

## Association of Genetic Polymorphism of IL-2 Receptor Subunit and Tuberculosis Case

Sang-In Lee, Hyun-Seok Jin and Sangjung Park<sup>†</sup>

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

Tuberculosis (TB) is infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) infection. It is known that not only the property of microorganism but also the genetic susceptibility of infected patients is controlled. Interleukin 2 (IL-2) is a cytokine belonging to type 1 T helper (Th1) activity. In addition, IL-2, when infected with MTB, binds IL-2 receptor and promotes T cell replication and is involved in granuloma formation. The aim of this study was to investigate the genetic polymorphisms of the IL-2 receptor gene in tuberculosis patients and normal individuals. We analyzed 22 SNPs in three genes using the genotype data of 443 tuberculosis cases and 3,228 healthy controls from the Korea Association Resource for their correlation with tuberculosis case. *IL2RA*, *IL2RB*, and *IL2RG* genes were genotyped of 16, 4, and 2 SNPs, respectively. Among three genes, only *IL2RA* gene polymorphisms showed statistically significant association with tuberculosis case. 6 SNPs with high significance were identified in the *IL2RA* gene. In addition, the linkage disequilibrium (LD) structure of *IL2RA* gene was confirmed. SNP imputation of *IL2RA* gene was performed, it was confirmed that more SNPs were significant between case and control. If we look at the results of *IL2RA* gene analysis above, we can see that genetic polymorphism in the gene expressing IL-2R $\alpha$  will regulate the expression level of IL-2R $\alpha$ , and the change in the immune system involved in IL-2R $\alpha$ . In this study, genetic polymorphism that may affect host immunity suggests that susceptibility to tuberculosis may be controlled.

**Key Words:** *IL2RA*, Tuberculosis, Genetic association, *Mycobacterium tuberculosis*, SNP, Polymorphism

### 서 론

결핵은 결핵균 감염에 의해 발병하는 질병으로 전 세계 1/3이 감염되어 있고 국내에서 아직까지 높은 발병률과 사망률을 보이고 있는 질병이다(Corbett et al., 2003). 결핵균에 감염된 사람 중 약 10%는 결핵으로 발병한다. 결핵 발병은 결핵균이 가지고 있는 균의 특성 뿐만 아니라 결핵균 감염 환자의 유전적 감수성이 조절한다고 알려져 있다(Comstock, 1978). 현재 결핵 발병과 유전적 감수성에

대한 상관성을 보는 연구가 많이 진행되고 있다.

Interleukin 2 (IL-2)는 CD4+ helper T cell 중 type 1 T helper (Th1) activity가 분비하는 cytokine으로 결핵균에 대한 면역반응에 필요하다. 그리고 Th1 그룹 cytokine들의 상호작용에 관여하여 T cell의 면역반응에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Caccamo et al., 2010). 또한 IL-2는 chain  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ 로 이루어진 receptor와 결합하여 세포 내부로 생화학적 신호를 전달한다(Gaffen and Liu, 2004).

IL-2가 T cell에서 Major histocompatibility complex (MHC)-peptide 복합체를 인식한 후 T cell의 항원 수용체인 T-cell

\*Received: May 3, 2018 / Accepted: May 17, 2018

<sup>†</sup>Corresponding author: Sangjung Park. Department of Biomedical Laboratory Science, College of Life and Health Sciences, Hoseo University, Asan, Chungnam 31499, Korea.

Tel: +82-41-540-9967, Fax: +82-41-540-9997, e-mail: sangjung@hoseo.edu

©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.

receptor를 통해 세포 내부로 신호를 전달한다. 이렇게 세포 내부로 전달된 신호는 세포 변화를 일으켜 초기 T cell이 effector T cell과 memory T cell로 분화하도록 촉진한다. 또한 세균이나 바이러스에 감염된 세포가 정상 T cell을 공격하는 것을 억제한다(Liao et al., 2011). 결핵균에 감염되면 T cell이 활성화되어 IL-2를 분비하고 IL-2 receptor를 세포 표면에 발현한다. 이때 IL-2는 T cell의 증식을 촉진하고 육아종 형성에 관여하며 결핵 감염에 대한 통제 및 면역에 핵심적인 역할을 수행한다(Kaufmann, 2001; Wang et al., 2012; Sharma et al., 2014). IL-2 receptor 중  $\alpha$  chain은  $\beta$ ,  $\gamma$  chain과는 다르게 soluble한 형태로 혈중으로 유리되고 혈중 IL-2 receptor  $\alpha$  (IL-2R $\alpha$ )의 농도는 유전자의 발현 정도에 따라 달라진다. 따라서 혈중 IL-2R $\alpha$ 의 농도는 T cell활성의 지표가 되기도 한다(Rubin et al., 1985; Wang et al., 2012). 또한 결핵균이 잠복 감염된 환자에서 IL-2와 IFN- $\gamma$ 를 모두 발현하는 T cell의 비율이 현성 감염 환자에 비하여 높은 것으로 나타났다는 결과를 보고한 연구도 진행되었다(Casey et al., 2010; Sester et al., 2011).

따라서 본 연구에서는 한국인 유전체 역학 조사 사업의 일환으로 구성되어 있는 코호트 자료를 활용하여 결핵 환자와 정상인 간 IL-2 receptor 유전자의 유전적 다형성이 결핵 발병에 영향을 주었는지 확인하고자 유전적 변이에 대한 상관성 분석 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 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(Cho et al., 2009). 이때 사용한 자료는 질병관리본부 인체자원은행에서 분양을 받아 사용하였다(17070301-01-01). 연구에서 사용한 연구대상자의 선별은 이전 연구와 동일하게 설정하였다(Jin and Park, 2017). 요약하면 환자군으로는 과거에 결핵진단을 받은 적이 있는 443명을 선정하였고 건강 대조군은 특별한 질환이 없는 3,228명을 선정하였다. 결핵 환자군과 건강 대조군의 평균 나이는 각각 51.0세와 51.6세로 유사하였다. 본 연구에 활용한 유전 정보는 질병관리본부(KNIH)와 호서대학교에서 연구윤리 승인을 받은 후 분석을 수행하였다(1041231-170418-HR-056-02).

### 유전형 분석과 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 선별

본 연구에서는 KARE 유전형 자료를 기반으로 SNP를 선별하였다. DNA 시료는 연구 참여자의 말초혈액에서 분리 추출하였고, 유전형 판독을 위해서는 Affymetrix Genome-Wide Human SNP array 5.0 (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 유전형 판독 정확도가 98% 이하이거나, 4% 이상의 높은 missing genotype call rate을 보이거나, 30% 초과 heterozygosity를 가지거나, 성별 불일치가 존재하는 대상자들은 제외되었다. 본 연구에서 분석한 *IL2RA*, *IL2RB*, *IL2RG* 유전자 영역은 전사체 양 말단에서 5 kb씩 확장하여 이 범위에 존재하는 각각 16개, 4개, 2개의 SNP들을 대상으로 하였다. 이 SNP들의 염색체 상의 위치는 UCSC Genome Browser on Human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)를 기준으로 하였다. 또한, 실제 실험적으로 SNP의 유전형을 확인한 것 이외에도 *IL2RA* 유전자 영역에서는 MACH 1.0.16 (Li et al., 2010)를 사용하여 추가적으로 37개의 imputation SNP를 발굴하여 분석에 사용하였다. Imputation은 HapMap database (release 24) (International HapMap Consortium 2003)에서 중국인(Han Chinese from Beijing)과 일본인(Japanese in Tokyo)의 것을 참고로 진행하였다. Imputed SNP들 중에서 Minor Allele Frequency (MAF)가 1% 미만이거나 상관계수( $r^2$ )가 0.5 미만인 것은 분석에서 제외하였다.

### 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. 결핵 환자군과 건강 대조군에 대한 유전적 변이의 상관성 분석은 Logistic 회귀 분석을 사용하였으며 additive genetic model을 기반으로 하였다. 분석 값에 대한 유의 수준은 0.05 이하를 기준으로 하였다. KARE 유전형 정보를 바탕으로 Haploview version 4.2 (Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA, USA) 프로그램을 사용하여 연관 불균형(linkage disequilibrium) 블록 구조를 확인하였다.

## 결 과

### *IL2RA*, *IL2RB*, *IL2RG* 유전자 영역의 SNP 선별과 상관성 분석 결과

IL-2 receptor 유전자들은 UCSC Genome Browser on

Human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)를 기준으로 각각 염색체에서 유전자의 영역을 설정(전사체 기준으로 하여 양방향으로 5 kb씩 영역 확장)한 후 KARE 유전형 자료에서 SNP를 확인하였다. 그 결과 *IL2RA*는 10번 염색체에서 16개의 SNP이 확인되었다. 마찬가지로 *IL2RB*는 22번 염색체에서 4개의 SNP이 *IL2RG*는 X 염색체에서 2개의 SNP을 확인할 수 있었다. 선별된 IL-2 receptor 유전자의 SNP을 대상으로 결핵 환자군과 건강 대조군에 대한 Logistic 회귀 분석을 시행한 결과 *IL2RA* 유전자의 16개의 SNP 중 6개의 SNP에서 통계적으로 유의한 상관관계( $P<0.05$ )를 확인할 수 있었다. 그러나 *IL2RB* 유전자에서는 분석 결과 통계적으로 유의한 SNP이 존재하지 않았으며, *IL2RG* 유전자는 X 염색체의 특이성으로 분석 결과에 의미를 부여

하기가 어려웠다(Table 1).

*IL2RA* 유전자의 SNP 중 가장 높은 유의 수준( $P=1.10 \times 10^{-3}$ )을 보이는 rs7072398은 상대적 위험도(OR)는 0.78으로 나타났고 신뢰구간(95% CI)은 0.68~0.91으로 나타났다. rs7072398의 minor allele는 T, major allele는 C이다. MAF를 살펴보면 결핵 환자군은 36.4%이고, 건강 대조군은 42.2%로 약 6%의 빈도 차이가 있어서 T 염기를 보유할 경우에 결핵 발생을 감소시키는 방향으로 상관성이 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 rs2256774는 상대적 위험도가 1.3으로 확인되어 minor allele를 보유하고 있을수록 결핵 발생을 증가시키는 방향으로의 상관성이 있다는 것을 알 수 있었다. 유의성이 높은 6개의 SNP 중 rs2256774를 제외한 5개의 SNP은 상대적 위험도가 낮게 확인되었

**Table 1.** Results of the case-control association analysis between SNPs in the *IL2RA*, *IL2RB*, *IL2RG* genes and tuberculosis in the KARE subjects

Gene	No.	SNP	BP	Function	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	Additive P value
							Cases (n=443)	Controls (n=3,228)		
<i>IL2RA</i>	1	rs11596355	6104187	Intronic	G	A	0.012	0.015	0.90 (0.48~1.68)	0.730
	2	rs2025345	6107694	Intronic	C	T	0.377	0.431	0.79 (0.68~0.92)	<b>2.77E-03</b>
	3	rs12722527	6117334	Intronic	T	C	0.173	0.167	1.05 (0.87~1.27)	0.624
	4	rs11256433	6117851	Intronic	C	A	0.285	0.260	1.13 (0.96~1.32)	0.137
	5	rs11256448	6119485	Intronic	G	A	0.303	0.286	1.08 (0.92~1.26)	0.343
	6	rs7072398	6119852	Intronic	T	C	0.364	0.422	0.78 (0.68~0.91)	<b>1.10E-03</b>
	7	rs4749926	6125318	Intronic	A	G	0.357	0.408	0.80 (0.69~0.92)	<b>2.56E-03</b>
	8	rs10905656	6126099	Intronic	C	A	0.392	0.359	1.15 (0.99~1.33)	0.066
	9	rs942201	6126298	Intronic	A	C	0.276	0.255	1.10 (0.94~1.29)	0.233
	10	rs791587	6128705	Intronic	A	G	0.270	0.322	0.78 (0.66~0.91)	<b>1.65E-03</b>
	11	rs10905668	6132061	Intronic	A	G	0.373	0.345	1.12 (0.97~1.29)	0.134
	12	rs10905669	6132099	Intronic	A	G	0.374	0.345	1.12 (0.97~1.30)	0.118
	13	rs2256774	6137171	Intronic	C	T	0.101	0.079	1.30 (1.03~1.65)	<b>3.00E-02</b>
	14	rs2104286	6139051	Intronic	C	T	0.105	0.100	1.05 (0.84~1.33)	0.656
	15	rs17149458	6141866	Intronic	T	A	0.132	0.132	1.01 (0.82~1.25)	0.931
	16	rs10795791	6148346	Upstream	T	C	0.368	0.409	0.84 (0.72~0.97)	<b>1.72E-02</b>
<i>IL2RB</i>	1	rs5995385	35849810	Downstream	G	A	0.295	0.303	0.95 (0.81~1.11)	0.491
	2	rs3218295	35863014	Intronic	A	G	0.174	0.173	1.02 (0.84~1.22)	0.878
	3	rs3218294	35863232	Intronic	G	C	0.202	0.205	0.98 (0.82~1.17)	0.800
	4	rs2284033	35863980	Intronic	G	A	0.361	0.345	1.08 (0.93~1.26)	0.307
<i>IL2RG</i>	1	rs5981065	70208925	Intronic	G	A	0.353	0.350	N/A	N/A
	2	rs17174152	70319869	Downstream	G	A	0.101	0.093	N/A	N/A

P-values <0.05 are indicated in bold. Abbreviations: A1, minor allele; A2, major allele; BP, base pair; CI, confidence interval; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; N/A, Not Applicable. The SNP positions are based on the NCBI Build 36 human genome assembly.

**Table 2.** Results of the case-control association analysis between imputed SNP in the *IL2RA* gene on chromosome 10 and tuberculosis case in the KARE subjects (Result  $P < 0.05$ ).

No.	SNP	BP	Function	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	*Additive P value
						Cases (n=443)	Controls (n=3,228)		
I1	rs764850	6048357	Downstream	A	G	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I2	rs80006671	6048408	Downstream	T	C	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I3	rs59454145	6048914	Downstream	A	G	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I4	rs117040696	6050159	Downstream	T	C	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I5	rs138574189	6050267	Downstream	T	A	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I6	rs117632375	6050306	Downstream	G	C	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I7	rs12572257	6050630	Downstream	A	G	0.212	0.177	1.28 (1.07~1.53)	6.92.E-03
I8	rs12722610	6052172	Downstream	G	A	0.032	0.019	1.70 (1.11~2.60)	0.015
I9	rs12722604	6053286	Intronic	A	G	0.254	0.317	0.73 (0.62~0.86)	1.53.E-04
I10	rs12722596	6056294	Intronic	C	T	0.032	0.018	1.76 (1.15~2.70)	9.88.E-03
I11	rs11256342	6057231	Intronic	G	T	0.298	0.357	0.76 (0.65~0.89)	5.90.E-04
I12	rs2386841	6057732	Intronic	T	G	0.490	0.436	1.25 (1.08~1.44)	2.71.E-03
I13	rs12572859	6058040	Intronic	C	G	0.164	0.139	1.23 (1.01~1.49)	0.038
I14	rs10752175	6061781	Intronic	T	C	0.245	0.214	1.21 (1.03~1.44)	0.023
I15	rs6602368	6062915	Intronic	C	T	0.370	0.416	0.82 (0.71~0.95)	8.79.E-03
I16	rs12358961	6066195	Intronic	A	T	0.375	0.427	0.80 (0.69~0.92)	2.75.E-03
G1	rs2025345	6067688	Intronic	G	A	0.376	0.428	0.80 (0.69~0.93)	2.87.E-03
I17	rs12572054	6069853	Intronic	C	T	0.281	0.338	0.76 (0.65~0.89)	7.63.E-04
I18	rs2025346	6070675	Intronic	A	G	0.279	0.336	0.76 (0.65~0.89)	6.35.E-04
I19	rs2025347	6070831	Intronic	G	A	0.441	0.401	1.19 (1.03~1.37)	0.018
I20	rs10905641	6072293	Intronic	C	A	0.255	0.226	1.19 (1.01~1.40)	0.043
I21	rs7068276	6073388	Intronic	G	T	0.435	0.397	1.17 (1.02~1.36)	0.028
I22	rs12264061	6073487	Intronic	G	A	0.010	0.020	0.47 (0.24~0.94)	0.032
I23	rs4747844	6074201	Intronic	G	A	0.440	0.404	1.17 (1.01~1.35)	0.034
I24	rs7920946	6074634	Intronic	C	T	0.354	0.323	1.16 (1.00~1.35)	0.050
I25	rs12572136	6077191	Intronic	G	C	0.274	0.333	0.76 (0.65~0.88)	4.87.E-04
I26	rs6602392	6078079	Intronic	A	C	0.274	0.333	0.76 (0.65~0.88)	4.87.E-04
I27	rs11256442	6079344	Intronic	T	C	0.470	0.427	1.20 (1.04~1.38)	0.013
G2	rs7072398	6079846	Intronic	A	G	0.362	0.423	0.77 (0.66~0.89)	5.37.E-04
I28	rs11256457	6080794	Intronic	G	C	0.357	0.409	0.79 (0.68~0.92)	2.39.E-03
I29	rs12722517	6081040	Intronic	C	T	0.357	0.323	1.18 (1.01~1.36)	0.033
I30	rs791593	6083292	Intronic	G	A	0.358	0.324	1.18 (1.02~1.36)	0.031
G3	rs4749926	6085312	Intronic	A	G	0.357	0.409	0.79 (0.68~0.92)	2.45.E-03
G4	rs791587	6088699	Intronic	A	G	0.270	0.321	0.78 (0.67~0.91)	2.01.E-03
I31	rs791588	6089342	Intronic	G	T	0.342	0.389	0.81 (0.70~0.94)	5.60.E-03
I32	rs791589	6089571	Intronic	G	A	0.326	0.376	0.80 (0.69~0.93)	3.83.E-03
I33	rs1323658	6094354	Intronic	C	A	0.255	0.305	0.78 (0.67~0.92)	2.55.E-03
I34	rs706778	6098949	Intronic	C	T	0.368	0.406	0.85 (0.73~0.98)	0.027
I35	rs7072793	6106266	Upstream	T	C	0.369	0.409	0.84 (0.73~0.97)	0.020
I36	rs7073236	6106552	Upstream	T	C	0.368	0.408	0.84 (0.73~0.97)	0.020

**Table 2.** Results of the case-control association analysis between imputed SNP in the *IL2RA* gene on chromosome 10 and tuberculosis case in the KARE subjects (Result  $P < 0.05$ ) (Continued)

No.	SNP	BP	Function	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	*Additive $P$ value
						Cases (n=443)	Controls (n=3,228)		
I37	rs7096384	6106638	Upstream	C	T	0.368	0.408	0.84 (0.73~0.97)	0.020
G5	rs10795791	6108340	Upstream	A	G	0.369	0.409	0.84 (0.73~0.97)	0.020

\*All data were selected with  $P$ -values  $< 0.05$ . Abbreviations: G of no., genotyped number of SNP; I of no., imputed number of SNP; A1, minor allele; A2, major allele; BP, base pair; CI, confidence interval; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism. The SNP positions are based on the NCBI Build 37 human genome assembly.

**Table 3.** Results of the Regulome DB of imputed SNP in the *IL2RA* gene on chromosome 10

SNP	BP	A1	A2	Regulome DB				
				Score	TFBS	DNase	Proteins bound	Motifs
rs764850	6048357	A	G	3a	+	+	GTAT1, POLR2A	ZNF740, NERF1a
rs12722596	6056294	C	T	2a	+	+	CTCF, RAD21, SMC3	RFX, BRCA1:USF2
rs10752175	6061781	C	T	2b	+	+	E2F6	PPARG::RXRA
rs1323658	6094354	C	A	3a	+	+	SPI1, CHD1, IKZF1	HNF4, Esrra

Abbreviations: SNP, single nucleotide polymorphism; BP, base pair; A1, minor allele; A2, major allele; TFBS, transcription binding factor site; +, affect. The SNP positions are based on the NCBI Build 37 human genome assembly.

고 이 중 rs10795791은 5' 방향의 upstream 영역에서 나타났다.

#### *IL2RA* 유전자 SNP의 Linkage disequilibrium (LD) 구조

*IL2RA* 유전자에서 확인한 유의성이 높은 6개의 SNP 간의 연관 불균형 현상이 나타나는지 Haploview 프로그램을 활용하여 확인해 보고자 하였다. 상대적 위험도가 낮았던 5개의 SNP 중 5kb 확장 지역에 존재하는 SNP를 제외한 4개의 SNP는 하나의 LD block을 형성하고 있었다. 다른 LD block에는 상대적 위험도가 높은 SNP이 포함되어 있었다(Fig. 1).

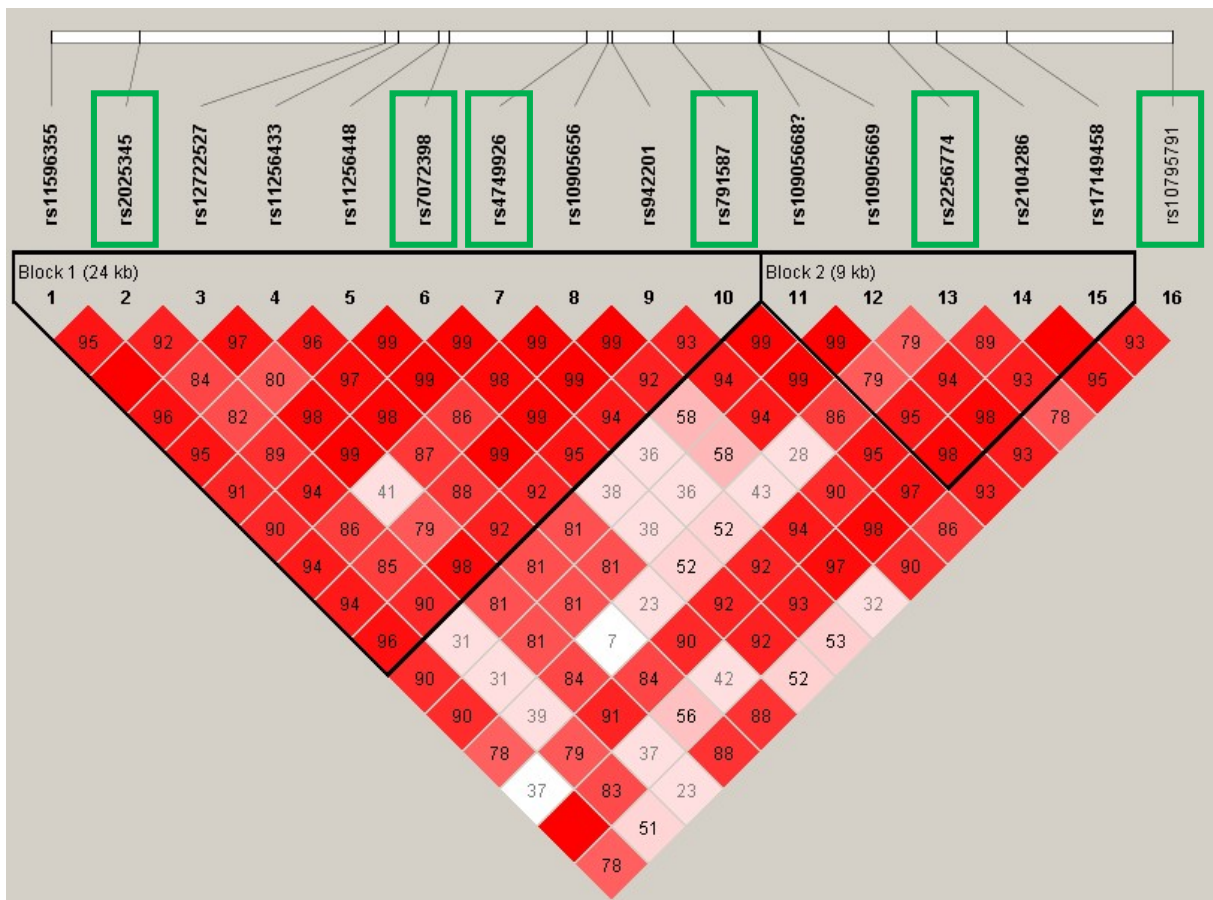
#### *IL2RA* 유전자 SNP imputation 후 상관성 분석 결과

KARE 유전형 자료를 기반으로 하여 *IL2RA* 유전자 SNP imputation을 수행하여 더 많은 SNP과 결핵과의 상관성 여부를 확인해 보았다. 그 결과 182개의 SNP이 확인되었고 그 중 42개의 SNP이 통계적으로 유의하였다. Imputation 수행 전 분석 결과는 결핵 발병과 상대적 위험도가 낮은 SNP이 대부분이었던 반면 imputation 수행 후에는 상대적 위험도가 높은 SNP의 수와 낮은 SNP의 수가 비슷하게 나타났다. Imputation 수행 후 결핵 발생과 유의한

상관관계를 보이는 SNP들의 수가 증가한 것은 *IL2RA* 유전자의 유전적 다양성이 결핵 발병에 영향을 줄 가능성이 높다는 것을 의미한다(Table 2).

#### *IL2RA* 유전자의 SNP이 유전자와 단백질 발현에 미치는 영향

Imputation 후 유의성이 높은 *IL2RA* 유전자가 어떻게 유전자 혹은 단백질 발현에서 영향을 미칠 것인지 RegulomeDB (<http://www.regulomedb.org/index>)에서 확인해 보았다. 확인 결과 rs12722596, rs10752175, rs764850, rs1323658의 4개의 SNP에서 의미 있는 score를 확인할 수 있었다. 그 중 rs12722596는 전사 인자 결합 반응에 영향을 줄 수 있을 뿐만 아니라 DNase peak 차이가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라 이곳은 본래 RFX와 BRCA1:USF2의 motif로 작용하기 때문에 *IL2RA* 유전자 발현에 영향을 줄 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 rs764850는 *IL2RA* 유전자의 3' 말단 쪽 5kb 확장 범위에 존재하는 SNP임에도 불구하고 통계적 유의성과 높은 RegulomeDB score가 의미 있게 나타난 것은 유전자에 인접한 지역이 유전적 다양성의 조절에 있어서 중요한 역할을 할 가능성이 있음을 보여준다(Table 3).



**Fig. 1. Linkage disequilibrium of *IL2RA* SNP on chromosome 10.** The 16 SNPs and LD structure were shown by a Haploview of LD ( $r^2$ ) based on genotyping data from 8,842 KARE subjects and are generated by using the Haploview program. Of the 6 SNPs with significance, 4 SNPs belong to Block 1, and 2 SNPs belong to Block 2. Since there are significant differences in different blocks, it is expected that each SNP will affect the outbreak of tuberculosis.

## 고찰

본 연구에서는 IL-2 receptor를 발현하는 유전자에서 SNP의 결핵 환자군과 건강 대조군간 MAF 차이에 따른 통계적 유의성을 분석하여 유전적 변이에 따른 결핵 발병과의 상관성에 대하여 알아보고자 하였다. 그 결과 *IL2RB*와 *IL2RG*는 결핵 환자군과 건강 대조군간 유전 변이의 MAF 차이가 일정 수준 이하로 나타났다. 이것은 IL-2 receptor  $\beta$ 와  $\gamma$  chain 유전자의 유전 변이가 결핵 발병과 상관성이 낮다는 것으로 생각할 수 있었다. 그러나 *IL2RA* 유전자는 6개의 SNP에서 결핵 발병과 높은 유의성이 확인되었다. 이 SNP 중 MAF가 건강 대조군에 비하여 결핵 환자군에서 낮은 SNP과 높은 SNP 모두 확인할 수 있었

다. 이것은 *IL2RA* 유전자의 유전 변이는 결핵 발병에 있어서 다양한 방향으로 영향을 미칠 수 있다는 것을 의미한다. 또한 위의 SNP의 LD 구조를 확인해 보았을 때 상대적으로 위험도의 방향성이 반대인 두 SNP이 서로 다른 LD block에 속해 있는 것을 확인할 수 있었으며 같은 방향성을 갖는 SNP은 같은 LD block에 속해 있는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1). 위의 결과들을 통하여 IL-2 receptor를 발현하는 유전자 중  $\alpha$  chain을 발현하는 유전자에 존재하는 SNP들이 결핵 발병과 통계적으로 유의한 상관성이 있다는 것을 확인할 수 있었다.

기존의 KARE 자료에서 imputation 후의 SNP을 기준으로 *IL2RA* 유전자의 통계적 유의성을 분석해 보았을 때 기존의 결과보다 많은 SNP을 선별할 수 있었으며 높은 유의성을 갖는 SNP도 확인할 수 있었다. 또한 RegulomeDB

결과가 높은 score를 갖는 것도 확인할 수 있었다. 결국 imputation 후의 결과는 *IL2RA* 유전자의 유전 변이가 어떻게 결핵 발병에 영향을 주는지 자세하게 확인해 볼 수 있었고 유전 변이와 결핵 발병의 상관성이 있다는 사실을 뒷받침 해주었다.

인체 면역에 관여하는 여러 유전자의 유전적 차이는 면역체계를 이루는 요소들의 차이를 만들어 결국 결핵균의 인체 침입과 이에 대한 방어와 관련된 감수성 변화를 가져올 수 있다. 결핵균에 대한 면역학적 관점에서 보게 되면 결핵균이 감염되었을 때 인체 내에서는 다양한 면역반응이 일어나며 이에 관여하는 세포들은 다양하다 (Kleinnijenhuis et al., 2011; Dey and Bishai, 2014). 결핵 감염 초기에 결핵균이 완전하게 제거되지 않으면 T cell이 결핵균에 대한 면역에 관여하게 된다. T cell은 결핵균을 포함한 육아종을 형성하여 그 안에서 균의 사멸을 유도한다 (Gideon et al., 2015). 하지만 환자의 면역학적 상태에 따라 결핵균의 사멸은 조절되며 이 환자의 상태는 환자에 감염된 결핵균의 특성 뿐만 아니라 환자의 임상증상과 면역력 등이 관여한다. T cell과 macrophage는 결핵균을 사멸하고 병변을 형성한다. 이 때 CD4+ T cell은 IL-2, IFN- $\gamma$ 와 같은 cytokine을 분비하여 항원 발현을 증강시키고 세포 매개 면역반응을 촉진시키는 역할을 한다(Edwards and Kirkpatrick, 1986). 또한 활성화된 T cell은 IL-2 receptor가 세포 표면에 발현되어 IL-2와 결합한다(Morgan et al., 1976; Rubin et al., 1985). 결합된 IL-2는 휴지기 T cell을 effector T cell, memory T cell로 분화하도록 촉진하고 Th1 cytokine의 발현 조절에 관여한다. T cell의 표면에 발현하는 IL-2 receptor 중  $\alpha$  chain은 soluble한 상태(sIL-2R $\alpha$ )로 유리되어 남게 된다. 앞선 연구에서는 정상인의 혈청에 존재하는 sIL-2R $\alpha$  보다 세포 매개 면역반응이 진행될 때의 sIL-2R $\alpha$ 가 증가한 것을 관찰하였다(Rubin et al., 1985). sIL-2R $\alpha$ 의 정상 혈청 농도보다 증가한 상태는 T cell의 활성화 정도와 세포 면역 기능의 증감을 예측할 수 있는 지표로 활용되는 연구는 활발하게 진행되고 있다. 따라서 IL-2R $\alpha$ 를 발현하는 유전자에 유전적 변이가 생긴다면 IL-2R $\alpha$ 가 발현되는 양에 조절이 생길 것이고 그렇게 되면 IL-2R $\alpha$ 가 관여하는 면역체계에는 변화가 있을 것이다. 결국 결핵균의 특성과 환자의 임상증상이 결핵의 감수성과 관련하여 중요하지만 면역에 관련된 유전적 다형성 또한 결핵에 대한 감수성에 영향을 줄 수 있다.

그동안 국내의 많은 연구에서 결핵의 발병과 관련하여 결핵균의 특성을 고려하는 연구들이 진행되어 왔다(Oh et

al., 2009; Park et al., 2012; Cho et al., 2014). 그러나 본 연구에서는 결핵 발병에 영향을 줄 수 있는 면역에 관여하는 숙주의 유전적 다형성이 결핵 발병과 관한 환자의 감수성이 조절될 수 있는 가능성을 제시해 주고 있으며 이 결과를 통하여 결핵에 유전적인 감수성이 있는 환자에 대한 연구와 관리가 가능할 것이라고 생각한다.

## 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

The authors have no conflicts of interest to disclose.

## REFERENCES

- Caccamo N, Guggino G, Joosten SA, Gelsomino G, Di Carlo P, Titone L, Galati D, Bocchino M, Matarese A, Salerno A, Sanduzzi A, Franken WP, Ottenhoff TH, Dieli F. Multifunctional CD4(+) T cells correlate with active Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur J Immunol.* 2010. 40: 2211-2220.
- Casey R, Blumenkrantz D, Millington K, Montamat-Sicotte D, Kon OM, Wickremasinghe M, Bremang S, Magtoto M, Sridhar S, Connell D, Lalvani A. Enumeration of functional T-cell subsets by fluorescence-immunospot defines signatures of pathogen burden in tuberculosis. *PLoS One.* 2010. 5: e15619.
- Cho JE, Cho SN, Cho S. RpoB<sub>127-135</sub> Peptide Derived from *Mycobacterium tuberculosis* is Processed and Presented to HLA-A\*0201 Restricted CD8+ T Cells via an Alternate HLA-I Processing Pathway. 2014. 20: 250-255.
- 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. *Nat Genet.* 2009. 41: 527-534.

- Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. *Am Rev Respir Dis*. 1978. 117: 621-624.
- Corbett EL, Watt CJ, Walker N, Maher D, Williams BG, Raviglione MC, Dye C. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. *Arch Intern Med*. 2003. 163: 1009-1021.
- Dey B, Bishai WR. Crosstalk between *Mycobacterium tuberculosis* and the host cell. *Semin Immunol*. 2014. 26: 486-496.
- Edwards D, Kirkpatrick CH. The immunology of mycobacterial diseases. *Am Rev Respir Dis*. 1986. 134: 1062-1071.
- Gaffen SL, Liu KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. *Cytokine*. 2004. 28: 109-123.
- Gideon HP, Phuah J, Myers AJ, Bryson BD, Rodgers MA, Coleman MT, Maiello P, Rutledge T, Marino S, Fortune SM, Kirschner DE, Lin PL, Flynn JL. Variability in tuberculosis granuloma T cell responses exists, but a balance of pro- and anti-inflammatory cytokines is associated with sterilization. *PLoS Pathog*. 2015. 11: e1004603.
- International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature*. 2003. 426: 789-796.
- Jin HS, Park S. Association of the CD226 Genetic Polymorphisms with Risk of Tuberculosis. *Biomedical Science Letters*. 2017. 23: 89-95.
- Kaufmann SH. How can immunology contribute to the control of tuberculosis?. *Nat Rev Immunol*. 2001. 1: 20-30.
- Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol*. 2011. 2011: 405310.
- Li Y, Willer CJ, Ding J, Scheet P, Abecasis GR. MaCH: using sequence and genotype data to estimate haplotypes and unobserved genotypes. *Genet Epidemiol*. 2010. 34: 816-834.
- Liao W, Lin JX, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol*. 2011. 23: 598-604.
- Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science*. 1976. 193: 1007-1008.
- Oh SY, Kim HB, Shin MS, Kim JW, Park SH. Pyrosequencing Based Detection of Rifampicin or Isoniazid Resistant in *Mycobacterium tuberculosis*. *Korean J Clin Lab Sci*. 2009. 41: 24-30.
- Park S, Cho JE, Kim YS, Cho SN, Lee H. Bfl-1/A1 Molecules are Induced in Mycobacterium Infected THP-1 Cells in the Early Time Points. *J Exp Biomed Sci*. 2012. 18: 201-209.
- Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME, Biddison WE, Boutin B, Yarchoan R, Nelson DL. Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells *in vitro*. *J Immunol*. 1985. 135: 3172-3177.
- Sester U, Fousse M, Dirks J, Mack U, Prasse A, Singh M, Lalvani A, Sester M. Whole-blood flow-cytometric analysis of antigen-specific CD4 T-cell cytokine profiles distinguishes active tuberculosis from non-active states. *PLoS One*. 2011. 6: e17813.
- Sharma S, Kalia NP, Suden P, Chauhan PS, Kumar M, Ram AB, Khajuria A, Bani S, Khan IA. Protective efficacy of piperine against *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb)*. 2014. 94: 389-396.
- Wang S, Diao N, Lu C, Wu J, Gao Y, Chen J, Zhou Z, Huang H, Shao L, Jin J, Weng X, Zhang Y, Zhang W. Evaluation of the diagnostic potential of IP-10 and IL-2 as biomarkers for the diagnosis of active and latent tuberculosis in a BCG-vaccinated population. *PLoS One*. 2012. 7: e51338.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2018.24.2.94>

**Cite this article as:** Lee SI, Jin HS, Park S. Association of Genetic Polymorphism of IL-2 Receptor Subunit and Tuberculosis Case. *Biomedical Science Letters*. 2018. 24: 94-101.