

한국인 기관지 천식 虛證, 實證 환자와 EDN1 유전자 다형성과의 상관성 연구

염유림¹, 김관일², 백현정¹, 김미아³, 이범준¹, 김진주⁴, 김수강⁵, 정주호⁵, 정희재¹, 정승기¹

¹경희대학교 대학원 임상한의학과, ²경희대학교 한방병원 한의약임상시험센터, ³경희대학교 한의과대학 중풍센터
⁴경희대학교 약학대학 한방생리학교실, ⁵경희대학교 의과대학 약리학교실

Association Study in Endothelin 1 (EDN1) Gene Polymorphism and Excess or Deficiency Syndrome in Korean Asthmatic Patients

Yu-rim Yoem¹, Kwan-il Kim², Hyun-jung Baek¹, Mi-a Kim³, Beom-joon Lee¹
Jin-ju Kim⁴, Su-kang Kim⁵, Joo-ho Chung⁵, Hee-jae Jung¹, Sung-ki Jung¹

¹Dept. of Clinical Korean Medicine, Graduate School, Kyung Hee University

²Korean Medicine Clinical Trial Center, Kyung-Hee University Korean Medicine Hospital

³Dept. of Cardiovascular and Neurologic Diseases (Stroke center), College of Korean Medicine, Kyung-Hee University

⁴Dept. of Oriental Physiology, College of Pharmacy, Kyung-Hee University

⁵Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Kyung-Hee University

ABSTRACT

Objectives: In the present study, a genetic analysis was conducted to investigate the association of the expression of SNPs of EDN1 gene polymorphism with the clinical phenotype in bronchial asthma patients with either excess or deficiency syndrome.

Methods: Ninety-four healthy control subjects and 52 asthma patients were included in this study. The asthma patients were divided into two groups: those with deficiency syndrome and those with excess syndrome. We searched the exonic and promoter areas of the EDN1 gene in the NCBI website SNPs with <0.01 minor allele frequency (MAF) and <0.01 heterozygosity. Pro programs were performed to obtain the odds ratio, 95% confidence interval, and p-value. Multiple logistic regression models were conducted to analyze the genetic data.

Results: In our genotype and allele analyses, there were significant differences in the codominant 2 model of the rs3087459 SNP genotype and also in the CGG haplotype between the control group and the asthma group. Genotype and allele analyses were conducted between the deficiency and excess syndrome group. There were significant differences in the dominant and log-additive model and also in the frequency of C-alleles of rs3087459 SNP genotype. There were significant differences in codominant 1, dominant and log-additive model and T-allele of rs5370 SNP genotype. The AGG haplotype also revealed significant differences.

Conclusions: EDN1 SNPs (rs3087459, rs5370) showed a significant association with symptomatic excess syndrome in Korean asthmatic patients.

Key words: EDN1, polymorphism, asthma, excess syndrome, deficiency syndrome

- 투고일: 2016.02.12, 심사일: 2016.03.24, 게재확정일: 2016.03.31
- 교신저자: 정승기 서울시 동대문구 경희대로 23
경희의료원 한방병원 한방폐장·호흡기내과 의사실
TEL: 02-958-9147 FAX: 02-958-9148
E-mail: jskes1@gmail.com
- 이 논문은 2015년도 경희대학교 대학원 한의학 박사학위 논문임.

1. 서론

기관지 천식(이하 천식)은 한의학에서는 효천증(哮喘證)에 해당되는 질환으로¹ 만성적인 알레르기

염증에 의해 가역적인 기도 폐쇄를 특징으로 하며 호흡곤란, 기침, 천명, 비특이적인 기관지과민증이 나타나는 질환으로 우리나라의 기관지천식 유병률은 2~13%로 추정된다².

한의학에서는 그 원인을 寒冷, 心因, 痰, 素因, 過敏反應, 肺臟 腎臟의 호흡기능 장애로 보고 있으며 병증의 경과는 만성적이며 병리학적으로 기도 개형을 유발하여 점진적으로 삶의 질을 떨어뜨리고 폐 기능을 악화시키는 질환이다¹. 치료는 환경 관리 및 회피요법, 약물요법, 흡입요법, 면역요법 등으로 그 목표는 최소량의 약제로 장기간 천식을 조절하는 것인데, 장기적인 약제사용의 부작용을 줄이기 위한 최소한의 약제사용과 더불어 예방(환경관리), 회피요법 등이 중요한 만큼 천식의 유전학적인 접근이 중요하다고 사료된다. 천식 발생에 있어 유전적인 요인이 있다는 것은 꽤 오래 전부터 알려진 사실이지만 명확하게 밝혀져 있지 않았으며, 최근에는 베타항진제, 항류코트리엔제, 스테로이드 등 천식치료제에 대한 치료효과가 유전자 다형성에 따라 달라질 수 있다는 보고들이 있다².

천식 외의 질환에서 유전자 다형성을 검사하여 치료약물을 적용하는 대표적인 예로는, 전이성 비소세포폐암 항암제인 이레사(Iressa)는 Epidermal Growth Factor Receptor(EGFR) SNP에 따라 약효가 달라지므로³ 이를 검사하여 처방을 하고 있는 경우, 유방암 환자의 20~30%에서 나타나는 Her2 유전자의 과 발현을 테스트하여 헤르셉틴(Herceptin)의 처방을 결정하는 경우⁴, 항 응고제의 일종인 와파린(warfarin)의 경우 그 부작용을 줄이기 위하여 Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9 (CYP2CP)의 유전자 다형성에 따라 환자를 감별하여 약물용량을 조정하는⁵ 사례 등이 있다. 이렇듯 질환에 사용되는 주요 의약품의 유효성이 모든 환자에게서 동일하게 나타나지 않는다는 보고들이 있어왔고³⁻⁵, 이로 인해 최근에는 개개인의 유전자 진단이 상용화될 단계에 접어들어, 여러 질환에 있

어 개인의 유전적 특징에 따른 맞춤형치료가 시도되게 되었다.

최근 천식에 관련한 임상 연구에는 Matera 등⁶이 Phosphodiesterase(PDE) inhibitors가 천식 치료의 초기에 시도되는 것이 효과적일 수 있다고 발표하였으며, Howrylak 등⁷은 소아 천식환자의 표현형과, 들이마시는 항염증 약제의 장기간에 걸친 임상적 반응을 분류하였다.

최근 천식에 관한 실험적 연구로는 Zhu 등⁵이 천식 상태에서 실험적으로 리노바이러스(rhinovirus)에 감염은 기관지 점막의 호중구 증가증을 감소시켰고, 단핵구와 대식세포의 침투가 보통의 경우보다 심해졌다고 발표하였으며, Mariñas-Pardo 등⁹은 실험적으로 만들어진 천식 쥐에 치료 목적으로 중간엽줄기 세포를 투여하는 것이 원치 않는 pro-remodeling 영향이 생기지 않았으며 기도의 과민반응과 수축 조직의 재형성을 개선시켰다고 발표하였다.

유전자 연구에는 Modena 등¹⁰이 천식의 지표물 질인 Fractional exhaled Nitric Oxide(FeNO)와 연관된 기관지 상피세포 유전자 발현이 천식유형을 구별할 수 있다고 발표하였고, 또한 Baines 등¹¹은 6가지 지표의 객담 유전자 발현의 특징은 천식 염증의 표현형을 식별할 수 있으므로 진단, 치료상에 유용하게 쓰일 수 있다고 주장하였다.

Endothelin(EDN)은 21개의 아미노산기를 가지고 있으며, EDN1, EDN2, EDN3의 isoform을 갖는다. EDN1은 혈관내피세포에서 생성되는 강력한 혈관수축제를 생성하는 단백질을 코딩하는 유전자로¹², 6p24.1에 위치하며(Fig. 1) 간과 위에서 발현한다. EDN1은 기본적으로 혈관내피세포에서 혈관의 수축을 담당하지만, Maemura 등¹³은 EDN1은 배아의 유전자가 주로 인두 아치의 상피와 중간엽과 큰 동맥의 내피 세포에서 발현되는 반면 EDN1의 mRNA는 성인 마우스의 폐에서 가장 많이 발현되었다고 발표하여 EDN1과 폐 관련 질환인 천식과의 연관성을 추정할 수 있었다. 또한 Melén 등¹⁴은 천식과 연관성이 있는 96가지의 유전자를 조사한

최근에는 한 사람의 DNA로부터 100만개의 유전변이형을 모두 밝혀낼 수 있는 SNP chip이 보편화되고 저렴한 비용으로 할 수 있는 대용량 염기서열 분석 기술이 상용화되어, 개개인의 유전 정보에 근거한 맞춤 의학 혹은 예방의학이 가능해져¹⁶ 유전체 분야에서 천식 치료의 돌파구를 모색하고자 하는 시도들이 나타나고 있다.

한의학 분야에서 천식과 유전자 다형성 관련 연구로는 황 등¹⁷이 한국인 천식환자와 Monocyte Chemoattractant Protein(MCP)-1의 두 가지 유전자 다형성에 관한 상관성을 보고하였고, 유 등¹⁸이 한국인 천식 환자의 Glutathione-S-Transferase(GST) 유전자 다형성과 한의학 허실변증과의 상관성을 알아보았으며, 이 등¹⁹은 역시 한국인 기관지 천식의 CD46 유전자 다형성과 虛實 辨證과의 관계를 보고하였다. 이는 韓醫學과 유전체 분석을 통한 질병 예측하고 치료하는 방법을 연결시키려는 시도

들로, 이번 연구에서도 韓醫學적 辨證 진단의 가장 기초라 할 수 있는 虛實 진단을 천식의 EDN1 유전자 다형성과 연계하여 살펴보았다.

虛證과 實證이라는 것은 환자의 처방을 결정하는 가장 근본적인 진단, 분류 방법으로 같은 질환 이더라도 환자 개개인의 상태에 따라 상이한 처방을 하게 되는 韓醫學의 성격을 반영한다. 이는 개개인의 유전자적 특성에 따라 다른 예방지도, 다른 치료약을 투약한다는 최근의 유전자 다형성 연구 방향과 일맥상통하는 것으로 유전자 연구를 통한 의학의 발전이 한의학과 연계될 수 있다는 점을 시사하는 것이라 할 수 있다. 이에 따라 본 연구에서는 천식 환자군 53명, 건강대조군 95명을 모집하고, 식품의약품 안전처에서 제시한 설문지를 이용하여^{20,21} (Table 1), 虛證群과 實證群으로 분류하여 EDN1의 유전자다형성과의 관계를 연구, 관찰하였다.

Table 1. Questionnaire, Classification Criteria of E.S Group and D.S Group

실증(實證, E.S)	허증(虛證, D.S)
1. 외감풍한(外感風寒) 1) 기침이 발작적으로 일어난다. 2) 가래가 묽다. 3) 가래가 백색이다. 4) 오한이 있다.* 5) 두통이 있다.* 6) 몸이 여기저기 아프다.* 7) 입이 마르거나 갈증이 없다.	1. 폐허(肺虛) 1) 기침이 발작적으로 일어난다. 2) 숨이 빠르고 급하다. 3) 말하는 것이 힘이 없다.* 4) 기침소리가 적으면서 낮은 소리가 난다.* 5) 낮에 땀을 많이 흘린다.* 6) 입이 마르다. 7) 얼굴이 약간 붉은색을 띤다. 8) 얼굴이 창백하고 기력이 없다.
2. 담습내성(痰濕內盛) 1) 담습(痰濕) (1) 기침이 발작적으로 일어난다. (2) 가래가 많다.* (3) 가래가 끈적끈적하다. (4) 가래를 뱉어도 상쾌하지가 않다.* (5) 가슴이 답답하다. (6) 속이 미식미식(매숙매숙)하다.* (7) 입맛이 없다.	2. 심신허손(心腎虛損) 1) 천식증상이 5년 이상 되었다. 2) 숨들이 쉬는 것이 짧고 어렵다.* 3) 움직이면 숨이 차는 증상이 심해진다.* 4) 평소 피곤함을 많이 느낀다. 5) 몸이 붓고나 소변이 자주 나온다. 6) 자고 난 후 식은땀을 흘린다.* 7) 손발이 차다. 8) 손바닥·발바닥 가슴부위가 화끈거리며 열이 난다.

2) 한담(寒痰)

- (1) 추운날씨나 찬바람을 쐬면 기침이 심해진다.
- (2) 가래가 묽다.
- (3) 가래가 백색이다.*
- (4) 가래에 거품이 많이 있다.
- (5) 가슴이 답답하다.
- (6) 얼굴빛이 어둡고 푸른빛이 돈다.*
- (7) 몸이 차며 따뜻한 물을 마시는 것을 좋아한다.*

3) 담열(痰熱)

- (1) 호흡이 빠르고 급하다.*
- (2) 기침소리가 높고 거칠다.
- (3) 가래가 끈적끈적하다.
- (4) 가래가 황색이다.*
- (5) 가슴이 답답하다.
- (6) 얼굴이 붉고 땀이 많이 난다.
- (7) 갈증이 있으며 물을 많이 마시고자한다.*

3. 상실하허(上實下虛)

- 1) 기침이 발작적으로 일어난다.
- 2) 가래가 많다.*
- 3) 움직이면 숨이 차는 증상이 심해진다.*
- 4) 허리가 아프거나 시리다.*
- 5) 손발이 차다.
- 6) 몸이 붓거나 소변이 자주 나온다.
- 7) 가슴이 두근두근하는 증상이 있다.
- 8) 오후에 광대뼈가 붉어지거나 또는 얼굴이 달아오른다.

E.S : excess syndrome, D.S : deficiency syndrome

II. 방 법

1. 연구 대상의 선정

1) 연구 대상

총 146명으로 그 중 건강 대조군 94명, 천식 환자군 52명을 대상으로 하였다. 건강 대조군은 건강한 성인 남녀로 천식의 소견이 없고 기타 질환이 없는 자를 선정하였다. 천식 환자군은 병력문진, 폐기능 검사를 시행하여 미국흉부학회(American Thoracic Society)의 진단기준²²⁾에 따라 선정하였다.

2) 제외 대상

폐절제술, 폐결핵, 중등도 이상 만성폐쇄성 폐질환, 악성종양으로 5년 내 폐 절제술, 방사선 요법 및 화학 요법을 받은 자, 심질환, 신장질환, 긴질환, 임신, 빈혈 등의 환자는 제외하였다.

3) 연구 시행

Helsinki 가이드라인에 따라 이루어졌으며, 경희대학교 한병병원(서울, 대한민국)의 임상시험위원회에 의해 승인과(KOMCGIRB-2013-06호) 연구 대상군의 서면 동의서를 받은 후 시행하였다.

2. 虛證群과 實證群의 분류

虛證群과 實證群은 한의 호흡기 전문의 3인과 함께 변증 설문지(Table 1)를 검토하여 진단 분류하였으며 그 결과 虛證群 24명, 實證群 28명이었다(Table 2).

천식 환자의 虛實 변증 분류에 사용된 설문지는 식품의약품 안전처에서 제시한 생약(한약)제제의 임상시험지침 항천식제제에 수록되어있으며, 實證은 外感風寒, 痰濕內盛(痰濕, 寒痰, 痰熱), 虛證은 肺虛, 心腎虛損, 上實下虛의 辨證으로 나누어 구분하였다. 虛證, 實證 분류기준표의 각 辨證 별 총점은 實證이 10점, 虛證은 11점으로 각 辨證은 5점 이상인 것만 인정되며 2개 이상인 경우 높은 점수를 받은 것을 선택하였고, 동점인 경우 가중치가 많은 辨證을 선택하였다(*는 2점에 해당 그 외는 1점).

Table 2. Characteristics of Subjects in This Study

	Normal	Asthma
Total numbers	94	52
Male/Female	48/46	19/33
Age (mean±SD, years)	44.3±2.8	47.4±13.7
D.S		24
E.S		28

D.S : deficiency syndrome

E.S : excess syndrome

3. SNP선택과 genotyping

본 연구에서는 EDN1 유전자의 단일염기 다형성의 연관성을 알아보기 위하여 엑손 SNP와 프로모터 SNP에 초점을 맞추었으며, NCBI 웹사이트에서 EDN1 유전자의 엑손과 프로모터 영역을 찾았다(www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP). EDN1 유전자의 코딩영역 중 SNP가 MAF(minor allele frequency) <0.01 그리고 heterozygosity<0.01인 것은 제외되었다. EDN1 유전자의 코딩영역에 있는 SNP들 중 rs5369과 rs5370의 Heterozygosity는 0.178과 0.327 이었고, rs5369과 rs5370의 MAF는 0.0987 그리고

0.2057이었다. EDN1 유전자의 프로모터 영역에 있는 SNP중에 엑손1 영역에 가장 가까운 SNP가 선택되었다. 따라서 이번 연구에서는 세 가지 SNPs (rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)를 선택하였다. 각각의 유전자형은 직접 염기서열 분석법을 통하여 알아내었다. 유전체 DNA는 다음의 3가지 SNP 프라이머를 이용하여 증폭시켰다. : rs3087459(sense, 5'-AGCCAATGTGTTCCATGCACC-3'; antisense, 5'-CATGCCCAGTCTTTTCCCTATC-3'), rs5369(sense, 5'-GTGCCCAGTGGAATAGGTGTGT-3'; antisense, 5'-CCTTCCCTCTTACCTGGTTTG-3'), 그리고 rs5370(sense, 5'-CTGCCCACTTCCCCTTAGACTTG-3'; antisense, 5'-TGGAATGTTTTGAACGAGGAC-3')(Table 3). PCR profile은 94 °C에서 30초, 58 °C에서 30초, 그리고 72 °C에서 30초, 35사이클 하였다. PCR 생성물은 전기영동에 의해 1.8% agarose gel로 확인되었다. 각 SNP의 유전자형을 분석하기 위하여 PCR생성물은 (주)마이크로젠(서울, 한국)에서 서열화한 후 각 SNP의 유전자형을 분석하였다.

Table 3. Primers for Polymerase Chain Reaction

SNPs	Forward	Reverse
rs3087459 -957	AGCCAATGTGTTCCATGCACC	CATGCCCAGTCTTTTCCCTATC
rs5369 Glu106Glu	GTGCCCAGTGGAATAGGTGTGT	CCTTCCCTCTTACCTGGTTTG
rs5370 Lys198Asn	CTGCCCACTTCCCCTTAGACTTG	TGGAATGTTTTGAACGAGGAC

SNP : single nucleotide polymorphism

4. 통계분석

교차비(odds ratios, ORs)와 95% 신뢰구간(confidence intervals, CIs)을 측정 하였고 p<0.05인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주 하였다. 통계분석은 SNPStats(<http://bioinfo.iconcologia.net/index.php?module=Snpstats>)와 SPSS 18.0(SPSS Inc., Chicago,

IL, USA) 프로그램을 이용하였다. 하디-와인버그평형(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)은 SNPStats를 이용하여 계산하였고, 링크불균형은 Haploview 4.2 프로그램에 의해 분석하였다.

III. 결 과

1. 연구 대상 분석

건강 대조군은 94명으로 평균 연령은 44.3±2.8세였고, 남성 48명(51.06%), 여성 46(46.93%)명이었다. 천식 환자 군의 평균 연령은 평균 47.4±13.7세였고, 남성 19명(36.53%), 여성 33명(63.46%)으로 구성되었다. 천식 환자군은 虛證群과 實證群 두 그룹으로 나누었으며 虛證群은 24명(46.15%), 實證群은 28명(53.84%)이었다(Table 2).

2. 건강 대조군과 기관지 천식 환자군의 EDN1 SNP의 비교 분석

건강 대조군과 천식 환자군의 EDN1 유전자 3개의 SNP(rs3087459, -957; rs5369, Glu106Glu; rs5370, Lys198Asn)에서 유전자형과 대립유전자를 비교 분석하였다(Table 4). 또한 유전자형과 대립유전자에 있어서 천식과의 유병률의 상관성을 로지스틱 회귀분석을 통하여 분석하였다.

Table 4. Genotype and Allele Frequencies of EDN1 SNPs in Control Group and Asthma Group

SNPs	Genotype /allele	Control	Asthma	Models	OR (95% CI)	p
		n (%)	n (%)			
EDN1 rs3087459 -957	A/A	56 (59.6)	25 (48.1)	codominant1	1.27 (0.62-2.61)	0.52
	A/C	36 (38.3)	22 (42.3)	codominant2	5.92 (1.03-33.95)	0.046
	C/C	2 (2.1)	5 (9.6)	dominant	1.50 (0.75-2.99)	0.26
				recessive	5.38 (0.96-30.06)	0.042
				log-additive	1.66 (0.93-2.99)	0.09
	A	148 (78.7)	72 (69.2)		1	
	C	40 (21.3)	32 (30.8)		1.64 (0.96-2.83)	0.07
EDN1 rs5369 Glu106Glu	G/G	86 (91.5)	50 (96.2)	codominant1	0.42 (0.08-2.10)	0.26
	G/A	8 (8.5)	2 (3.8)			
	A/A	0 (0.0)	0 (0.0)			
	G	180 (95.7)	102 (98.1)		1	
	A	8 (4.3)	2 (1.9)		0.44 (0.09-2.12)	0.31
EDN1 rs5370 Lys198Asn	G/G	54 (57.5)	25 (48.1)	codominant1	1.61 (0.78-3.30)	0.20
	G/T	33 (35.1)	24 (46.1)	codominant2	1.00 (0.24-4.21)	1.00
	T/T	7 (7.5)	3 (5.8)	dominant	1.50 (0.75-3.00)	0.25
				recessive	0.81 (0.20-3.30)	0.77
				log-additive	1.25 (0.72-2.16)	0.42
	G	141(75.0)	74 (71.2)		1	
	T	47 (25.0)	30 (28.8)		1.22 (0.71-2.08)	0.48

EDN1 : endothelin 1, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects, number of subjects, NA : not applicable
 Bold numbers means significant.

건강 대조군과 천식 환자군에서 rs3087459 SNP 유전자형의 발현율은 각각 59.6%: 38.3%: 2.1% 그리고 48.1%: 42.3%: 9.6%(A/A genotype: A/C genotype: C/C genotype)이었고, rs3087459 SNP 대립유전자의 발현율은 codominant 2 모델(A/A genotype versus C/C genotype) [교차비 5.92, 95% 신뢰구간 1.03-33.95, p값 0.046]에서 유의한 차이가 있었다. rs3087459 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 78.7%: 21.3% 그리고 69.2%: 30.8%(A allele: C allele)이었고, 유의한 차이가 없었다.

건강 대조군과 천식 환자군에서 rs5369 SNP 유전자형의 발현율은 각각 91.5%: 8.5%: 0.0% 그리고 96.2%: 3.8%: 0.0%(G/G genotype: G/A genotype: A/A genotype)이었고, rs5369 SNP 대립유전자의 발현율은 95.7%: 4.3% 그리고 98.1%: 1.9%(G allele:

A allele)이었고, 유의한 차이는 없었다.

건강 대조군과 천식 환자군에서 rs5370 SNP 유전자형의 발현율은 각각 57.5%: 35.1%: 7.5% 그리고 48.1%: 46.1%: 5.8%(G/G genotype: G/T genotype: T/T genotype)이었고, rs5370 SNP 대립유전자의 발현율은 75.0%: 25.0% 그리고 71.2%: 28.8%(G allele: T allele)이었으며 유의한 차이는 없었다.

3개의 SNP(rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)를 일배체형 분석하였다(Table 5). 5가지의 일배체형(AGG haplotype, CGT haplotype, AGT haplotype, CGG haplotype, CAG haplotype)이 있었는데, 그 중 CGG 일배체형의 빈도가 건강 대조군과 천식 환자군에서 유의한 차이를 보였다(chi square = 7.23, p = 0.0072).

Table 5. Haplotype Analysis of EDN1 SNPs in Control Group and Asthma Group

Haplotype	Frequency	Control		Asthma		Chi square	p
		+	-	+	-		
AGG	0.65	129.0	59.0	62.0	42.0	2.41	0.12
CGT	0.17	28.5	159.5	20.7	83.3	1.07	0.30
AGT	0.09	17.3	170.7	8.8	95.2	0.05	0.82
CGG	0.05	5.1	182.9	10.5	93.5	7.23	0.0072
CAG	0.02	5.2	182.8	0.2	103.8	2.37	0.12

EDN1 : endothelin 1, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects

(+) : ratio a specific haplotype of case or control, (-) : ratio not a specific haplotype of case or control

Bold numbers means significant.

3. 천식 환자 虛證群과 實證群의 EDN1 SNP 비교 분석
천식 환자군을 虛證과 實證 분류기준표에 따라 두 그룹으로 분류하였다(Table 1). 虛證群과 實證群 사이의 EDN1 유전자 3개의 SNP(rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)에서 유전자형과 대립유전자를 분석하였다(Table 6). 유전자형과 대립유전자에 있어서 천식의 虛證과 實證의 상관관계를 로지스틱 회귀분석법으로 분석 연구 하였다.

虛證群과 實證群의 rs3087459 SNP 유전자형의 발현율은 虛證群에서는 62.5%: 37.5%: 0.0%, 實證

群에서는 35.7%: 46.4%: 17.9%로 나타났다(A/A genotype: A/C genotype: C/C genotype). 虛證群과 實證群의 유전자형 발현율은 차이를 보였는데, rs3087459 SNP 유전자형의 발현율은 dominant 모델(A/A genotype versus A/C genotype and C/C genotype) [교차비 3.51, 95% 신뢰구간 1.06-11.64, p 값 0.034]과 log-additive 모델(A/A genotype versus A/C genotype versus C/C genotype) [교차비 3.61, 95% 신뢰구간 1.26-10.35, p 값 0.0086]에서 유의한 차이가 있었다. rs3087459 SNP 대립유전자의 빈도는 각각 81.2%: 18.8% 그리고 58.9%: 41.1%(A allele: C

allele)이었고, C대립유전자의 빈도가 虛證群(18.8%)보다 實證群(41.1%)에서 더 높았으며 유의한 차이를 보였다[교차비 3.02, 95% 신뢰구간 1.23-7.42, p값 0.016].

虛證群과 實證群의 rs5369 SNP 유전자형의 발현율은 각각 95.8%: 4.2%: 0.0% 그리고 96.4%: 3.6%: 0.0%(G/G genotype: G/A genotype: A/A genotype)이었으며 유의한 차이는 없었다. rs5369 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 97.9%: 2.1% 그리고 98.2%: 1.8%(G allele: A allele)이었으며 유의한 차이는 없었다.

虛證群과 實證群의 rs5370 SNP 유전자형의 발현율은 각각 66.7%: 33.3%: 0.0% 그리고 32.1%: 57.1%: 10.7%(G/G genotype: G/T genotype: T/T genotype)이었으며, rs5370 SNP 유전자형의 발현

율은 codominant 1 모델(G/G genotype versus G/T genotype)[교차비 4.10, 95% 신뢰구간 1.16-14.49, p값 0.028]과 dominant 모델(G/G genotype versus G/T genotype and T/T genotype)[교차비 4.86, 95% 신뢰구간 1.40-16.90, p값 0.0091], 그리고 log-additive 모델(G/G genotype versus G/T genotype versus T/T genotype)[교차비 4.63, 95% 신뢰구간 1.43-15.03, p값 0.0049]에서 통계적으로 유의한 차이가 있었다. rs5370 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 83.3%: 16.7% 그리고 60.7%: 39.3%(G allele: T allele)였으며, rs5370의 T대립유전자의 발현율은 虛證群(16.7%)보다 實證群(39.3%)에서 더 높았고, 유의한 차이를 보였다[교차비 3.24, 95% 신뢰구간 1.28-8.20, p값 0.013].

Table 6. Genotype and Allele Frequencies of EDN1 SNPs in D.S Group and E.S Group

SNPs	Genotype /allele	D.S		E.S		Models	OR (95% CI)	p	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)				
EDN1 rs3087459 -957	A/A	15 (62.5)	10 (35.7)	codominant1	2.56 (0.75-8.76)	0.14			
	A/C	9 (37.5)	13 (46.4)				codominant2	NA (0.00-NA)	NA
	C/C	0 (0.0)	5 (17.9)				dominant	3.51 (1.06-11.64)	0.034
							recessive	NA (0.00-NA)	NA
							log-additive	3.61 (1.26-10.35)	0.0086
	A	39 (81.2)	33 (58.9)		1				
	C	9 (18.8)	23 (41.1)		3.02 (1.23-7.42)	0.016			
EDN1 rs5369 Glu106Glu	G/G	23 (95.8)	27 (96.4)	codominant1	1.01 (0.05-20.70)	1.00			
	G/A	1 (4.2)	1 (3.6)						
	A/A	0 (0.0)	0 (0.0)						
	G	47 (97.9)	55 (98.2)					1	
	A	1 (2.1)	1 (1.8)					0.86 (0.05-14.04)	0.91
EDN1 rs5370 Lys198Asn	G/G	16 (66.7)	9 (32.1)	codominant1	4.10 (1.16-14.49)	0.028			
	G/T	8 (33.3)	16 (57.1)				codominant2	NA (0.00-NA)	NA
	T/T	0 (0.0)	3 (10.7)				dominant	4.86 (1.40-16.90)	0.0091
							recessive	NA (0.00-NA)	NA
							log-additive	4.63 (1.43-15.03)	0.0049
	G	40 (83.3)	34 (60.7)		1				
	T	8 (16.7)	22 (39.3)		3.24 (1.28-8.20)	0.013			

EDN1 : endothelin 1, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects, number of subjects, NA : not applicable
 Bold numbers means significant. D.S : deficiency syndrome E.S : excess syndrome

3개의 SNP(rs3087459, -957; rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)를 일배체형 분석하였다(Table 7). 5개의 일배체형(AGG haplotype, CGT haplotype, AGT haplotype, CGG haplotype, CAG haplotype)

이 있었으며, 그 중 AGG 일배체형의 빈도가 虛證群과 實證群에서 유의한 차이를 보였다(chi square=8.20, p=0.0042).

Table 7. Haplotype Analysis of EDN1 SNPs in D.S Group and E.S Group

Haplotype	Frequency	D.S.		E.S		Chi square	p
		+	-	+	-		
AGG	0.59	35.6	12.4	26.0	30.0	8.20	0.0042
CGT	0.20	5.6	42.4	15.0	41.0	3.75	0.05
CGG	0.11	3.4	44.6	7.5	48.5	1.07	0.30
AGT	0.09	2.4	45.6	6.5	49.5	1.41	0.23
AAG	0.01	1.0	47.0	0.5	55.5	0.26	0.61

(+) : ratio a specific haplotype of case or control, (-) : ratio not a specific haplotype of case or control
 EDN1 : EDN1 molecule, complement regulatory protein, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects
 Bold numbers means significant.
 D.S : deficiency syndrome, E.S : excess syndrome

4. 건강 대조군과 천식 환자 虛證群의 EDN1 SNP 비교 분석.

건강 대조군과 천식 환자 虛證群의 EDN1 유전자 3개의 SNP(rs3087459, -957; rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn) 유전자형과 대립유전자를 분석하였다(Table 8). 유전자형과 대립유전자에 있어서 건강 대조군과 虛證群 간의 상관관계를 로지스틱 회귀분석을 통하여 분석하였다.

건강 대조군과 虛證群의 rs3087459 SNP 유전자형의 빈도는 59.6%: 38.3%: 2.1% 그리고 62.5%: 37.5%: 0.0%(A/A genotype: A/C genotype: C/C genotype)이었으며 유의한 차이가 없었다. rs3087459 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 78.7%: 21.3% 그리고 81.2%: 18.8%(A allele: C allele)이었으며 유의한 차이가 없었다.

건강 대조군과 虛證群의 rs5369 SNP 유전자형의 발현율은 각각 91.5%: 8.5%: 0.0% 그리고 95.8%: 4.2%: 0.0%(G/G genotype: G/A genotype: A/A

genotype)이었으며 유의한 차이가 없었다. rs5369 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 95.7%: 4.3% 그리고 97.9%: 2.1%(G allele: A allele)이었으며 유의한 차이가 없었다.

건강 대조군과 虛證群의 rs5370 SNP 유전자형의 발현율은 각각 57.5%: 35.1%: 7.5% 그리고 66.7%: 33.3%: 0.0%(G/G genotype: G/T genotype: T/T genotype)이었으며 유의한 차이가 없었다. rs5370 SNP 대립유전자의 발현율은 각각 75.0%: 25.0% 그리고 83.3%: 16.7%(G allele: T allele)이었으며 유의한 차이가 없었다.

3개의 SNP(rs3087459, -957; rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)를 일배체형 분석하였다(Table 9). 5개의 일배체형이 있었으며, 이러한 일배체형(AGG haplotype, CGT haplotype, AGT haplotype, CGG haplotype, CAG haplotype)은 건강 대조군과 虛證群 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 8. Genotype and Allele Frequencies of EDN1 SNPs in Control Group and D.S Group

SNPs	Genotype /allele	Control		D.S		Models	OR (95% CI)	p			
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
EDN1 rs3087459 -957	A/A	56 (59.6)	15 (62.5)	codominant1	0.83 (0.31-2.22)	0.71					
	A/C	36 (38.3)	9 (37.5)				codominant2	0.00 (0.00-NA)	NA		
	C/C	2 (2.1)	0 (0.0)				dominant	0.79 (0.30-2.10)	0.64		
							recessive	0.00 (0.00-NA)	NA		
							log-additive	0.76 (0.30-1.91)	0.55		
A	148 (78.7)	39 (81.2)	1								
C	40 (21.3)	9 (18.8)	0.85 (0.38-1.91)	0.70							
EDN1 rs5369 Glu106Glu	G/G	86 (91.5)	23 (95.8)	codominant1	0.34 (0.03-3.55)	0.32					
	G/A	8 (8.5)	1 (4.2)								
	A/A	0 (0.0)	0 (0.0)				1				
							G	180 (95.7)	47 (97.9)	0.48 (0.06-3.92)	0.49
							A	8 (4.3)	1 (2.1)		
EDN1 rs5370 Lys198Asn	G/G	54 (57.5)	16 (66.7)	codominant1	0.75 (0.27-2.06)	0.58					
	G/T	33 (35.1)	8 (33.3)				codominant2	0.00 (0.00-NA)	NA		
	T/T	7 (7.5)	0 (0.0)				dominant	0.63 (0.23-1.70)	0.35		
							recessive	0.00 (0.00-NA)	NA		
							log-additive	0.58 (0.24-1.40)	0.20		
G	141(75.0)	40 (83.3)	1								
T	47 (25.0)	8 (16.7)	0.60 (0.26-1.37)	0.23							

EDN1 : endothelin 1, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects, number of subjects, NA : not applicable
D.S : deficiency syndrome

Table 9. Haplotype Analysis of EDN1 SNPs in Control Group and D.S Group

Haplotype	Frequency	Control		D.S		Chi square	p
		+	-	+	-		
AGG	0.70	129.2	58.8	35.8	12.2	0.64	0.42
CGT	0.15	29.0	159.0	5.8	42.2	0.32	0.57
AGT	0.08	17.2	170.8	2.2	45.8	1.10	0.30
CGG	0.03	4.7	183.3	3.2	44.8	2.00	0.16
CAG	0.02	5.5	182.5	0.0	48.0	1.44	0.23
AAG	0.01	1.6	186.4	1.0	47.0	0.52	0.47

(+) : ratio a specific haplotype of case or control, (-) : ratio not a specific haplotype of case or control

EDN1 : EDN1 molecule, complement regulatory protein, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects
D.S : deficiency syndrome

5. 건강 대조군과 천식 환자 實證群의 EDN1 SNP 비교 분석

건강 대조군과 實證群 사이의 3개의 EDN1 유전자 SNP(rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)에서 유전자형과 대립유전자를 비교분석 하였다(Table 10). 또한 유전자형과 대립유전자에 있어서 건강 대조군과 實證群 간의 상관성을 로지스틱 회귀분석을 통하여 분석하였다.

건강 대조군과 實證群 간의 rs3087459 SNP 유전자형의 발현율 차이는 각각 59.6%: 38.3%: 2.1% 그리고 35.7%: 46.4%: 17.9%(A/A genotype: A/C genotype: C/C genotype)이었고, rs3087459 SNP 유전자형의 발현율은 codominant 2 모델(A/A genotype versus C/C genotype)[교차비 14.92, 95% 신뢰구간 2.41-92.55, p값 0.004]과 dominant(A/A genotype versus A/C genotype 그리고 C/C genotype)[교차비 2.53, 95% 신뢰구간 1.04-6.16, p값 0.037]과 recessive 모델(A/A genotype and A/C genotype versus C/C genotype)[교차비 11.05, 95% 신뢰구간 1.90-64.28, p값 0.0043], 그리고 log-additive 모델(A/A genotype versus A/C genotype versus C/C genotype)[교차비 2.82, 95% 신뢰구간 1.37-5.81, p값 0.0039]에서 유의한 차이를 보였다. rs3087459 SNP 대립유전자의 발현율은 78.7%: 21.3% 그리고 58.9%: 41.1% (A allele: C allele)이었다. 實證群의 rs3087459의 C 대립유전자 발현율(41.1%)이 건강대조군(21.3%)보다 높았으며 유의한 차이를 보였다[교차비 2.58, 95% 신뢰구간 1.36-4.88, p값 0.004].

건강 대조군과 實證群간의 rs5369 SNP 유전자형 발현율은 91.5%: 8.5%: 0.0% 그리고 96.4%: 3.6%: 0.0%(G/G genotype: G/A genotype: A/A

genotype)이었으며 유의한 차이가 없었다. rs5369 SNP 대립유전자 발현율은 95.7%: 4.3% 그리고 98.2%: 1.8%(G allele: A allele)이었으며 유의한 차이가 없었다.

건강 대조군과 實證群의 rs5370 SNP 유전자형의 발현율은 57.5%: 35.1%: 7.5% 그리고 32.1%: 57.1%: 10.7%(G/G genotype: G/T genotype: T/T genotype)이었고, rs5370 SNP 유전자형 발현율은 codominant 1 모델(G/G genotype versus G/T genotype)[교차비 2.95, 95% 신뢰구간 1.15-7.57, p값 0.024]과 dominant 모델(G/G genotype versus G/T genotype and T/T genotype)[교차비 2.86, 95% 신뢰구간 1.15-7.10, p값 0.019], 그리고 log-additive 모델(G/G genotype versus G/T genotype versus T/T genotype)[교차비 1.94, 95% 신뢰구간 1.00-3.75, p값 0.048]에서 유의한 차이를 보였다. rs5370 SNP 대립유전자의 발현율은 75.0%: 25.0% 그리고 60.7%: 39.3%(G allele: T allele)이었다. 實證群의 rs5370 T 대립유전자(39.3%)가 건강 대조군(25.0%)보다 더 높았으며 유의한 차이를 보였다[교차비 1.94, 95% 신뢰구간 1.03-3.64, p값 0.039].

3개의 SNP(rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)를 일배체형 분석하였다(Table 11). 5가지의 일배체형(AGG haplotype, CGT haplotype, AGT haplotype, CGG haplotype, CAG haplotype)이 있었는데, 그 중 AGG, CGT, CGG 일배체형의 빈도가 건강 대조군과 實證群에서 유의한 차이를 보였다(AGG haplotype, chi square=8.850, p=0.0029; CGT haplotype, chi square=3.88, p=0.0488; CGG haplotype, chi square=9.60, p=0.0019).

Table 10. Genotype and Allele Frequencies of EDN1 SNPs in Control Group and E.S Group

SNPs	Genotype /allele	Control		E.S		Models	OR (95% CI)	p		
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)					
EDN1 rs3087459 -957	A/A	56 (59.6)	10 (35.7)	codominant1 codominant2 dominant recessive log-additive	1.90 (0.74-4.87) 14.92 (2.41-92.55) 2.53 (1.04-6.16) 11.05 (1.90-64.28) 2.82 (1.37-5.81)	1	0.18 0.004 0.037 0.0043 0.0039			
	A	148 (78.7)	33 (58.9)							
	C	40 (21.3)	23 (41.1)							
	EDN1 rs5369	G/G	86 (91.5)					27 (96.4)	0.38 (0.04-3.27)	0.33
	A/G	8 (8.5)	1 (3.6)							
Glu106Glu	A/A	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0.41 (0.05-3.34)	0.40				
	G	180 (95.7)	55 (98.2)							
	A	8 (4.3)	1 (1.8)							
EDN1 rs5370 Lys198Asn	G/G	54 (57.5)	9 (32.1)	codominant1 codominant2 dominant recessive log-additive	2.95 (1.15-7.57) 2.47 (0.52-11.72) 2.86 (1.15-7.10) 1.43 (0.33-6.10) 1.94 (1.00-3.75)	1	0.024 0.25 0.019 0.64 0.048			
	G/T	33 (35.1)	16 (57.1)							
	T/T	7 (7.5)	3 (10.7)							
	G	141(75.0)	34 (60.7)							
	T	47 (25.0)	22 (39.3)					1.94 (1.03-3.64)	0.039	

EDN1 : endothelin 1, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects, number of subjects, NA : not applicable
 Bold numbers means significant. E.S : excess syndrome

Table 11. Haplotype Analysis of EDN1 SNPs in Control Group and E.S Group

Haplotype	Frequency	Control		E.S		Chi square	P
		+	-	+	-		
AGG	0.64	129.2	58.8	26.3	29.7	8.85	0.0029
CGT	0.18	28.3	159.7	14.8	41.2	3.88	0.0488
AGT	0.10	17.4	170.6	6.6	49.4	0.29	0.59
CGG	0.05	5.1	182.9	7.3	48.7	9.60	0.0019
CAG	0.02	5.4	182.6	0.3	55.7	1.07	0.30

(+) : ratio a specific haplotype of case or control, (-) : ratio not a specific haplotype of case or control
 EDN1 : EDN1 molecule, complement regulatory protein, SNP : single nucleotide polymorphism, n : number of subjects
 Bold numbers means significant.
 E.S : excess syndrome

IV. 고찰

기관지 천식(이하 천식)은 한의학에서는 哮喘證에 해당되는 질환으로 隋時代에는 上氣 喉中有鷄鳴이라 하여 그 증상을 기술하고 있으며, 哮喘은 일반적으로 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 것을 말한다¹. 《內經》에서는 비록 哮喘의 병명은 없으나 哮喘證의 특징과 유사한 많은 記載가 있었으며, 《金匱要略》에서는 哮喘發作時의 특징과 치료를 말하였고, 金元時代의 朱丹溪는 《丹溪心法》에서 哮喘이라는 독립된 병명을 최초로 사용하며 病因을 專主於痰이라고 하였으며 治法을 제시하였다. 《景岳全書》에서는 丹溪의 未發扶正, 已發攻邪의 치료원칙을 상세하게 하였다¹.

천식은 임상적, 생리적, 병리적으로 정의되는 기관지의 만성적인 염증성 질환이다. 천식의 가장 큰 특징은 짧은 호흡, 천명음, 기관지의 염증 혹은 폐쇄이며, 여러 가지 유전자와 환경이 상호작용하여 나타나는 복잡한 질환이다².

Global Initiative for Asthma(GINA)는 천식은 2004년 기준 전세계적으로 3억명 정도가 이환되어 있을 것으로 추정하며, 이환수가 계속 증가하여 2025년에는 4억에 이를 것으로 보고하였다²³. 우리나라에서는 2~13%의 유병률로 추정되며, 기관지 천식을 포함한 만성하기도질환에 의한 사망률은 1992년 인구 10만 명당 12.9명에서 2002년 22.6명으로 급격히 증가하였다². 그러나 천식은 질환의 예방적 측면은 미비한 실정이며, 천식의 대표적인 치료제인 β -agonists²⁴는 개인에 따라 약의 반응도가 다른 편이다. 그런데 최근 이 The β -agonists의 반응도가 개인의 유전자 다형성에 따라 달라진다는 보고²⁴들이 있었고, 이에 따라 유전자다형성과 천식과의 상관성을 연구하는 논문들이 세계적으로 계속 발표되고 있다^{17-19,25,26,31-33}.

한의학에서는 질병이나 병증을 치료하는 데는 다양한 방법을 이용하여 치료하고 있다. 그 중 증상의 특징을 분류 변별하여 치료하는 변증 치료는

그 하나의 방법이라 할 수 있다. 대표적인 변증분류 방법 중의 하나가 寒熱 虛實 陰陽 表裏를 구분하는 8綱變證 분류법이다.

한의학에서의 천식(천식: 哮喘證)을 치료할 때 우선적으로 虛實로 변증하여 나누고, 實證은 風寒, 痰濁 等の 病邪가 爲主로하여 접근하고, 虛證은 肺虛, 腎虧 等の 正虛가 爲主로 하여 치료에 임한다¹.

이는 같이 천식 환자에서도 각각의 환자들이 나타내는 개별적인 증상과 환자 개개인의 특징을 확인하여 그 유형을 변증하여 분류하고 그에 따라 처방과 치법을 달리하는 한의학적 특징을 잘 보여주는 것이다. 이는 최근 활발하게 연구되고 있는 유전자 진단을 통한 맞춤 의료와 일맥 상통하다고 볼 수 있다.

본 연구에서는 한국인 천식 환자를 대상으로 虛實 辨證으로 환자를 분류하여 EDN1 유전자 다형성과의 상관성이 있는지를 조사하였다. 辨證에 근거한 약물의 선택이 유전자 다형성과의 연관이 있다면 향후 韓醫學의 맞춤의학으로서의 새로운 근거를 제시할 수 있으리라 판단된다. 또한 이를 토대로 질환 별 다양한 유전자 다형성과의 상관성에 관한 데이터베이스를 구축한다면 새로운 진단 기법으로서 활용 가능할 것이라 사료된다.

천식과 유전자 다형성에 관한 연구는 최근 천식 연구의 큰 흐름이 되고 있는데 그 몇몇 예로, Carla 등²⁵은 계면활성제단백질 D의 Met(11)Thr의 SNP는 천식 실험쥐 모델의 알레르기성 기관지염증에는 영향을 주지 않았다고 발표하였으며 Naidoo 등²⁶은 major histocompatibility complex, class I, G(HLA-G)의 유전자 다형성이 천식치료제인 지질저해제(satatin)의 효과에 영향을 미친다고 발표하였다.

韓醫學 분야에서는 천식과 유전자 다형성과의 관계에 관한 연구로는 황 등¹⁷이 한국인 천식환자와 MCP-1의 두 가지 유전자 다형성에 관한 상관성을 연구하여 MCP-1 -2518 A/G 유전자 다형성과 천식과는 상관성이 없었으나, 한국인에게서 -2518 G

대립형질이 높게 분포하였다고 보고하였고, 유 등¹⁸이 한국인 천식환자의 GST 유전자 다형성과 韓醫學 虛實辨證과의 상관성을 연구하여 GST 유전자는 한국인 천식환자의 虛實 辨證과 상관성이 없다고 보고하였으며, 이 등¹⁹은 역시 한국인 기관지천식의 CD46 molecule, complement regulatory protein (CD46) 유전자 다형성과 虛實辨證과의 관계를 연구하여 CD46 SNP(rs138843816, Ser13Phe and rs7144, 3'-UTR)는 한국인 천식 환자의 實證群과 상관성이 있다고 보고하였다.

EDN은 21개의 아미노산기를 가지고 있으며, EDN1, EDN2, EDN3의 isoform을 갖는다. 이번 연구에서 조사 하고자 하는 EDN1은 혈관내피세포에서 생성되는 강력한 혈관수축제를 생성하는 단백질의 코딩하는 유전자로²⁷ 6p24.1에 위치하며 간과 위에서 발현한다.

이 EDN의 유전자 다형성을 질병과 연관지어 연구한 보고들을 살펴보면, Castro 등²⁸은 EDN1을 145명의 좌심실비대 환자에게 조사해본 EDN1은 본태성 좌심실비대증에 영향을 미치며 실험적 연구에서는 유의한 연관성을 얻지 못 하였다고 하였다. 또한 Wen 등²⁹은 국소적으로 진행된 비인두암의 예후와 EDN1과 endothelin A receptor(EDNRA) 상관성을 조사하여 EDNRA는 환자의 생존률에 지대한 영향을 미치나, EDN1의 유전자 다형성은 예후에 영향을 미치지 않았다고 발표하였다. 그리고 Vargas-Alarcon 등³⁰은 EDN1의 -974C>A(rs3087459) 유전자다형성은 급성관상동맥증후군의 위험인자라고 발표하였다.

EDN1과 천식의 상관성을 연구한 논문을 살펴 보면, Mao 등³¹은 영국인 300명과 일본인 200명을 대상으로 조사한 결과 EDN1과 endothelin receptor type B(EDNRB)은 천식과 연관성이 없었으나 EDNRA는 천식과 근소한 연관성을 보였다고 보고 하였다. 그리고 또한 Immervoll 등³²은 천식과 천식 유사질환에 EDN1, lymphotoxin alpha(LTA) 및 neuronal nitric oxide synthase(NOS1) genes과의

연관성을 조사한 결과 EDN1과 NOS1과의 유의성을 찾아내었다고 보고하였다. 또한 Taillé 등³³은 preproET-1, EDNRA와 EDNRB 유전자 다형성이 천식의 기관지 폐쇄 정도에 미치는 영향을 조사하여 EDNRB-30G>A 유전자 다형성이 담배연기에 노출되는 정도와 비슷하게 천식의 기관지 폐쇄에 영향을 미친다고 발표하였다.

본 연구에서는 경희대학교 한방병원(서울, 대한민국) 알레르기 호흡기내과에 내원한 환자를 대상으로 임상시험위원회의 승인을 받은 후(KOMCGIRB 2013-06호) 임상시험에 동의한 환자를 대상으로 하였다. 연구는 천식 환자군 52명과 건강 대조군 94명 총 146을 대상으로 하였다. 천식 환자군은 병력문진, 폐 기능 검사를 시행하여 미국흉부학회의 진단 기준을 따른 20~60세 사이의 환자로 선정하였으며, 건강 대조군은 건강한 성인 남녀로 천식의 소견이 없고 기타 질환이 없는 자를 선정하였다. 천식 환자군에서는 남자가 19명(36.5%), 여자가 33명(63.5%)의 성별 분포를 보였고, 건강 대조군에서는 남자가 48명(51.0%) 여자가 46명(48.9%)의 성별분포를 보였다. 평균연령은 천식 환자군이 44.3±2.8세, 건강 대조군 47.4±13.7세였다.

그 결과 건강 대조군과 천식 환자군의 비교 분석에서 rs3087459 SNP 유전자형의 codominant 2 모델에서 유의한 차이를 보였고, 일배체형 분석의 CGG 일배체형 발현율에서 유의한 차이를 보였다.

虛證群과 實證群의 비교 분석에서는 rs3087459 SNP 유전자형의 dominant 모델과 log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였고, C 대립유전자 발현율에서 유의한 차이를 보였다. rs5370 SNP 유전자형에서는 codominant 1, dominant, log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였고, T 대립유전자 발현율도 유의한 차이를 보였다. 또한 AGG 일배체형에서 유의한 차이를 보였다.

또한 건강 대조군과 虛證群의 비교분석에서는 유의한 차이를 보인 유전자형과 대립유전자, 일배체형이 없었다.

건강 대조군과 實證群의 비교분석에서는 rs3087459 SNP 유전자형의 codominant 2, dominant, recessive, log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였으며, C 대립유전자에서 유의한 차이를 보였다. rs5370 SNP 유전자형의 codominant 1, log-additive 모델에서 유의한 차이가 보였으며, T 대립유전자에서 유의한 차이를 보였다. 그리고 AGG, CGT, CGG 일배체형에서 유의한 차이를 보였다.

위 결과에서 보듯, EDN1 유전자의 다형성은 기관지 천식환자의 實證群에서 유의한 차이를 보여 상관성을 나타내었다. 즉 개인의 유전변이형을 검사하였을 때 EDN1 유전자의 다형성이 관찰되면 천식 질환의 實證群을 고려할 수 있다는 의미가 된다.

연구 과정에서 참여 환자 수가 적은 것이 큰 아쉬움이나 한국인 천식환자를 韓醫學적 辨證 진단 체계 중의 하나인 虛證과 實證으로 나누어 EDN1 유전자 다형성과 한국인 기관지 천식 관련성을 밝힌 연구로서 향후 타 질환과 유전자 다형성을 연구하는데 그 기초를 제시하였다는데 큰 의미가 있으리라 생각한다. 또한 유전자 다형성에 따라 양약의 반응도를 예측하여 가장 적합한 치료약이 적용하듯, 이를 활용하여 한약도 개인 유전자 검사를 통한 적합한 처방을 적용할 수 있기를 기대해본다.

이와는 별개로 虛證과 實證의 구분이 과연 선천적인 요인에 의해서 결정되는 것일지에 대한 보다 광범위한 조사 연구가 더 필요할 것으로 사료된다. 그럼에도 불구하고 본 연구는 서양의학의 유전자 맞춤 치료에 대한 연구가 활발한 추세에 맞추어 韓醫學에서도 유전자 맞춤 예방, 치료의 초석으로서 의의가 있을 것으로 생각된다.

V. 결 론

한국인 기관지 천식 虛證, 實證 환자와 EDN1 유전자 다형성과의 상관성을 연구하기 위하여 경희대학교 한방병원(서울, 대한민국) 알레르기 호흡

기내과에 내원한 환자를 대상으로 임상시험위원회의 승인을 받은 후(KOMCGIRB 2013-06호) 임상 시험에 동의한 환자를 대상으로 EDN1 세 개의 SNP(rs3087459, -957: rs5369, Glu106Glu: rs5370, Lys198Asn)와 기관지 천식 虛證, 實證 환자와의 상관성을 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 건강 대조군과 천식 환자군의 비교 분석에서는 rs3087459 SNP 유전자형의 codominant 2 모델에서 유의한 차이를 보였고, rs3087459의 CGG 일배체형에서도 유의한 차이를 보였다.
2. 虛證群과 實證群의 비교 분석에서는 rs3087459 SNP 유전자형의 dominant 모델과 log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였고, C 대립유전자 발현을 또한 유의한 차이를 보였다. rs5370 SNP 유전자형에서는 codominant 1, dominant, log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였으며, T 대립유전자 발현율도 유의한 차이를 보였다. 또한 AGG 일배체형에서 유의한 차이를 보였다.
3. 건강 대조군과 實證群의 비교 분석에서는 rs3087459 SNP 유전자형의 codominant 2, dominant, recessive, log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였으며, C 대립유전자 발현율에서 유의한 차이를 보였다. rs5370 SNP 유전자형의 codominant 1, log-additive 모델에서 유의한 차이를 보였으며, T 대립유전자 발현율 역시 유의한 차이를 보였다. 그리고 AGG, CGT, CGG 일배체형에서 유의한 차이를 보였다.

참고문헌

1. 전국한의과대학 폐계내과학교실 편저. 동의 폐계내과학. 서울: 나도; 2011, p. 273-81.
2. 대한천식알레르기 학회. 천식과 알레르기 질환. 서울: 여문각; 2012, p. 11-3, 254.
3. Zhang L, Yuan X, Chen Y, Du XJ, Yu S, Yang M. Role of EGFR SNPs in survival of

- advanced lung adenocarcinoma patients treated with Gefitinib. *Gene* 2013;517(1):60-4.
4. Zhang JL, Yao Q, Chen Y, Wang JH, Wang H, Fan Q, et al. Effects of Herceptin on circulating tumor cells in HER2 positive early breast cancer. *Genet Mol Res* 2015;14(1):2099-103.
 5. Siddiqi A, Khan DA, Khan FA, Naveed AK. Impact of CYP2C9 genetic polymorphism on warfarin dose requirements in Pakistani population. *Pak J Pharm Sci* 2010;23(4):417-22.
 6. Matera MG, Page C, Cazzola M. PDE inhibitors currently in early clinical trials for the treatment of asthma. *Expert Opin Investig Drugs* 2014;23(9):1267-75.
 7. Howrylak JA, Fuhlbrigge AL, Strunk RC, Zeiger RS, Weiss ST, Raby BA. See comment in PubMed Commons below Classification of childhood asthma phenotypes and long-term clinical responses to inhaled anti-inflammatory medications. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(5):1289-300, 1300-12.
 8. Zhu J, Message SD, Qiu Y, Mallia P, Kebabze T, Contoli M, et al. Airway inflammation and illness severity in response to experimental rhinovirus infection in asthma. *Chest* 2014;145(6):1219-29.
 9. Mariñas-Pardo L, Mirones I, Amor-Carro O, Fraga-Iriso R, Lema-Costa B, Cubillo I, et al. Mesenchymal stem cells regulate airway contractile tissue remodeling in murine experimental asthma. *Allergy* 2014;69(6):730-40.
 10. Modena BD, Tedrow JR, Milosevic J, Bleecker ER, Meyers DA, Wu W, et al. Gene expression in relation to exhaled nitric oxide identifies novel asthma phenotypes with unique biomolecular pathways. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190(12):1363-72.
 11. Baines KJ, Simpson JL, Wood LG, Scott RJ, Fibbens NL, Powell H, et al. Sputum gene expression signature of 6 biomarkers discriminates asthma inflammatory phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(4):997-1007.
 12. Zhang L, Sui R. Effect of SNP Polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB Gene on Ischemic Stroke. *Cell biochemistry and biophysics* 2014;70(1):233-9.
 13. Maemura K, Kurihara H, Kurihara Y, Oda H, Ishikawa T, Copeland N, et al. Sequence analysis, chromosomal location, and developmental expression of the mouse preproendothelin-1 gene. *Genomics* 1996;31(2):177-84.
 14. Melén E, Kho AT, Sharma S, Gaedigk R, Leeder JS, Mariani TJ, et al. Expression analysis of asthma candidate genes during human and murine lung development. *Respiratory Research* 2011;12:86.
 15. Zhu G, Carlsen K, Carlsen KH, Lenney W, Silverman M, Whyte MK, et al. Polymorphisms in the endothelin-1 (EDN1) are associated with asthma in two populations. *Genes Immun* 2008;9(1):23-9.
 16. 이종극. 질병 유전체 분석법2. 서울: 월드 사이언스; 2010, p. 13.
 17. 황우석, 정승연, 김진주, 정희재, 정승기. 한국인 천식환자의 Monocyte Chemoattractant Protein-1 유전자 다형성에 대한 분석. *대한한방내과회지* 2008;29(1):32-41.
 18. 유승렬, 정승연, 정주호, 김진주, 정승기. 한국인 기관지 천식환자에서 허실변증과 Glutathione-S-Transferase 유전자의 다형성 연구. *대한한방내과학회지* 2007;28(3):453-63.
 19. 이매. 한국인 기관지 천식 허증, 실증 환자와 CD46 유전자 다형성과의 관계. *경희대학교 대학원 박사학위 논문*. 2015. 2.
 20. 최준용, 황우석, 이재성, 정희재, 이형구, 정승기.

- 기관지 천식환자의 허실변증에 따른 청상보하탕의 임상효과. 대한한방내과학회 추계학술대회지. 2003;fal:91-9.
21. 이재성, 정승연, 이진영, 이경기, 정희재, 이형구, 등. 허실변증과 가미청상보하탕의 임상 효과. 대한한방내과학회 2004;25(3):379-87.
 22. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, Enright PL, Hankinson JL, Irvin CG, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):309-29.
 23. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004;59:469.
 24. Paiva AC, Marson FA, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Asthma: Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor gene as risk factors. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2014;10(1):8.
 25. Winkler C, Bahlmann O, Viereck J, Knudsen L, Wedekind D, Hoymann HG, et al. Impact of a Met(11)Thr single nucleotide polymorphism of surfactant protein D on allergic airway inflammation in a murine asthma model. *Exp Lung Res* 2014;40(4):154-63.
 26. Naidoo D, Wu AC, Brilliant MH, Denny J, Ingram C, Kitchner TE, et al. A polymorphism in HLA-G modifies statin benefit in asthma. *Pharmacogenomics J* 2015;15(3):272-7.
 27. L Zhang, R Sui. Effect of SNP Polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB Gene on Ischemic Stroke. *Cell biochemistry and biophysics* 2014;70(1):233-9.
 28. Castro MG, Rodríguez-Pascual F, Magán-Marchal N, Reguero JR, Alonso-Montes C, Morís C, et al. Screening of the endothelin1 gene (EDN1) in a cohort of patients with essential left ventricular hypertrophy. *Ann Hum Genet* 2007;71(5):601-10.
 29. Wen YF, Qi B, Liu H, Mo HY, Chen QY, Li J, et al. Polymorphisms in the Endothelin-1 and Endothelin A Receptor Genes and Survival in Patients with Locoregionally Advanced Nasopharyngeal Carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2011;17(8):2451-8.
 30. Vargas-Alarcon G, Vallejo M, Posadas-Romero C, Juarez-Rojas JG, Martinez-Rios MA, Peña-Duque MA, et al. The - 974C>A (rs3087459) gene polymorphism in the endothelin gene (EDN1) is associated with risk of developing acute coronary syndrome in Mexican patients. *Gene* 2014;542(2):258-62.
 31. Mao XQ, Gao PS, Roberts MH, Enomoto T, Kawai M, Sasaki S, et al. Variants of Endothelin-1 and Its Receptors in Atopic Asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;262(1):259-62.
 32. Immervoll T, Loesgen S, Dütsch G, Gohlke H, Herbon N, Klugbauer S, et al. Fine mapping and single nucleotide polymorphism association results of candidate genes for asthma and related phenotypes. *Human Mutation* 2001;18(4):327-36.
 33. Taillé C, Guénéguou A, Almolki A, Piperaud M, Leynaert B, Vuillaumier S, et al. ETB receptor polymorphism is associated with airway obstruction. *BMC Pulmonary Medicine* 2007;7:5.