

Association between *ITGB2* Genetic Polymorphisms and Tuberculosis

Hyun-Seok Jin, Sang-In Lee, Sangjung Park

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

ITGB2 유전자 다형성과 결핵 사이의 연관성 연구

진현석, 이상인, 박상정

호서대학교 생명보건대학 임상병리학과

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), but the genes associated with the host immune system can be attributed to the development of TB. The *ITGB2* gene encodes the integrin beta 2 chain CD18 protein and is present on chromosome 21. The integrin beta 2 chain is an integrin expressed in leukocytes and plays a very important role in leukocyte maturation and attachment. *ITGB2* plays an important role in the phagocytosis of MTB and the aggregation of leukocytes in MTB infections. This study examined the genetic polymorphisms of the *ITGB2* gene between the TB case and normal control using Korean genomic and epidemiologic data. As a result, a statistically significant correlation was confirmed in 10 SNPs. The most significant SNP was rs113421921 (OR=0.69, CI: 0.53~0.90, $P=5.8 \times 10^{-3}$). In addition, rs173098, one of the significant 10 SNPs, is possibly located in a binding motif with the transcription factor cofactor p300, and can affect *ITGB2* gene expression. These findings suggest that the pathogenesis of TB may be influenced by a range of genetic factors related to the immune function of the host, e.g., the reactions associated with the recruitment and attachment of leukocytes. The results of this study could be used to predict the infection control for tuberculosis in a patient-tailored manner.

Key words: CD18, Genetic association study, *ITGB2*, *Mycobacterium tuberculosis*, SNP

Corresponding author: Sangjung Park
Department of Biomedical Laboratory Science,
College of Life and Health Sciences, Hoseo
University, 20 Hoseo-ro 79 Beon-gil, Asan
31499, Korea
Tel: 82-41-540-9967
Fax: 82-41-540-9997
E-mail: sangjung@hoseo.edu

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Received: May 1, 2018
Revised: May 15, 2018
Accepted: May 22, 2018

Copyright © 2018 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

서론

결핵은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 감염으로 발병하는 감염성 질환이다. 이러한 결핵의 발병은 특정 인종 및 민족, 가족력 간의 다른 비율로 결핵이 발생하게 되는데 이러한 발병의 요인에는 숙주의 유전적 차이에 따른 원인이 작용하게 된다. MTB가 생존할 수 있는 환경과 숙주 사이의 유전적 인자는 복잡한 상호 작용을 통하여 결핵 발병에 중요한 역할을 하게 된다[1]. 숙주의 유전적 요인은 적어도 MTB에 대한 감염

의 위험성을 나타 낼 수 있다. 이전에 수행한 쌍둥이를 이용한 연구와 Genome-Wide Association Study (GWAS) 등을 통하여 숙주의 유전적 차이가 MTB에 대한 감수성에 영향을 줄 수 있음을 시사하고 있다[2-6].

ITGB2 유전자는 integrin beta 2 chain인 CD18 단백을 암호화하고 있고, 염색체 21q22.3에 위치하고 있다[7]. Beta 2 인테그린은 백혈구에서 발현하는 중요한 결합단백이자 신호전달을 담당하고 있는 단백질이다. 4 가지 $\beta 2$ 인테그린은 면역 세포 기능의 세 가지 주요 측면을 조절하는 데 중요한 역할을 한다.

CD18 단백질은 $\beta 2$ 인테그린 중 beta subunit을 담당하고 있으며 이는 4가지의 alpha subunit과 결합하여 receptor를 형성하고, 면역반응에 관여하는 리간드와 결합한다. 또한 beta 2 integrin은 수지상세포와 단핵구, 대식세포의 기능을 조절하는 역할을 수행한다고 알려져 있다[8]. 그 중 CD11b와 CD18로 이루어진 Complement receptor 3 (CR3)는 MTB 감염 시 사람의 대식세포와 단핵구에서 발현하며, CR1과 CR4와 함께 MTB의 탐식작용 하는데 CR3를 통한 옉소닌화를 담당하는 것으로 알려져 있다[9]. 뿐만 아니라 MTB에 감염된 수지상세포는 내피세포에 CD18 발현이 감소하여 내피세포에 대한 결합력이 감소된다고 보고하고 있다[10].

따라서 본 연구에서는 한국인 유전체 역학조사 사업의 일환으로 조사를 실시한 코호트 자료를 활용하여 과거 결핵 발병이 있었던 환자군과 질병이 없는 건강 대조군을 설정하고, 환자군과 건강 대조군 사이에서 *ITGB2* 유전자의 유전적 다형성이 결핵 발병에 영향을 주었는지 확인하고자 유전적 변이에 대한 상관성 분석을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상자

본 연구를 위한 한국인 연구대상자는 한국인 유전체 역학 조사 사업(Korean Genome and Epidemiology Study, KoGES)의 일환인 Korean Association Resource (KARE)를 기반으로 하였다[11]. 이때 사용한 유전체 자료는 질병관리본부 인체자원은행에서 분양을 받아 분석을 하는데 사용하였다(17070301-01-01). 본 연구에서 사용한 연구대상자의 선별은 이전 연구와 동일하게 설정하였다[12]. 요약하자면 환자군은 과거에 결핵 진단을 받았던 443명을 대상으로 하였고, 그 외의 특별한 질환이 없는 3,228명을 건강 대조군으로 선정하여 본 연구에 활용하였다. 본 연구에 활용한 유전정보는 질병관리본부(KNIH)와 호서대학교에서 연구윤리 승인을 받은 후 수행하였다(1041231-170418-HR-056-02).

2. 유전형 분석과 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 선별

자세한 유전형 판독과 QC 과정은 앞서 발표된 논문[11]에 잘 기술되어 있다. 본 연구에서 분석한 *ITGB2* 유전자 전사체 영역에 존재하는 9개의 SNP는 KARE 유전형 자료에서 선별하였다. 유전자 전사체 영역의 양 말단에서 5 kb씩 확장하여 이 범위에 존재하는 SNP를 분석에 대상으로 사용하였다. 선별된 SNP의

염색체 상의 위치는 NCBI human genome build 36를 기준으로 하였다. 뿐만 아니라 77개의 imputed SNP를 MACH 1.0.16을 활용하여 선별하였다(Table 1).

3. 상관성 분석과 통계 분석

대부분의 통계 분석에는 PLINK version 1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink>)과 PASW Statistics version 18.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 로지스틱 회귀 분석이 결핵 환자군과 건강 대조군에 대한 유전적 변이와의 상관성 분석에 사용되었다. 상관성 분석은 additive genetic model을 기반으로 하였고, 유의수준은 0.05 이하를 기준으로 하였다. Haploview version 4.2 (Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, USA) 프로그램을 사용하여 KARE 유전형 정보를 바탕으로 연관불균형(linkage disequilibrium) 블록 구조를 확인하였다. 또한 인터넷을 기반으로한 LocusZoom Version 1.1 (<http://csg.sph.umich.edu/locuszoom/>)의 ASN(Asian) population panel을 활용하여 SNP간의 regional association plot을 확인하였다. 또한, *ITGB2*의 결핵 발병과 관련된 생물학적 pathway를 검색하기 위해서 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, www.genome.jp/kegg/pathway.html) database를 활용하여 *ITGB2*가 결핵에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

결 과

1. 연구 대상자 정보

KARE 코호트 기반의 결핵 환자군 443명과 건강 대조군 3,288명에 대한 기본적인 정보는 지난 연구결과에서 확인할 수 있다. 간략히 언급하자면, 결핵 환자군의 평균 연령은 51.0세이고, 건강 대조군은 51.6세로 유의한 차이가 없었다. 그러나, 두 그룹에서 남성의 비율이 건강 대조군에서는 여성의 비율과 유사하였으나, 결핵 환자군에서는 남성이 61.2%로 높은 비율을 보이고 있었다.

2. *ITGB2* 유전자 영역의 SNP 선별과 상관성 분석 결과

ITGB2 유전자 전사체 영역에서 양방향으로 각각 5kb씩 확장한 영역에서 9개의 genotyped SNPs와 77개의 imputed SNPs를 확인할 수 있었다(Table 1). 이렇게 선별된 *ITGB2* 유전자의 총 86개 SNPs를 대상으로 결핵 환자군과 건강 대조군에 대한 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 10개의 SNP에서 통계적으로 유의한 상관관계를 보이고 있었다. 그 중 genotyped SNP

Table 1. Associations between the 86 SNPs in the *ITGB2* gene and tuberculosis in KARE subjects

No.	SNP	Consequence to transcript	BP	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	Additive <i>P</i> value
						Cases (N=443)	Control (N=3,228)		
I1	rs2164072	intergenic	46301008	C	A	0.214	0.205	1.07 (0.90~1.27)	0.465
I2	rs34897870	intergenic	46301426	G	A	0.414	0.397	1.07 (0.93~1.24)	0.330
I3	rs440555	intergenic	46301742	A	G	0.143	0.146	0.98 (0.80~1.21)	0.881
I4	rs441019	intergenic	46302029	A	T	0.494	0.496	0.96 (0.84~1.11)	0.603
I5	rs2117340	intergenic	46302367	T	G	0.101	0.113	0.87 (0.69~1.10)	0.247
I6	rs2117341	intergenic	46302393	A	G	0.117	0.120	0.97 (0.78~1.21)	0.770
I7	rs760434	intergenic	46302858	A	G	0.010	0.011	0.88 (0.44~1.78)	0.722
I8	rs760435	intergenic	46302872	C	T	0.357	0.350	1.03 (0.89~1.20)	0.670
I9	rs7280520	intergenic	46303335	A	G	0.357	0.350	1.03 (0.89~1.20)	0.670
I10	rs142527317	intergenic	46303373	A	G	0.010	0.011	0.88 (0.44~1.78)	0.722
I11	rs125810	intergenic	46303649	A	G	0.357	0.350	1.03 (0.89~1.20)	0.670
I12	rs13053009	intergenic	46304314	A	G	0.101	0.115	0.86 (0.68~1.08)	0.192
I13	rs381406	intergenic	46304355	G	T	0.357	0.350	1.03 (0.89~1.20)	0.670
I14	rs113221535	downstream	46305400	C	T	0.213	0.203	1.07 (0.90~1.28)	0.454
I15	rs113421921	downstream	46305438	T	C	0.073	0.103	0.69 (0.53~0.90)	5.8×10⁻³
I16	rs28568877	downstream	46305627	C	T	0.157	0.152	1.04 (0.85~1.27)	0.691
I17	rs1160263	3' UTR	46306138	T	G	0.212	0.204	1.06 (0.89~1.26)	0.538
G1	rs684	3' UTR	46306161	T	C	0.078	0.103	0.73 (0.56~0.95)	0.018
I18	rs235375	intronic	46306472	G	C	0.078	0.103	0.73 (0.56~0.95)	0.018
I19	rs33973568	intronic	46306594	A	G	0.414	0.395	1.08 (0.94~1.25)	0.280
I20	rs180318	intronic	46307495	T	C	0.143	0.146	0.98 (0.80~1.20)	0.867
I21	rs173098	intronic	46307551	A	G	0.079	0.103	0.74 (0.57~0.96)	0.025
I22	rs35871743	intronic	46307748	G	A	0.101	0.115	0.86 (0.68~1.08)	0.192
I23	rs138576253	intronic	46307884	A	C	0.010	0.011	0.88 (0.44~1.78)	0.722
I24	rs235377	intronic	46308212	A	G	0.143	0.146	0.98 (0.80~1.21)	0.879
I25	rs138169057	intronic	46308270	T	C	0.010	0.011	0.88 (0.44~1.78)	0.722
I26	rs2075883	intronic	46310445	A	G	0.056	0.079	0.69 (0.51~0.94)	0.018
I27	rs34675004	intronic	46310669	T	G	0.084	0.108	0.75 (0.58~0.97)	0.026
I28	rs7281466	intronic	46312383	T	A	0.093	0.115	0.79 (0.62~1.00)	0.050
I29	rs2230529	intronic	46313442	T	G	0.095	0.117	0.80 (0.63~1.01)	0.059
I30	rs1970054	intronic	46314584	C	G	0.095	0.116	0.80 (0.63~1.01)	0.060
I31	rs2838725	intronic	46315022	T	C	0.095	0.117	0.80 (0.63~1.01)	0.059
G2	rs2838726	intronic	46315091	T	C	0.095	0.117	0.80 (0.63~1.01)	0.059
I32	rs55965820	intronic	46315423	T	C	0.095	0.117	0.80 (0.63~1.01)	0.059
I33	rs2838727	intronic	46315907	T	C	0.093	0.116	0.78 (0.61~0.99)	0.043
I34	rs9979014	intronic	46316338	T	C	0.093	0.116	0.78 (0.61~0.99)	0.043
I35	rs3788142	intronic	46316640	A	G	0.086	0.108	0.77 (0.60~0.99)	0.044
I36	rs55865320	intronic	46321659	A	C	0.036	0.048	0.75 (0.51~1.09)	0.126
I37	rs4607021	intronic	46322487	A	G	0.488	0.470	1.08 (0.93~1.25)	0.295
I38	rs116673857	intronic	46322555	A	C	0.029	0.044	0.67 (0.44~1.01)	0.055
I39	rs17004715	intronic	46323273	A	G	0.030	0.044	0.69 (0.46~1.04)	0.073
G3	rs2838733	intronic	46323731	C	T	0.288	0.293	0.97 (0.83~1.13)	0.663
I40	rs59498405	intronic	46325056	T	C	0.028	0.029	0.92 (0.59~1.41)	0.688
I41	rs2072702	intronic	46327287	A	G	0.494	0.471	1.11 (0.96~1.28)	0.179
I42	rs760462	intronic	46328099	T	C	0.246	0.257	0.93 (0.79~1.10)	0.422
I43	rs73906941	intronic	46328238	C	G	0.034	0.046	0.74 (0.50~1.09)	0.128
I44	rs73906942	intronic	46328239	A	T	0.034	0.046	0.74 (0.50~1.09)	0.128
I45	rs116941926	intronic	46328543	A	G	0.028	0.043	0.65 (0.43~0.99)	0.043
I46	rs760459	intronic	46328835	A	T	0.254	0.269	0.92 (0.78~1.08)	0.301
I47	rs78679639	intronic	46328856	T	C	0.025	0.038	0.65 (0.42~1.01)	0.056
I48	rs760457	intronic	46329312	T	C	0.442	0.439	1.02 (0.88~1.18)	0.789
I49	rs760456	intronic	46329415	G	C	0.442	0.439	1.02 (0.88~1.17)	0.798
I50	rs3788146	intronic	46329620	G	A	0.190	0.178	1.10 (0.92~1.32)	0.293

Table 1. Continued

No.	SNP	Consequence to transcript	BP	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	Additive P value
						Cases (N=443)	Control (N=3,228)		
G4	rs3788147	intronic	46329669	C	T	0.193	0.179	1.12 (0.93~1.33)	0.230
I51	rs34580582	intronic	46330183	C	T	0.028	0.039	0.71 (0.47~1.09)	0.115
I52	rs33910938	intronic	46331664	A	G	0.191	0.175	1.13 (0.94~1.35)	0.186
I53	rs13052421	intronic	46332685	G	A	0.289	0.317	0.87 (0.74~1.02)	0.084
I54	rs3788149	intronic	46333444	G	C	0.021	0.032	0.66 (0.41~1.06)	0.088
I55	rs77958571	intronic	46333486	G	A	0.021	0.032	0.66 (0.41~1.06)	0.088
I56	rs3788150	intronic	46333802	T	G	0.291	0.318	0.88 (0.75~1.02)	0.097
I57	rs13047425	intronic	46334993	T	C	0.190	0.178	1.10 (0.92~1.32)	0.299
I58	rs13050770	intronic	46335401	T	C	0.190	0.178	1.10 (0.92~1.32)	0.299
I59	rs78070573	intronic	46335431	T	C	0.020	0.029	0.69 (0.42~1.13)	0.140
G5	rs2838737	intronic	46335580	T	C	0.291	0.318	0.88 (0.75~1.02)	0.097
I60	rs13051783	intronic	46335940	C	A	0.191	0.178	1.11 (0.93~1.33)	0.264
I61	rs7282310	intronic	46336166	C	G	0.275	0.294	0.91 (0.77~1.07)	0.234
G6	rs1474552	intronic	46337290	C	T	0.199	0.201	0.99 (0.83~1.19)	0.933
G7	rs9976299	intronic	46338651	T	C	0.147	0.133	1.11 (0.91~1.36)	0.289
I62	rs8130796	intronic	46338850	G	A	0.450	0.429	1.09 (0.95~1.26)	0.212
I63	rs149621562	intronic	46338937	T	C	0.440	0.421	1.08 (0.94~1.25)	0.275
I64	rs75817923	intronic	46338938	G	A	0.440	0.422	1.08 (0.94~1.24)	0.281
I65	rs76696735	intronic	46338942	T	G	0.441	0.422	1.09 (0.94~1.25)	0.254
I66	rs145192238	intronic	46338944	G	A	0.440	0.422	1.08 (0.94~1.24)	0.281
I67	rs3859733	intronic	46339059	G	A	0.448	0.426	1.09 (0.95~1.26)	0.213
I68	rs2006271	intronic	46339111	C	T	0.448	0.426	1.09 (0.95~1.26)	0.213
I69	rs73906946	intronic	46339140	T	C	0.173	0.157	1.12 (0.93~1.36)	0.240
I70	rs2017725	intronic	46339435	G	A	0.448	0.427	1.09 (0.95~1.25)	0.220
I71	rs760454	intronic	46340080	C	T	0.448	0.427	1.09 (0.95~1.25)	0.220
I72	rs7278533	intronic	46340423	A	G	0.149	0.138	1.09 (0.90~1.33)	0.377
I73	rs760453	intronic	46340512	A	G	0.448	0.427	1.09 (0.95~1.25)	0.220
I74	rs760452	intronic	46340641	C	T	0.449	0.430	1.08 (0.94~1.25)	0.259
G8	rs2070947	intronic	46340843	G	A	0.248	0.274	0.87 (0.74~1.03)	0.108
I75	rs3761395	intronic	46342091	T	C	0.152	0.141	1.09 (0.90~1.33)	0.383
G9	rs2838738	intronic	46344426	G	A	0.448	0.427	1.09 (0.95~1.25)	0.235
I76	rs2838739	intronic	46344650	G	A	0.448	0.427	1.09 (0.95~1.25)	0.235
I77	rs2838740	intronic	46344688	C	T	0.448	0.428	1.09 (0.94~1.25)	0.249

P-values of <0.05 are indicated in bold. Abbreviations: A1, minor allele; A2, major allele; BP, base pair; CI, confidence interval; G of no., genotyped number of SNP; I of no., imputed number of SNP; KARE, Korean Association Resource; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism. The SNP positions are based on NCBI Build 36 human genome assembly.

는 하나의 SNP에서 유의한 결과를 보였고, 다른 9개는 imputed SNP에서 유의한 결과를 보였다. 가장 높은 유의 수준($P=5.8 \times 10^{-3}$)을 보이는 SNP은 rs113421921으로 상대적 위험도는 0.69에 신뢰구간은 0.53~0.90을 보이고 있었다.

rs113421921의 minor allele frequency (MAF)를 살펴보면, 결핵 환자군에서는 T 염기의 빈도가 7.3%이고, 대조군에서는 10.3%로 빈도의 차이가 있어서 rs113421921의 T 염기를 보유할 경우에 결핵 발생을 감소시키는 방향으로의 상관성이 존재하였다. 또 다른 유의한 결과를 보여주는 9개의 SNPs도 역시 minor allele 가질 경우에 상대적 위험도가 낮아지는 경향을 보여주고 있었다(Table 1).

3. *ITGB2* 유전자 SNP의 Linkage disequilibrium (LD) 구조

Haploview 프로그램을 사용하여 상관 분석에 사용한 *ITGB2* 유전자 영역 중 3'쪽의 36개 SNP에 대해 LD 구조를 확인하였다(Figure 1). 그 결과 27개의 SNP 들이 하나의 LD 블록을 형성하고 있었다. 다른 9개의 SNP가 또 다른 LD 블록을 형성하는 것을 확인할 수 있었다. 이 중 상관 분석에서 가장 유의성이 높았던 rs113421921는 또 다른 4개의 SNP (rs684, rs235375, rs173098, rs2075883)와 함께 Block 1을 형성하는 것을 확인할 수 있었고, 또 다른 3개의 유의성이 있는 SNP (rs34675004, rs2838727, rs9979014)가 Block2를 형성하는 것을 확인하였다. 이를 통해 연관성 있는 SNPs들이 각각의 Block에서 존재하

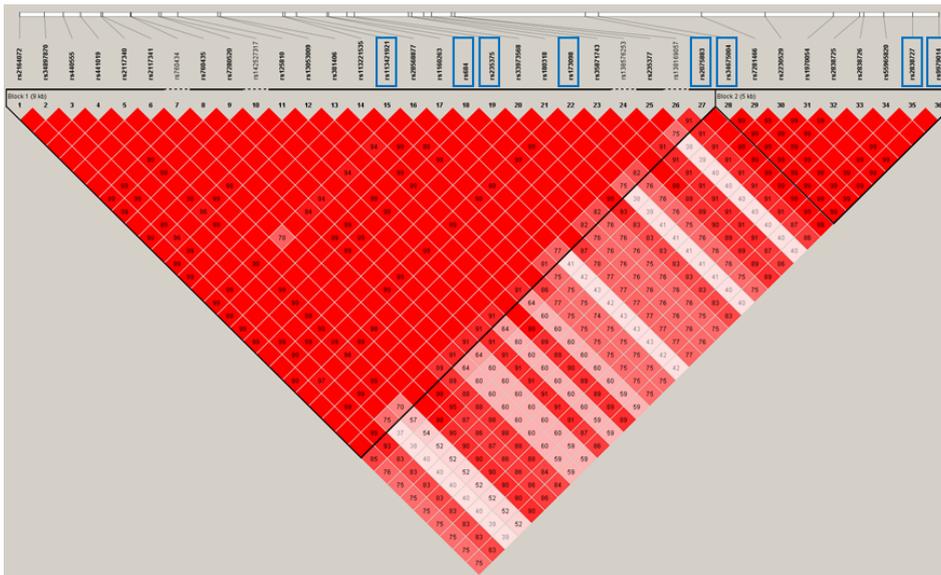


Figure 1. Linkage disequilibrium of *ITGB2* SNP on chromosome 21. The LD structure was confirmed for 36 SNPs at the 3' terminus of *ITGB2* gene. The 36 SNPs and LD structure were shown by a Hapview of LD (r^2) based on genotyping data from 8,842 KARE subjects and are generated by using the Hapview program. Of the eight SNPs with significance, five SNPs belong to Block 1, and three SNPs belong to Block 2.

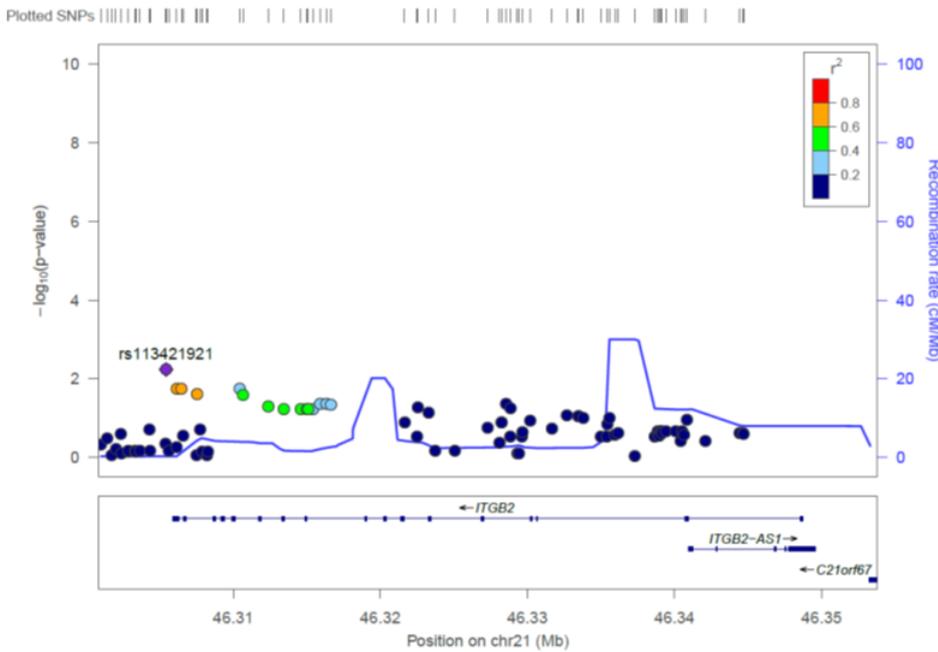


Figure 2. Associations between *ITGB2* SNPs and tuberculosis case in Korean. The positions of the SNPs are shown at the top of the figure, and associations between SNPs in the *ITGB2* gene and tuberculosis in Korean subjects are shown in the middle. The statistical significances ($-\log_{10} P$ -value) of associations with the genotyped and imputed SNPs are plotted. The recombination rates estimated using HapMap ASN population data is shown by a blue line. The purple diamond with a SNP number represents the SNP most strongly associated with tuberculosis, and its correlations with other SNPs are shown by colors indicating the levels of linkage disequilibrium (r^2). At the bottom of the figure, the nucleotide position of the *ITGB2* gene on chromosome 21 (NCBI build 36) is shown.

는 것을 알 수 있었다.

또한 regional plot 결과에서도 크게 세 개의 영역으로 나뉘어 SNP들이 서로 연관성이 있다는 것을 알 수 있었고, 가장 높은 유의성이 있는 rs113421921와 *ITGB2* 유전자의 3'말단에 있는 SNP들과 연관성이 매우 높은 것을 확인할 수 있었다. 이는 *ITGB2* 유전자와 결핵 발생 사이에 연관성이 있다는 사실을 뒷받침해 준다(Figure 2).

4. *ITGB2* 유전자의 KEGG pathway 검색 결과

ITGB2 유전자의 결핵 발생과의 관련성에 대해 생물학적 pathway 관점에서 살펴 보고자 KEGG database에서 검색해 보았다. 결과는 이전 연구에서 확인 했던 cell adhesion molecule 신호전달 경로에서 항원제시세포 (antigen presenting cells:APC)와 T 세포의 결합이나 Cytotoxic T세포와 감염세포가 결합하는데 있어서 *ITGB2*가 T 세포 receptor signaling pathway의 결합에 중요한 역할을 하고 있는 것을 확

인할 수 있었다. 뿐만 아니라 대식세포나 수지상세포가 MTB 탐식 작용에 있어서 CD11c/CD18과 CD11b/CD18을 활용한다는 것을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구에서는 *ITGB2* 유전자의 연관성 연구를 통하여 86개의 SNPs에서 결핵이 발병했던 환자군과 건강 대조군 사이에 유전 변이의 빈도 차이를 확인해 보았다. 그 결과 10 개의 SNP에서 통계적으로 유의한 수준의 빈도 차이가 있는 것을 확인할 수 있었다. 특히 가장 유의성이 있는 SNP는 rs113421921인 것을 확인할 수 있었다. 이 SNP는 Figure 2에서 확인 할 수 있듯이 *ITGB2* 유전자의 3' 말단의 다른 SNP과 0.6 이상의 높은 r^2 값을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 이번 연구 결과에서 유의성이 있다고 나타난 SNP들은 모두 minor allele를 가질 경우 상대적 위험도가 감소하는 방향으로 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라 Figure 1의 LD plot 결과에서도 서로 다른 2개의 block에 유의성을 갖는 SNP 들이 각각 분포 하고 있는 것을 확인할 수 있었고 이를 통하여 *ITGB2* 내에 존재하는 SNP 들이 결핵 발병과 통계적으로 유의한 상관 관계가 있다는 것을 확인할 수 있었다.

이러한 intronic SNP들이 어떻게 *ITGB2* 유전자나 단백질 발현에 영향을 줄 수 있는지에 대해서 RegulomeDB (<http://www.regulomedb.org/index>)로 확인해 보았다. 그 결과 T 세포 혹은 단핵구에서 rs173098, rs2075883, rs3788142의 세계의 SNP들에서 전사인자가 결합하고, DNase peak 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 rs173098는 전사 보조인자인 p300에 대한 motif로 작용하는 영역에서 나타나는 것을 알 수 있었다. 따라서 이러한 SNP의 유전적 다형성은 *ITGB2*의 단백질 발현 혹은 단백질의 2차 구조에 영향을 줄 수 있는 가능성을 보여주고 있었다.

면역 반응에서 인테그린은 다른 세포와의 상호 작용을 하는데 있어서 중요한 신호 전달 단백질이다. 이러한 상호 작용은 세포 외 기질 단백질 및 세포 표면 리간드를 통하여 일어나게 된다 [13]. 특히 beta 2 인테그린은 백혈구에서만 발견되기 때문에 면역계에서 매우 중요하다. Beta 2 인테그린은 림프조직과 염증조직으로 백혈구의 모집과, 백혈구 구르기 후 혈관 외로 백혈구가 유출하는 것을 매개한다 [14]. 또한 면역학적 시냅스 형성을 포함한 백혈구사이의 세포 상호 작용을 수행하며 [15], Toll like receptor (TLR)에 의한 세포 내 신호 전달 체계에 따른 세포 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다 [16].

특히 MTB에 감염된 수지상세포는 *ITGB2*의 발현을 억제하고 이를 통하여 백혈구 사이의 신호 전달 체계를 억제하여, 감염된 세포의 항원 제시 능력을 억제하며, cytokine의 분비를 억제하고, 결국 MTB에 대한 초기 면역 반응을 억제한다고 알려져 있다 [17]. 수지상세포 뿐만 아니라 대식세포에서는 beta 2 인테그린 subunit인 CD18과 결합하는 4가지의 alpha subunit (α L-CD11a, α M-CD11b, α X-CD11c, and α D-CD11d)들이 4가지의 receptor를 형성한다. 그 receptor들은 Leukocyte function associated antigen-1 (LFA-1), Macrophage-1 antigen (MAC-1)/Complement receptor 3 (CR3), Complement receptor 4 (CR4) 그리고 CD18/CD11d등으로 형성된다. 이 receptor들을 공통적으로 Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1)을 리간드로 인지하여 결합하는 것으로 알려져 있다. ICAM-1은 MTB 감염에 있어서 육아종을 형성하는데 중요한 역할을 수행하는 단백질로 ICAM-1을 knock out 한 마우스에서 대식세포의 세포 집합 현상이 일어나지 않아 마우스가 쉽게 사멸하는 것을 확인한 바 있다 [18]. 또 다른 연구에서는 MTB에 감염된 대식세포에서 MAC-1과 ICAM-1의 발현이 증가하는 현상을 확인 하기도 하였다 [19]. 뿐만 아니라 CR3와 CR4 또한 MTB의 LAM과 반응하여 대식세포에 탐식작용을 수행하여 MTB 사멸을 유도한다는 보고도 있다 [20, 21]. 이는 우리가 KEGG pathway에서 볼 수 있었던 MTB 감염 시 *ITGB2*의 역할과 동일하다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 보고를 통하여 *ITGB2*의 유전적 다형성은 결핵 발병에 있어서 수지상세포 및 대식세포의 세포 집합 과정 및 MTB의 탐식 작용에 영향을 줄 수 있고, 이를 통하여 결핵 발병에 대한 차이를 유도 할 수 있을 것이라고 생각한다.

또한 이번 연구에서 결핵발병과 유의성이 있다고 알려진 SNP 중 rs684의 경우 *ITGB2* 유전자의 3' 말단 쪽 비 해독 영역에 존재하고 있는 SNP인데 이는 NCBI에서 제공하는 ClinVar에 의하면 Leukocyte adhesion deficiency (LAD)의 질병과 Likely benign 으로 연관되어 있다고 알려져 있다 (<https://preview.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/340134/>). 이는 이 SNP에 C염기에서 T염기로 치환되었을 경우 LAD를 유발하는데 이 SNP가 영향을 줄 수 있다는 것을 의미한다. 이 질병은 백혈구의 부착 단백질이 발현되지 않는 유전적 질병으로 이 병이 발현하게 되면 감염에 있어서 백혈구들이 감염된 곳으로 이동할 수 없기 때문에 감염에 쉽게 노출 될 수 있는 것으로 알려져 있다 [22]. 본 연구에서는 결핵이 발병했던 환자군과 건강 대조군 사이의 rs684의 유전형 빈도 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 이는 이러한 유전적 양상의 차이가 MTB 감염에 대항 할 수

있는 백혈구들의 신호 전달이나 부착 등에 영향을 줄 수 있을 것이라고 생각한다.

유전적 다형성과 질병과의 상관 관계를 분석하여 특정 질병 발병에 영향을 주는 유전적 다형성에 대한 연구는 국내에서 활발하게 진행되고 있다[23]. 그 중 결핵은 감염성 질환이지만 현재 결핵의 발병에는 숙주세포의 다양한 유전적 차이가 결핵 발병에 영향을 미친다고 예상하고 있는 연구가 많이 진행되고 있다[1, 24-26]. 본 연구팀은 이전연구에서 *CD226* 유전자가 결핵 발병에 미치는 영향에 대해서 언급한 바 있다. 특이 이 유전자는 NK cell과 T 세포가 항원을 인지하고 제거하는데 있어서 중요한 역할을 한다고 언급한 바 있다[12]. 본 연구에서는 이와 관련하여 *CD226*과 결합하는 인자 중 하나인 *ITGB2*의 유전적 다형성 역시 결핵 발병과 연관이 있는 것을 확인하였다. 이를 통하여 결핵 발병은 어떤 하나의 원인이 아니라 다양한 숙주의 면역 체계의 유전적 다형성이 영향을 미칠 수 있다고 생각한다. 본 연구결과를 활용하여 결핵 발병에 영향을 줄 수 있는 사람의 유전적 인자에 대해 알아보고, 이를 통해 MTB에 대한 각 개인의 감염의 과정 및 결과의 차이를 이해하는데 중요한 기반이 될 수 있을 것으로 기대한다.

요약

결핵은 본질적으로 MTB에 의해 발생하는 감염성 질환이지만 발병의 과정에는 숙주의 면역계와 연관성 있는 하는 유전자가 관여한다. *ITGB2* 유전자는 인테그린 beta 2 chain인 CD18 단백질을 암호화 하고 있는 유전자로 염색체 21번에 존재하고 있다. 인테그린 beta 2 chain은 백혈구에서 발현하는 인테그린으로 백혈구의 성숙 및 부착에 매우 중요한 역할을 수행하는 단백질이다. *ITGB2*는 결핵 발병에서 MTB의 탐식과 백혈구의 집합에도 중요한 역할을 수행한다고 알려졌다. 따라서 이번 연구는 한국인의 유전체 데이터를 활용하여 결핵 발생 환자들의 정상 대조군 사이에서 *ITGB2*의 유전적 다형성의 빈도에 통계적으로 유의한 차이가 존재하는지를 알아보고자 하였다. 그 결과 10개의 SNP에서 유의한 상관관계를 확인할 수 있었다. 가장 유의성 있는 SNP는 rs113421921 였다 (OR=0.69, CI: 0.53 ~ 0.90, $P=5.8 \times 10^{-3}$). 또한 rs173098의 경우는 전사 보조인자 인 p300이 결합할 가능성이 있는 염기서열이 존재하여 유전적 다형성에 따라 *ITGB2* 유전자 발현에 영향을 미칠 수 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 결핵의 발병 기전이 백혈구 집합이나 부착과 같은 숙주의 면역 기능과 관련된 다양한 유전적 요인에 의해 영향을 받을 수 있음을 시사한다. 이 연구결과는 결핵

의 발병에 숙주 면역계의 유전자들이 영향을 줄 수 있다고 볼 수 있다. 이러한 결과들을 통해 MTB 감염에 대해 각 사람들 별로 감염의 진행과정과 결과에 차이를 가져다 주는 유전적 배경에 대한 이해에 기반을 제공할 것으로 기대한다.

Acknowledgements: This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF), funded by Ministry of Sciences, ICT & Future Planning (2017R1C1B5016589). 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: None

REFERENCES

1. Moller M, Hoal EG. Current findings, challenges and novel approaches in human genetic susceptibility to tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2010;90:71-83. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2010.02.002>.
2. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. *Am Rev Respir Dis*. 1978;117:621-624.
3. van der Eijk EA, van de Vosse E, Vandenbroucke JP, van Dissel JT. Heredity versus environment in tuberculosis in twins: the 1950s United Kingdom Prophit Survey Simonds and Comstock revisited. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176:1281-1288. <https://doi.org/10.1164/rccm.200703-435OC>.
4. Miller EN, Jamieson SE, Joberty C, Fakiola M, Hudson D, Peacock CS, et al. Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. *Genes Immun*. 2004;5:63-67. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364031>.
5. Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, Ridruechai C, Matsushita I, Ohashi J, et al. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun*. 2009;10:77-83. <https://doi.org/10.1038/gene.2008.81>.
6. Mahasirimongkol S, Yanai H, Mushiroda T, Promphittayarat W, Wattanapokayakit S, Phromjai J, et al. Genome-wide association studies of tuberculosis in Asians identify distinct at-risk locus for young tuberculosis. *J Hum Genet*. 2012;57:363-367. <https://doi.org/10.1038/jhg.2012.35>.
7. Arnaout MA. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood*. 1990;75:1037-1050.
8. Schittenhelm L, Hilken CM, Morrison VL. beta2 integrins as regulators of dendritic cell, monocyte, and macrophage function. *Front Immunol*. 2017;8:1866. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01866>.
9. Schlesinger LS, Azad AK, Torrelles JB, Esteban R, Isabelle V, Vojo D. Determinants of phagocytosis, phagosome biogenesis and autophagy for *Mycobacterium tuberculosis*: Kaufmann HE,

- Rubin E, Britton WJ, van Helden P, editors. Handbook of tuberculosis. 1st ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2017. P1-22.
10. Roberts LL, Robinson CM. *Mycobacterium tuberculosis* infection of human dendritic cells decreases integrin expression, adhesion and migration to chemokines. *Immunology*. 2014; 141:39-51. <https://doi.org/10.1111/imm.12164>.
 11. Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban HJ, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet*. 2009;41:527-534. <https://doi.org/10.1038/ng.357>.
 12. Jin HS, Park S. Association of the *CD226* genetic polymorphisms with risk of tuberculosis. *Biomed Sci Letters*. 2017;23:89-95. <https://doi.org/10.15616/BSL.2017.23.2.89>.
 13. Mould AP, Humphries MJ. Regulation of integrin function through conformational complexity: not simply a knee-jerk reaction? *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16:544-551. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.07.003>.
 14. von Andrian UH, Chambers JD, McEvoy LM, Bargatze RF, Arfors KE, Butcher EC. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1991;88:7538-7542.
 15. Monks CR, Freiberg BA, Kupfer H, Sciaky N, Kupfer A. Three-dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells. *Nature*. 1998;395:82-86. <https://doi.org/10.1038/25764>.
 16. Chung KJ, Mitroulis I, Wiessner JR, Zheng YY, Siegert G, Sperandio M, et al. A novel pathway of rapid TLR-triggered activation of integrin-dependent leukocyte adhesion that requires Rap1 GTPase. *Mol Biol Cell*. 2014;25:2948-2955. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-04-0867>.
 17. Roberts LL, Robinson CM. *Mycobacterium tuberculosis* infection of human dendritic cells decreases integrin expression, adhesion and migration to chemokines. *Immunology*. 2014; 141:39-51. <https://doi.org/10.1111/imm.12164>.
 18. Johnson CM, Cooper AM, Frank AA, Orme IM. Adequate expression of protective immunity in the absence of granuloma formation in *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice with a disruption in the intracellular adhesion molecule 1 gene. *Infect Immun*. 1998;66:1666-1670.
 19. Ghosh S, Saxena RK. Early effect of *Mycobacterium tuberculosis* infection on Mac-1 and ICAM-1 expression on mouse peritoneal macrophages. *Exp Mol Med*. 2004;36:387-395. <https://doi.org/10.1038/emmm.2004.51>.
 20. Velasco-Velazquez MA, Barrera D, Gonzalez-Arenas A, Rosales C, Agramonte-Hevia J. Macrophage-*Mycobacterium tuberculosis* interactions: role of complement receptor 3. *Microb Pathog*. 2003;35:125-131.
 21. Zaffran Y, Zhang L, Ellner JJ. Role of CR4 in *Mycobacterium tuberculosis*-human macrophages binding and signal transduction in the absence of serum. *Infect Immun*. 1998;66: 4541-4544.
 22. Suhair H, Amos E. Leukocyte adhesion deficiencies. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;1250:50-55. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06389.x>.
 23. Kim GT, Sull JW, Jee SH. Effects of TLR4 variants on fasting glucose levels in a Korean population. *Korean J Clin Lab Sci*. 2017;49:345-349. <https://doi.org/10.15324/kjcls.2017.49.4.345>.
 24. Sobota RS, Stein CM, Kodaman N, Scheinfeldt LB, Maro I, Wieland-Alter W, et al. A Locus at 5q33.3 confers resistance to tuberculosis in highly susceptible individuals. *Am J Hum Genet*. 2016;98:514-524. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.01.015>.
 25. Omae Y, Toyo-Oka L, Yanai H, Nedsuwan S, Wattanapokayakit S, Satproedprai N, et al. Pathogen lineage-based genome-wide association study identified CD53 as susceptible locus in tuberculosis. *J Hum Genet*. 2017;62:1015-1022. <https://doi.org/10.1038/jhg.2017.82>.
 26. Esterhuysen MM, Weiner J 3rd, Caron E, Loxton AG, Iannaccone M, Wagman C, et al. Epigenetics and proteomics join transcriptomics in the quest for tuberculosis biomarkers. *MBio*. 2015;6:e01187-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01187-15>.