핵의 감수성에 관여하는 숙주의 유전인자를 밝히려는 연구는 결핵 발병 기전을 더 잘 이해할 수 있게 하고 이를 바탕으로 새로운 치료법과 예방법을 고안할 수 있다는 점에서 중요하다. 숙주의 유전인자와 결핵의 감수성의 관련성을 보여주는 근거로 일란성 쌍생아에서 이란성 쌍생아에 비해 결핵 발병 일치율이 일관되게 높았으며<sup>16,17</sup> 인종간 결핵 발병률에 차이가 있다는 보고<sup>18</sup>가 있다.

결핵균 감염에 대한 초기 방어는 폐포에 존재하는 대식 세포(alveolar macrophage)들에 의하여 이루어진다. 이러한 대식 세포의 기능에 이상이 발생하면 결핵균에 대한 선천적 감수성이 증가되는데, 그 간의 연구들에 의하면 결핵균에 대하여 선천적으로 감수성 및 내성을 갖는 백서로부터 얻은 대식세포에서 선천

적인 아포프토시스<sup>19</sup> 또는 항원 표현 능력(antigen presenting ability)의 차이가 보고된 바 있다<sup>20</sup>. 최근 특히 주목받고 있는 결핵균에 대한 숙주의 방어기전에 관한 연구는 탐식작용 후 포식소체-용해소체 결합체가 성숙될 때 중요한 역할을 하는 *NRAMP1* 단백질로 그 합성과 기능에 영향을 미치는 유전자 단계에서의 이상에 관심이 집중되고 있다<sup>21</sup>.

*NRAMP1* 단백질은 약 60kD 정도의 분자량을 가진 소수성 단백질로 *NRAMP1* 유전자로부터 만들어지며, 12개의 경막 영역(transmembrane domain)과 당화 세포외 고리(glycosylated extracellular loop)가 존재한다<sup>8</sup>. 동물을 이용한 in vitro 및 in vivo 연구에 의하면 *NRAMP1* 단백질은 대식 세포의 초기 활성화 과정에서 중요하고 다양한 영향을 나타내어 항암, 항균 작용을 조절하고 또한 대식 세포의 막 운반 과정에 있어서 중요한 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 이들 작용 중 특히 주요한 기능 중의 하나는 감염 초기에 대식 세포 세포질 내의 아질산염(nitrite)을 보다 산성인 포식용해소체로 이동시켜 산화질소(nitric oxide)를 생성하는 것으로 이 기능에 이상이 발생하면 결핵균과 같은 세포내 병원균에 대한 감수성이 증가하게 된다<sup>22</sup>.

*NRAMP1* 단백질은 포식용해소체 내부로부터 2가 양이온을 제거하여 superoxide dismutase의 작용을 억제하여 결핵균을 사멸시키는데 중요한 역할을 한다. 그리고 포식용해소체에 직접 또는 간접적으로 영향을 미쳐 고도의 살균성을 갖도록 성숙시킨다<sup>23,24</sup>.

*NRAMP1* 단백을 합성하는 인간의 *NRAMP1* 유전자 다형성은 현재까지 9가지 정도가 보고되고 있다<sup>10</sup>. 결핵균의 감염과 이에 따른 결핵의 발병과 유전자 다형성의 상관관계에 대한 임상 연구들을 살펴보면 아직까지 *NRAMP1* 유전자 다형성과 결핵 발병간의 임상적인 상호 관계는 명확치 않다. Shaw 등<sup>25</sup>과 Blackwell<sup>26</sup>은 브라질의 가족 집단을 대상으로 행한 대규모의 유전학적 역학 연구에서 *NRAMP1* 유전자가 결핵의 발병에 영향을 주는 주된 후보 유전자는 아닌 것으로 보고하였고, Huang 등<sup>27</sup>도 *Mycobacterium avium-intracellulare*에 의한 폐 질환에서 *NRAMP1* 유전자 다형성과 이 균에 의한 감염증의 발생에 연관

성이 없다고 주장하였다. 그러나 서아프리카 지역의 폐결핵 환자들을 대상으로 시행한 연구에서는 촉진자 (promotor) 부위의 (CA)<sub>n</sub> microsatellite 반복의 수 변화(5'(CA)<sub>n</sub>), 4번 인트론의 G/C 치환(469+14G/C, INT4), 543 코돈의 아스파르테이트(aspartic acid)에서 아스파라긴(asparagine)으로의 변이(D543N), 3' 비해독지역(untranslated region)의 TGTG 결손(1729+55del4, 3'UTR) 등의 다형들이 건강대조군에 비하여 결핵환자군에서 의미 있게 높은 빈도로 나타남을 관찰함으로써, 이들 유전자 다형성과 결핵에 대한 선천적 감수성과의 밀접한 상관관계를 보고한 바 있는데<sup>11</sup>, 본 실험에서도 약제감수성군에서 *NRAMP1* 유전자 중 D543N 유전자 다형성은 건강대조군에 비해 의미 있는 차이를 보여 서아프리카의 연구와 유사한 결과를 보여주었으나, 469+14G/C와 1729+55del4 유전자 다형성은 차이를 보이지 않아 유전적 변이가 인종간에 차이가 있음을 보여준다. 또한, 본 실험에서는 이전의 연구들에서 조사하지 않았던 823C/T 유전자의 다형성이 약제감수성군에서 의미 있는 차이를 보였다. 본 연구에서 다제내성군에서도 정상대조군에 비해 823C/T 유전자의 다형성이 의미 있는 차이를 보여주었으며, 약제감수성군과 다제내성군 사이에서는 유전자 다형성의 빈도의 차이를 보이지 않아 *NRAMP1* 유전자와 약제 내성의 발생과는 관련성이 없을 것으로 추정할 수 있다. 본 연구에서 823C/T 유전자 다형성은 약제감수성군과 다제내성군 모두에서 결핵 발병 감수성과 관련이 있을 것으로 추정되며, 추후 더 많은 우리나라 정상 인구에서 *NRAMP1* 유전자 다형성의 빈도를 조사하고 더 많은 결핵 환자를 대상으로 한 검사가 진행되면 결핵 발병과의 관계를 규명하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구에서 *NRAMP1* 유전자 중 823C/T 변이가 폐결핵의 발생과 유의한 상관성을 보여 *NRAMP1*이 폐결핵 발병에 대한 숙주의 감수성과 연관되는 후보유전자일 가능성이 있으며 약제내성 유무와는 관계가 없었다. 이러한 결과가 한국인의 유전적 감수성을 반영하는 것인지에 대해 향후 대규모 연구를 통한 검증이 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

**연구배경:** 결핵균에 노출된 후 임상적 결핵으로 발병하는데 유전적 인자가 관여할 수 있으며, 치료 반응에도 숙주의 유전적 요인이 관여할 가능성이 있다. 이에 저자들은 *NRAMP1* 유전자 다형성을 감수성결핵과 다제내성결핵환자로 나누어서 비교하였다.

**방 법:** 100명의 약제감수성군, 102명의 다제내성군, 96명의 건강대조군을 대상으로 274C/T, 469+14G/C, 577-18G/A, 823C/T, A318V, 1465-85G/A, D543N, 1729+55del4 의 *NRAMP1* 유전자 다형성의 빈도를 중합효소 연쇄반응기법과 중합효소 연쇄반응-제한분절길이 다형성법을 이용하여 분석하였다.

**결 과:** *NRAMP1* 유전자의 D543N 이형접합체의 빈도는 건강대조군에 비해 약제감수성군에서 높았으나(OR=2.10, 95% CI=1.00 to 4.41, p=0.049) 다제내성군에서는 차이가 없었다.

823C/T의 이형접합체의 빈도는 건강대조군에 비해 약제감수성군(OR=2.79, 95% CI=1.11 to 7.04, p=0.029)과 다제내성군 (OR=3.30, 95% CI=1.33 to 8.18, p=0.010)에서 유의하게 높았으나 약제감수성군과 다제내성군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

**결 론:** *NRAMP1* 유전자의 823C/T 이형접합체의 빈도는 약제감수성군과 다제내성군에서 유의하게 높아, 폐결핵의 발생과 연관되는 후보유전자일 가능성이 있으며 약제감수성결과에 따른 결핵이환에는 차이를 보이지 않았다.

## 참 고 문 헌

1. Murray JF. A century of tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med 2004;169:1181-6.
2. Murray CJ, Styblo K, Rouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. Bull Int Union Tuberc Lung Dis 1990;65:6-24.
3. Bellamy R. Genetic susceptibility to tuberculosis in human populations. Thorax 1998;53:588-93.
4. Marquet S, Schurr E. Genetics of susceptibility to infectious diseases: tuberculosis and leprosy as examples. Drug Metab Dispos 2001;29:479-83.
5. Schurr E, Buschman E, Malo D, Gros P, Skamene E.

- Immunogenetics of mycobacterial infections: mouse-human homologies. *J Infect Dis* 1990;161:634-9.
6. Plant J, Glynn AA. Genetics of resistance to infection with *Salmonella typhimurium* in mice. *J Infect Dis* 1976;133:72-8.
  7. Blackwell JM, Roach TI, Atkinson SE, Ajioka JW, Barton CH, Shaw MA. Genetic regulation of macrophage priming/activation: the *Lsh* gene story. *Immunol Lett* 1991;30:241-8.
  8. Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for *Bcg*. *Cell* 1993;73:469-85.
  9. Cellier M, Govoni G, Vidal S, Kwan T, Groulx N, Liu J, et al. Human natural resistance-associated macrophage protein: cDNA cloning, chromosomal mapping, genomic organization, and tissue-specific expression. *J Exp Med* 1994;180:1741-52.
  10. Liu J, Fujiwara TM, Buu NT, Sanchez FO, Cellier M, Paradis AJ, et al. Identification of polymorphism and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-associated macrophage protein gene. *Am J Hum Genet* 1995;56:845-53.
  11. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV. Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in west africans. *N Engl J Med* 1998;338:640-4.
  12. Kim HS, Park MH, Song EY, Park H, Kwon SY, Han SK, et al. Association of HLA-DR and HLA-DQ genes with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Koreans: preliminary evidence of associations with drug resistance, disease severity, and disease recurrence. *Hum Immunol* 2005;66:1074-81.
  13. 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.
  14. 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.
  15. Sharma SK, Turaga KK, Balamurugan A, Saha PK, Pandey RM, Jain NK, et al. Clinical and genetic risk factors for the development of multi-drug resistant tuberculosis in non-HIV infected patients at a tertiary care center in India: a case-control study. *Infect Genet Evol* 2003;3:183-8.
  16. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:621-4.
  17. Kallmann FJ, Reisner D. Twin studies on the significance of genetic factors in tuberculosis. *Am Rev Tuberc* 1942;47:549-74.
  18. Stead WW, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP. Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med* 1990;322:422-7.
  19. Rojas M, Barrera F, Puzo G, Garcia LF. Differential induction of apoptosis by virulent *Mycobacterium Tuberculosis* in resistant and susceptible murine macrophage. *J Immunol* 1997;159:1352-61.
  20. Xu DL, Goto Y, Endo F, Amoako KK, Shinjo T. The effect of *Bcg* gene on antigen presentation of spleen adherent cells and peritoneal macrophages from *Mycobacterium bovis* BCG-infected *Bcg<sup>+</sup>* and *Bcg<sup>-</sup>* mice. *Vet Microbiol* 1997;59:67-78.
  21. Gruenheid S, Pinner E, Desjardins M, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: The *Nramp1* protein is recruited to the membrane of the phagosome. *J Exp Med* 1997;185:717-30.
  22. Blackwell JM, Searle S. Genetic regulation of macrophage activation: understanding the function of *NRAMP1*(=*Ity/Lsh/Bcg*). *Immun Letter* 1999;65:73-80.
  23. Govoni G, Gros P. Macrophage *NRAMP1* and its role in resistance to microbial infections. *Inflamm Res* 1998;47:277-84.
  24. Deretic V, Fratti RA. *Mycobacterium tuberculosis* phagosome. *Mol Microbiol* 1999;31:1603-9.
  25. Shaw MA, Collins A, Peacock CS, Miller EN, Black GF, Sibthorpe D, et al. Evidence that genetic susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* in an Brazilian population is under oligogenic control: linkage study of the candidate gene *NRAMP1* and *TNFA*. *Tuber Lung Dis* 1997;78:35-45.
  26. Blackwell JM. Genetics of host resistance and susceptibility to intramacrophage pathogens: a study of multicausal families of tuberculosis, leprosy and leishmaniasis in north-eastern Brazil. *Int J Parasitol* 1998;28:21-8.
  27. Huang JH, Oefner PJ, Adi V, Ratnam K, Ruoss SJ, Trako E, et al. Analyses of the *NRAMP1* and *IFN- $\gamma$*  *R1* genes in women with *Mycobacterium avium-intracellulare* pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:377-81.