

The Genetic Variations of *NOD2* Are Associated With White Blood Cell Counts

Hyun-Seok Jin^{1,2*} and Sangwook Park^{3,†,*}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, College of Life and Health Sciences, Hoseo University, Asan, Chungnam 31499, Korea

²The Research Institute for Basic Science, Hoseo University, Asan, Chungnam 31499, Korea

³Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health and Nurse, Kyungwoon University, Gumi 39160, Korea

The cytoplasmic elicitor, nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing domain receptors (NLRs) is well established molecules in its role in inflammatory response. Among 22 NLR receptors, *NOD2* is one of the intensively studied genes of elucidating for the inflammatory bowel disease and Crohn's disease as well. Recent research have accumulated that common genetic mutations in Parkinson's disease (PD) are increasingly related to the susceptibility to Crohn's disease. In this study, with the Korean Genome and Epidemiology Study, we aimed to perform the association between *NOD2* polymorphisms and blood cell counts [WBC (white blood cell) count, RBC (red blood cell) count, platelet count], which linked supposedly to cytoplasmic inflammatory responses with clinical specialty. Linear regression analyses were performed, controlling for residential area, sex, and age as covariates. As a results, 12 SNPs from *NOD2* gene were significantly associated with WBC counts (Bonferroni correction *P*-value criteria < 0.05/23=0.00218). In this study, we could ensure an association with *NOD2* gene and WBC counts. This is the first report to have relationship between SNPs of *NOD2* gene and WBC counts.

Key Words: Nucleotide-binding, Oligomerization domain-containing 2 (*NOD2*), White Blood cell (WBC), Association, Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

서 론

병원성 미생물을 효과적으로 제거하기 위해 다소 복잡하지만 정교한 방어시스템을 형성하는 방향으로 인간은 진화해 왔다(Pétrilli et al., 2007; Trinchieri and Sher, 2007). 인간의 면역방어 체계인 초기면역 체계(*innate immunity*)와 적응면역 체계(*adaptive immunity*)를 통하여 인체는 외부의 미생물들을 효과적으로 방어해 왔다(Mantovani et al.,

2011). 적응면역은 B, T 림프구의 클론선택과 항원특이수용체의 유전자 재조합과 같은 분자생물학적인 과정을 거쳐 특이 항원을 인지할 수 있도록 설계된다(McHeyzer-Williams and McHeyzer-Williams, 2005). 반면에, 초기면역 체계는 생식세포에서 암호화 된(*germline encoded*) 패턴 인식수용체(*pattern recognition receptors, PRRs*)라고 불리는 초기면역수용체가 병원체유사분자패턴(*pathogen-associated molecular patterns, PAMPs*)처럼 진화적으로 잘 보존된 미생물의 공통구조를 인식함으로써 인체방어기전을 시작하도록

Received: August 17, 2018 / Revised: September 19, 2018 / Accepted: October 8, 2018

*Professor.

†Corresponding author: Sangwook Park. Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health and Nurse, Kyungwoon University, Gumi 39160, Korea.

Tel: +82-54-479-1282, Fax: +82-54-479-1280, e-mail: spark367@ikw.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

록 도화선을 제공한다(Medzhitov and Janeway, 1997; Wilkins and Gale, 2010; Zipfel, 2014). 인간게놈조직(Human Genome Organization, HUGO)의 유전자 명명위원회에서는 22개의 뉴클레오티드 결합 소중합체화 도메인 함유 단백질 2 유사 수용체(nucleotide-binding, oligomerization domain-containing 2 like receptor, NOD2-like receptor; NLR)의 표준 명칭을 승인하여(Ting et al., 2008) 널리 사용되고 있다. 이들 NLR 수용체 중에서 초기 면역반응에서 톨유사 수용체(Toll-like Receptor; TLR)와 함께 가장 오랫동안 흥미롭게 연구된 유전자는 Nucleotide-binding, oligomerization domain-containing 2 (NOD2) 매개 수용체이다. NOD2는 외부 촉진제(agonist)인 muramyl dipeptide (MDP)의 작용에 의해 세포질내에서 인플라마솜인 NODosome 복합체를 형성한다(Girardin et al., 2003). 결과적으로 염증매개성 IL-1 β , IL-18과 같은 사이토카인을 분비함으로써 외부 물질에 대한 정상적인 숙주방어를 위한 방법센서역할을 담당하고 염증기전을 조절한다. 임상적으로 중요한 염증성 대장질환인 크론병(Crohn's disease)은 아직 그 원인을 정확히 알 수 없지만 유전학적인 측면에서 그 원인은 NOD2 유전자의 돌연변이체가 원인으로 알려져 있다(Hugot et al., 2001). 이 외에도 NOD2는 자가포식(Autophagy) 현상에 관여하며 NOD1과 함께 ATG16L1을 끌어들이어 자가포식 기전에 중요한 역할을 한다(Travassos et al., 2010). 최근에는 동물실험에서 NOD2의 결손이 대장염과 관련된 대장직장암을 유발하는 것으로 보고되었다(Branquinho et al., 2016).

혈액의 주요 구성성분인 백혈구는 핵이 없는 적혈구와 혈소판과 달리 핵을 지닌다. 백혈구는 외부침입자와 감염질환으로부터 인체방어를 위해 면역계에서 중요한 임무를 수행한다고 알려져 있다. 백혈구는 염증반응에 결정적인 역할을 담당하는 혈액단백질이고 림프구와 협업하여 사이토카인을 방출하는 등 염증반응을 조절, 유지시키는 역할을 담당한다. 백혈구의 수는 급성, 만성염증질환의 지표자료로 종종 사용되고 있다. 이 연구의 목적은 NOD2의 유전적 다형성과 혈액 세포수들과의 상관 분석을 통해서, 특히 염증반응과 관련이 많은 백혈구 수치와의 관련성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

연구대상자

본 연구는 한국인 유전체 역학 조사 사업(Korean Genome and Epidemiology Study; KoGES)의 일환인 Korean Asso-

ciation REsource (KARE) 한국인 자료를 이용하여 연구대상자를 사용하였다(Cho et al., 2009). 이때 이용한 자료는 질병관리본부 인체자원은행에서 분양을 받아 사용하였다(17100901-01-01). 질병관리본부에서 한국인을 대상으로 국민보건증진 및 유전체 연구의 일환으로 2001년부터 시작된 경기도 안성시와 안산시 거주자를 연구대상자로 삼은 대규모 유전체 역학 코호트으로써, 남녀(40~69세) 10,038명을 자원 모집하였으며, 이들 중에서 QC (Quality Control) 과정을 통과한 8,842명(남성: 4,183명, 여성: 4,659명)을 연구대상자로 선정하였다. 본 연구에 활용한 유전정보는 질병관리본부(KNIH)와 호서대학교에서 연구윤리심의위원회(Institutional Review Board; IRB) 승인을 받은 후 분석을 수행하였다(1041231-170822-BR-062-01). 연구대상자의 수, 남녀 비율, 나이 및 혈구 수치들에 대한 정보는 Table 1에 나타내었다.

유전형 분석과 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 선별

본 연구에서는 KARE 유전형 자료를 기반으로 SNP를 선별하였다. 연구 참여자들의 말초혈액에서 분리, 추출한 DNA 시료는, 인간전장유전체 SNP 유전형 판독을 위해서 Affymetrix Genome-Wide Human SNP array v.5.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였다. 유전형 판독 정확도가 98% 이하이거나 4% 이상의 높은 missing genotype call rate을 보이거나, 30% 초과 heterozygosity을 가지거나, 성별 불일치가 존재하는 대상자들은 제외되었다. 본 연구에서 분석한 NOD2 유전자 영역은 전사체 양쪽 끝 말단에서 5 kb씩 확장한 범위에 위치한 7개의 SNP들을 대상으로 하였다. 이들 SNP들의 염색체 상의 위치는 UCSC Genome Browser on Human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)을 기준으로 하였다. 또한, 실제 실험적으로 SNP의 유전형을 확인한 것 이외에도 NOD2 유전자 영역에서 MACH 1.0.16 (Li et al., 2010)를 사용하여 추가적으로 16개의 imputation SNP를 발굴하여 분석에 사용하였다. Imputation은 HapMap database (release 24) (PMID: 14685227)에서 중국인(Han Chinese from Beijing)과 일본인(Japanese in Tokyo)의 것을 참고로 진행하였다. Imputed SNP들 중에서 minor allele frequency가 1% 미만이거나 상관계수(r^2)가 0.5 미만인 것은 분석에서 제외하였다.

혈구 수치 측정

전체 8,842명의 연구대상자의 혈액 시료가 혈구 수치 분

Table 1. Basic characteristics of the KARE study cohort and blood cell counts

Characteristics	Mean ± Standard deviation
Number of subjects (n)	8842
Age (years)	55.22±8.92
Male (%)	47.3
WBC count (10 ³ /μL)	6.59±1.83
RBC count (10 ⁶ /μL)	4.42±0.47
Platelet count (10 ³ /μL)	266.34±65.27

Abbreviations: WBC, white blood cell; RBC, red blood cell.

석에 사용 가능하였다(Table 1). 연구대상자의 정맥혈관에서 K3-EDTA 항응고제가 포함된 4.5 mL 튜브에 채혈한 후 30분에서 4시간 사이 시간에 혈구 수치를 측정하였다. 혈구 수치 측정에는 자동혈구분석기인 ADVIA 120 hematology system (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY USA)을 사용하였다. 백혈구 수(WBC count), 적혈구 수(RBC count), 혈소판 수(Platelet count)는 모든 혈액 시료들에 대해 자동적으로 계수되었다.

상관성 분석과 통계 분석

염색체 16번에 위치한 *NOD2*와 표현형 형질의 연관성 통계 분석을 위해 PLINK (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink>; v 1.07)와 PASW Statistics v.18.0 (SPSS, Chicago, IL, USA)을 사용하였다. *NOD2*의 유전적 변이와 혈구 수치와의 상관 분석은 선형 회귀 분석을 사용하였으며 additive genetic model을 기반으로 하였다. 회귀 분석의 시행에 있어서 나이, 지역, 성별을 공변수로 처리하여 분석하였다. 분석 값에 대한 유의 수준은 다중 비교에 의한 오류 보정 (Bonferroni correction) 후 0.00218 미만을 기준으로 하였다. Regional association plots을 확인하기 위하여 웹 기반 프로그램인 Locuszoom version 1.1 (<http://csg.sph.umich.edu/locuszoom>) (Pruim et al., 2010)을 사용하였다.

결 과

NOD2 유전자 영역의 SNP 선별과 imputation

KARE 유전형 자료에서 분석에 사용할 SNP를 선별하기 위하여 UCSC Genome Browser on Human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)을 기준으로 염색체 16번에서 *NOD2* 유전자의 영역을 설정[전사체(transcript)를 기준으로 양방향으로 5 Kbp씩 범위 확장]하였다. 그 결과 해당 범위에서 7개

의 SNP가 확인되었다. 여기에 더하여 KARE 유전형 자료를 기반의 SNP imputation을 수행하여 추가로 16개의 SNP를 확보할 수 있었다. 따라서, 본 연구에서는 7개의 genotyped SNPs과 16개의 imputed SNPs으로 구성된 총 23개의 SNP를 분석 대상으로 하였다.

NOD2 유전자 SNP과 혈구 수치와의 상관 분석

NOD2 유전자의 SNP를 대상으로 혈구 수치들(백혈구 수, 적혈구 수, 혈소판 수)과의 상관 분석 결과를 살펴보면, 백혈구 수치와의 유의한 상관 관계를 나타내고 있다. 다중 비교에 의한 오류 보정으로 가장 엄격한 기준인 Bonferroni correction을 적용하였을 때의 유의 수준인 $P < 0.00218$ 을 만족하는 SNP이 백혈구 수치와의 분석 결과에서 12개 SNP에 해당하였는데, 이것은 분석한 전체 23개 SNP 중에서 52.2%라는 매우 큰 빈도를 보여 주고 있다. 그리고, 이렇게 유의한 12개의 SNP들은 모두 minor allele를 가질수록 백혈구 수치가 증가하는 경향을 보여주고 있다. 12개의 SNP들 중에서도 3' untranslated region에 위치한 rs3135500이 가장 높은 유의 수준($P=5.75 \times 10^{-4}$)을 보여 주고 있다(Table 2).

백혈구 수치에서 유의한 상관 관계를 보이는 12개의 SNP들에 대해 적혈구 수치와 혈소판 수치에 대해 살펴보면, 유의 수준을 0.05를 기준으로 가정하였을 때, 적혈구 수치는 10개의 SNP (83.3%), 혈소판 수치에서는 7개의 SNP (58.3%)이 만족하고 있었다(Table 2). 그리고, 이들 SNP들이 minor allele를 가질수록 적혈구 수치와 혈소판 수치는 증가하는 경향을 보여주고 있었다. 특히, 5개의 SNP (rs6500328, rs13339578, rs751271, rs3135499, rs3135500)의 경우에는 세 종류의 혈구 수치가 모두 유의한 상관 관계를 나타내고 있으며, minor allele에 따라 혈구 수치가 증가하는 경향도 모두 일치하였다.

NOD2 유전자 SNP과 백혈구 수치의 상관 관계 regional association plot

NOD2 유전자 SNP과 가장 유의한 상관 관계를 보여주고 있는 백혈구 수치와의 결과를 기반으로 웹 기반 프로그램인 Locuszoom version 1.1 (<http://csg.sph.umich.edu/locuszoom>)을 사용하여 확인하였다(Fig. 1). 그 결과 가장 높은 유의 수준을 보이는 rs3135500이 자주색 다이아몬드로 표시되어 있는 것을 볼 수 있다. 그리고, 상대적으로 *NOD2* 유전자의 앞 부분에 위치하면서 rs3135500과 $r^2 > 0.8$ 이상인 5개의 SNP들이 높은 유의 수준을 보여주고 있

Table 2. Association results of the 23 SNPs in the *NOD2* gene with blood cell counts in the KARE subjects

No.	SNP	A1	MAF	Consequence to transcript	WBC count		RBC count		Platelet count	
					beta ± se	Add <i>P</i>	beta ± se	Add <i>P</i>	beta ± se	Add <i>P</i>
I1	rs4785224	A	0.048	Upstream	0.12±0.06	0.069	0.011±0.01	0.398	2.73±2.30	0.236
I2	rs2067085	G	0.049	Upstream	0.11±0.06	0.077	0.009±0.01	0.482	2.21±2.28	0.332
I3	rs6500328	G	0.263	Intronic	0.11±0.03	<u>6.42×10⁻⁴</u>	0.013±0.01	0.048	2.52±1.11	0.023
G1	rs8057341	G	0.264	Intronic	0.10±0.03	<u>7.69×10⁻⁴</u>	0.012±0.01	0.058	2.53±1.10	0.022
I4	rs13339578	A	0.263	Intronic	0.11±0.03	<u>6.77×10⁻⁴</u>	0.013±0.01	0.047	2.52±1.11	0.023
I5	rs11642646	A	0.223	Intronic	0.11±0.03	<u>1.15×10⁻³</u>	0.016±0.01	0.019	1.70±1.18	0.147
I6	rs5743270	A	0.040	Intronic	0.05±0.07	0.497	-0.005±0.01	0.703	5.04±2.49	0.043
I7	rs11647841	A	0.220	Intronic	0.10±0.03	<u>1.99×10⁻³</u>	0.016±0.01	0.018	1.59±1.19	0.179
G2	rs1861759	G	0.170	Synonymous	0.08±0.04	0.028	0.015±0.01	0.049	0.78±1.30	0.549
I8	rs4785225	G	0.26	Intronic	0.10±0.03	<u>1.22×10⁻³</u>	0.012±0.01	0.056	2.41±1.11	0.030
G3	rs751271	G	0.259	Intronic	0.10±0.03	<u>1.47×10⁻³</u>	0.013±0.01	0.043	2.34±1.11	0.035
G4	rs748855	G	0.221	Intronic	0.11±0.03	<u>1.47×10⁻³</u>	0.017±0.01	0.016	1.74±1.18	0.141
G5	rs1861758	A	0.219	Intronic	0.10±0.03	<u>1.91×10⁻³</u>	0.016±0.01	0.023	1.51±1.18	0.202
I9	rs1861757	C	0.170	Intronic	0.08±0.04	0.025	0.015±0.01	0.043	0.97±1.31	0.459
I10	rs10521209	G	0.219	Intronic	0.10±0.03	2.56×10 ⁻³	0.017±0.01	0.014	1.78±1.19	0.134
G6	rs1077861	T	0.222	Intronic	0.11±0.03	<u>8.11×10⁻⁴</u>	0.016±0.01	0.019	1.75±1.18	0.136
I11	rs7203344	G	0.039	Intronic	0.05±0.07	0.501	-0.005±0.01	0.719	5.59±2.52	0.026
G7	rs3135499	C	0.263	3' UTR	0.10±0.03	<u>9.89×10⁻⁴</u>	0.014±0.01	0.035	2.64±1.11	0.018
I12	rs3135500	A	0.261	3' UTR	0.11±0.03	<u>5.75×10⁻⁴</u>	0.013±0.01	0.041	2.60±1.11	0.020
I13	rs12600253	A	0.039	Downstream	0.05±0.07	0.503	-0.003±0.01	0.854	5.33±2.54	0.036
I14	rs12598306	C	0.037	Downstream	0.02±0.07	0.777	-0.001±0.02	0.929	5.48±2.61	0.036
I15	rs7205423	G	0.302	Downstream	0.08±0.03	5.65×10 ⁻³	0.015±0.01	0.014	1.88±1.06	0.076
I16	rs718226	G	0.217	Downstream	0.10±0.03	3.21×10 ⁻³	0.016±0.01	0.021	1.37±1.18	0.247

Age, sex, and residential area were included as covariates in the additive genetic models. The *P*-values lower than the Bonferroni-corrected significance level ($P < 0.00218$) are indicated in bold and underlined. Abbreviations: Add *P*, additive genetic model *P* value; A1, minor allele; G of No., genotyped SNP's number; I of No., imputed SNP's number; KARE, Korean Association Resource; MAF, minor allele frequency; RBC, red blood cell; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, white blood cell.

음을 알 수 있다. 그 외의 SNP들도 *NOD2* 유전자 영역에 골고루 분포되어 있으면서 유의한 상관 관계를 나타내고 있는 것으로 볼 때, *NOD2* 유전자와 백혈구 수치와의 상관 관계는 상당히 유의미하다고 볼 수 있다.

고 찰

본 연구에서 *NOD2* 유전자 영역에 존재하는 23개의 SNPs 유전 변이를 대상으로 혈구 수치와의 상관 분석을 진행하여 백혈구 수치에서 12개의 SNP들이 통계적 유의성(Bonferroni 보정 값, $P < 0.00218$)을 만족하였다. 이들 12개의 SNP들에 대해 유의 수준 $P < 0.05$ 를 기준으로 적

혈구 수치와 혈소판 수치에 대한 연관 분석 결과를 보면, 적혈구 수치는 10개의 SNP (83.3%), 혈소판 수치는 7개의 SNP (58.3%)이 만족하고 있었다(Table 2). 백혈구 수치와의 분석에서 가장 유의 수준이 높은 rs3135500과 바로 옆에 위치한 rs3135499의 2개 SNP은 3' 말단의 UTR에 위치하였고, 유의 수준을 만족하는 다른 10개의 SNP들은 모두 인트론에 위치하고 있었다. 유전자 발현은 전사 후 수정(post-transcriptional modification) 수준에서 매우 정밀하게 조절된다. mRNA의 번역과 위치선정(localization), 분해 등을 위해서는 5' 말단의 UTR의 역할이 중요하다. 결합단백질과 결합, Hairpin 2차 루프구조 형성, 리보솜 진입부위(internal ribosome entry site, IRES) 구조 등을 형성하며 단

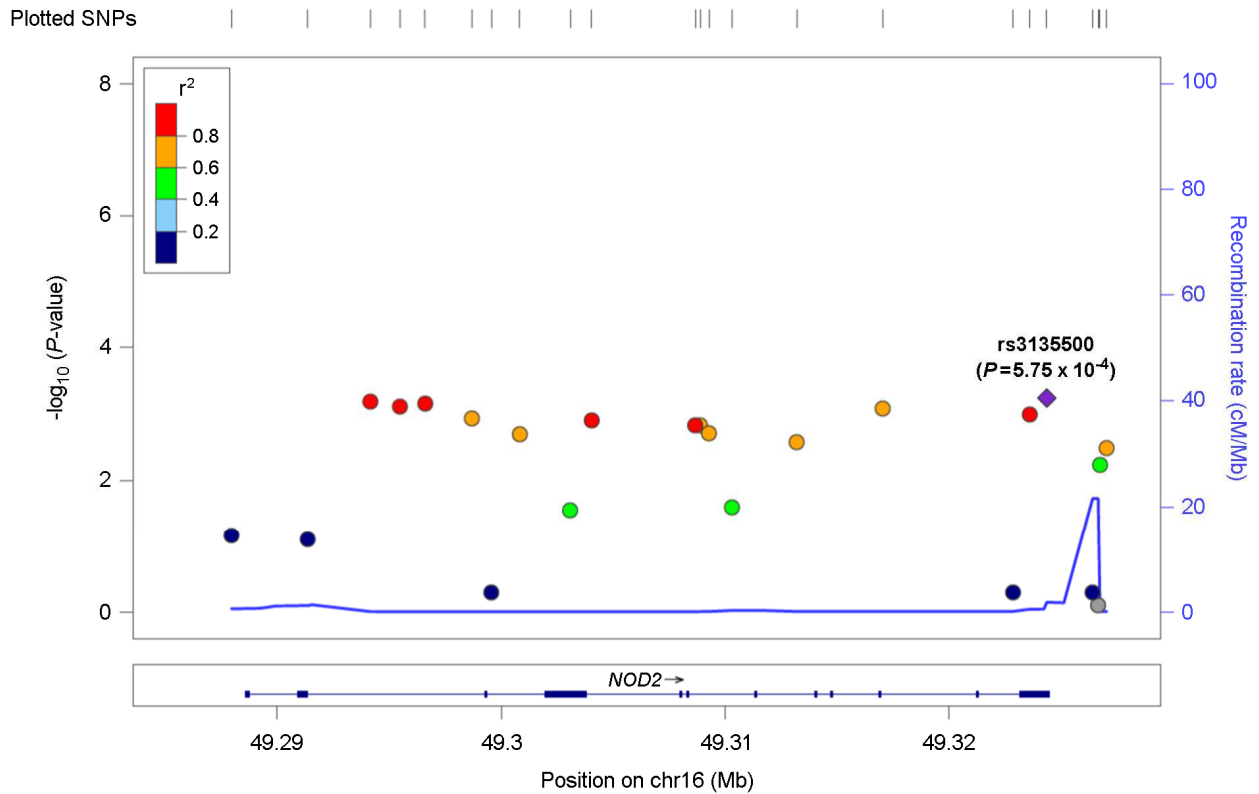


Fig. 1. Plots for the association result of the *NOD2* SNPs with WBC count in the KARE subjects. The position of the SNPs is shown at the top, and association results between SNPs in the *NOD2* gene and white blood cell count in the KARE study cohort are shown in the middle. The statistical significance ($-\log_{10} P$ -value) of the analyzed 23 SNPs is plotted, which are composed of experimentally genotyped 7 SNPs and *in silico* genotyped (imputed) 16 SNPs. The recombination rate estimated from the HapMap CHB (Han Chinese from Beijing) and JPT (Japanese from Tokyo) population data is shown by a blue line. The purple diamond with a SNP number (rs3135500) and P -value represents the SNPs most strongly associated with WBC count, and its correlated SNPs are shown in the indicated colors according to the levels of linkage disequilibrium (r^2). At the bottom, the position (Mb) of the *NOD2* gene on chromosome 16 (NCBI build 36) is shown along with the gene structures.

백질번역을 돕는다. 한편, 3' 말단의 UTR 염기서열은 아데닐중합체형성(polyadenylation), 단백질복합체 등과 결합하여 mRNA 안정화에 기여하는 것으로 잘 알려져 있다 (Mignone et al., 2002). 본 연구에서 밝혀낸 rs3135499, rs3135500은 모두 3' 말단 UTR에 위치한 SNP로 P 값이 각각 9.89×10^{-4} , 5.75×10^{-4} 으로 상당히 높은 유의한 상관관계를 나타내었다.

이들 유의성이 높은 3' 말단 UTR에 존재하는 SNP들이 *NOD2* 유전자와 그 단백질에 어떠한 영향을 주는지 확인해 보기 위해 RegulomeDB (www.regulomedb.org)에서 확인해 보았다. 예상한대로, rs3135499는 단핵구(monocyte)에서 *NOD2*의 대립유전자 C염기의 발현차이(eQTL)를 나타냈으며, 호중구와 단핵구에서 강한 전사인자의 결합 모티프에 영향을 미치고 있음을 확인할 수 있었다. rs3135500 또

한 호중구와 단핵구에서 전사인자 결합에 영향을 주며 HNF1, NR4A2, ROR α 1 등의 모티프를 형성하는 것을 확인하였다. 그러므로, 이들 3' 말단 UTR에 위치한 SNP들은 단핵구나 호중구에서 *NOD2* 유전자 발현에 영향을 줄 수 있는 가능성이 상당히 있다고 보여진다.

급성 또는 만성염증의 가장 중요한 마커는 C-reactive protein (CRP)와 white blood cell (WBC) 수치라는 사실은 잘 알려져 있다. 최근에 전장유전체분석(Genome-wide association study)을 통해 hepatocyte nuclear factor 1 alpha (*HNF1A*) 유전자에 위치한 rs2393791 SNP이 CRP와 가장 유의한 상관관계를 보이는 유전 변이였고, 17번 염색체에 위치한 proteasome 26S subunits non-ATPase 3 (*PSMD3*)과 colony stimulating factor 3 (*CSF3*) 유전자 사이에 위치한 intergenic SNP인 rs8078723가 백혈구 수치와의 상관관계 유의성이

가장 높은 유전 변이임이 확인되었다(Kong and Lee, 2012). 본 연구에서는 *NOD2* 유전자의 변이들과 혈구 수치인 백혈구 수치, 적혈구 수치, 그리고, 혈소판 수치와의 상관 관계를 조사하였다. 분석 결과에 따르면, 백혈구 수치와 *NOD2* 유전자의 intronic SNP들이 유의성 있는 상관 관계를 보였으나(Bonferroni 보정 값, $P < 0.00218$), 적혈구 수치와 혈소판 수치와는 다중 비교에 의한 오류 보정 후에는 유의 수준을 만족하지는 못 하였다(Table 2). 급성염증에 관여하는 CRP가 백혈구 수치와 강한 연관성을 보인 반면 *NOD2* 유전자와는 전혀 연관성을 나타내지 않았다(Data not shown). 이러한 결과로 유추해 볼 때, *NOD2* 유전자 다형성은 급성염증 보다는 만성적인 염증과 더 관련이 있을 가능성이 크다는 것을 알 수 있고, 이것은 또한 미생물에 대한 선천면역 시스템에 작용하는 세 부류의 기능적 백혈구에 영향을 미친다는 것을 의미하고 있다.

인플라마좀인 NODosome의 역할은 세포 내부의 위험 신호를 감지하는 역할을 수행한다. 세포내 미생물의 침입과 같은 위험한 순간에 세포가 겪는 마지막 고��으로부터 세포는 세포 밖으로 인터루킨을 방출함으로써 염증반응을 유도한다. 대식세포(macrophage)가 내는 IL-6에 의해 간에서 CRP가 생성된다는 점을 고려할 때, 최소한 *NOD2* 단백질이 관여한 인플라마좀인 NODosome의 염증반응과는 생성경로가 서로 틀리기 때문에 CRP와 상관 관계가 없는 것이라고 생각한다. 반면에, 인플라마좀을 형성하는 *NOD2*는 caspase-1 효소가 관여하는 세포사멸(pyroptosis)을 통해서 IL-1 α 등의 사이토카인 등을 방출함으로써 염증반응을 유도한다(Hsu et al., 2008; Bergsbaken et al., 2009).

본 연구에서는 크론병의 원인 유전자인 *NOD2*를 염증의 관점에서 접근하여 백혈구 수치와의 상관 관계를 규명하였다. 최근 논문에 의하면, 이러한 *NOD2* 유전자는 자가포식(Cooney et al., 2010; Travassos et al., 2010)과 관련하여 LRRK2와 밀접하게 관련되어 있으면서 p62/SQSTM-1의 매개로 진행된다는 사실이 알려져 있다(Park et al., 2016; Kalogeropoulou AF 2018). 또한 파킨슨병과 크론병의 연관성을 보고한 연구방향들이 보고되고 있다(Lin et al., 2016; Fujioka et al., 2017). 특히, 신경염증(neuroinflammation)이 파킨슨 병의 메커니즘을 밝히는 중요한 역할을 수행할 것으로 추정된다(Tansey and Goldberg 2010; Kipnis, 2016). 그러므로, 본 연구의 분석 대상이었던 SNP들과 신경염증과의 상관 관계에 대한 자세한 연구가 향후에 수행되어 연관성이 밝혀진다면, *NOD2*의 유전적 다형성이 단순히 백혈구 수치 뿐만 아니라, 만성염증 및 선천면역 시스템, 그리고

파킨슨병과 같은 신경염증과의 관련성에 대해서 체계적으로 이해할 수 있는 근거가 마련될 것으로 기대한다.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) grant (<http://nrf.re.kr>) to H.S.J (NRF-2017R1D1A3B03034752), and to S.P. (NRF-2017R1D1A3B03029902); by a grant from Kyungwoon University (2018) (<http://www.ikw.ac.kr>) to S.P. Epidemiologic data used in this study were from the Korean Genome and Epidemiology Study (KoGES) of the Korea Centers for Disease Control & Prevention, Republic of Korea.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature Reviews Microbiology*. 2009;7: 99.
- Branquinho D, Freire P, Sofia C. *NOD2* mutations and colorectal cancer - Where do we stand? *World Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2016. 8: 284-293.
- Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban HJ, Yoon D, Lee MH, Kim DJ, Park M, Cha SH, Kim JW, Han BG, Min H, Ahn Y, Park MS, Han HR, Jang HY, Cho EY, Lee JE, Cho NH, Shin C, Park T, Park JW, Lee JK, Cardon L, Clarke G, McCarthy MI, Lee JY, Lee JK, Oh B, Kim HL. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nature Genetics*. 2009. 41: 527-534.
- Cooney R, Bake, J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, Ferguson DJ, Campbell BJ, Jewell D, Simmons A. *NOD2* stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nature Medicine*. 2010. 16: 90.
- Fujioka S, Curry SE, Kennelly KD, Tacik P, Heckman MG, Tsuboi Y, Strongosky AJ, van Gerpen JA, Uitti RJ, Ross OA, Ikezu T, Wszolek ZK. Occurrence of Crohn's disease with Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2017. 37: 116-117.
- Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, Philpott DJ, Sansonetti PJ. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP)

- detection. *Journal of Biological Chemistry*. 2003. 278: 8869-8872.
- Kalogeropoulou AF, Zhao J, Bolliger MF, Memou A, Narasimha S, Molitor TP, Wilson WH, Rideout HJ, Nichols RJ. p62/SQSTM1 is a novel Leucine Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) substrate that enhances neuronal toxicity. *Biochemical Journal*. 2018. BCJ20170699.
- Kipnis J. Multifaceted interactions between adaptive immunity and the central nervous system. *Science*. 2016. 353: 766-771.
- Kong M, Lee C. Genetic associations with C-reactive protein level and white blood cell count in the KARE study. *International Journal of Immunogenetics*. 2013. 40: 120-125.
- Hsu LC, Ali SR, McGillivray S, Tseng PH, Mariathasan S, Humke EW, Eckmann L, Powell JJ, Nizet V, Dixit VM, Karin M. A NOD2-NALP1 complex mediates caspase-1-dependent IL-1 β secretion in response to *Bacillus anthracis* infection and muramyl dipeptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. 105: 7803-7808.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001. 411: 599.
- Li Y, Willer CJ, Ding J, Scheet P, Abecasis GR. MaCH: using sequence and genotype data to estimate haplotypes and unobserved genotypes. *Genetic Epidemiology*. 2010. 34: 816-834.
- Lin JC, Lin CS, Hsu CW, Lin CL, Kao CH. Association between Parkinson's disease and inflammatory bowel disease: a nationwide Taiwanese retrospective cohort study. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2016. 22: 1049-1055.
- Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2011. 11: 519.
- McHeyzer-Williams LJ, McHeyzer-Williams MG. Antigen-specific memory B cell development. *Annual Reviews Immunology*. 2005. 23: 487-513.
- Medzhitov R, Janeway Jr CA. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Current Opinion in Immunology*. 1997. 9: 4-9.
- Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biology*. 2002. 3: reviews0004.1-reviews-0004.10.
- Moehle MS, Webber PJ, Tse T, Sukar N, Standaert DG, DeSilva TM, Cowell RM, West AB. LRRK2 inhibition attenuates microglial inflammatory responses. *Journal of Neuroscience*. 2012. 32: 1602-1611.
- Park S, Han S, Choi I, Kim B, Park SP, Joe EH, Suh YH. Interplay between leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) and p62/SQSTM-1 in selective autophagy. *PLOS One*. 2016. 11: e0163029.
- Pétrilli V, Dostert C, Muruve DA, Tschopp J. The inflammasome: a danger sensing complex triggering innate immunity. *Current Opinion in Immunology*. 2007. 19: 615-622.
- Pruim RJ, Welch RP, Sanna S, Teslovich TM, Chines PS, Gliedt TP, Boehnke M, Abecasis GR, Willer CJ. LocusZoom: regional visualization of genome-wide association scan results. *Bioinformatics*. 2010. 26: 2336-2337.
- Tansey MG, Goldberg MS. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiology of Disease*. 2010. 37: 510-518.
- Ting JPY, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, Flavell RA, Girardin SE, Godzik A, Harton JA, Hoffman HM, Hugot JP, Inohara N, Mackenzie A, Maltais LJ, Nunez G, Ogura Y, Otten LA, Philpott D, Reed JC, Reith W, Schreiber S, Steimle V, Ward PA. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity*. 2008. 28: 285-287.
- Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhães JG, Yuan L, Soares F, Chea E, Le Bourhis L, Boneca IG, Allaoui A, Jones NL, Nuñez G, Girardin SE, Philpott DJ. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nature Immunology*. 2010. 11: 55.
- Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nature Reviews Immunology*. 2007. 7: 179.
- Wilkins C, Gale Jr M. Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. *Current Opinion in Immunology*. 2010. 22: 41-47.
- Zipfel C. Plant pattern-recognition receptors. *Trends in Immunology*. 2014. 35: 345-351.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2018.24.4.334>

Cite this article as: Jin HS, Park S. The Genetic Variations of *NOD2* Are Associated With White Blood Cell Counts. *Biomedical Science Letters*. 2018. 24: 334-340.