

**ORIGINAL ARTICLE**

Association Study of *NDFIP2* Genetic Polymorphism with Asthma in the Korean Population

Eun Hye Choi, Dahyun Hwang

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

한국인에서 *NDFIP2* 유전적 다형성과 천식의 상관 연구

최은혜, 황다현

호서대학교 생명보건대학 임상병리학과

ARTICLE INFOReceived August 1, 2021
Revised August 24, 2021
Accepted September 3, 2021**Key words**Asthma
MAPK
Nedd4 family interacting protein 2
Single nucleotide polymorphism**ABSTRACT**

Asthma is a chronic inflammatory airway disease. There are many factors including genetic and environmental factors that influence asthma. The mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway is involved in maintaining the T helper cells 1 and 2 (Th1/Th2) balance and plays an important role in the development of asthma. In this study, the correlation between the *NDFIP2* gene that regulates the MAPK pathway and asthma was analyzed. The genetic polymorphism of the *NDFIP2* gene was analyzed between 193 asthma patients and 3,228 healthy controls in Korea. As a result, 4 single nucleotide polymorphisms (SNPs) showed a significant correlation ($P < 0.05$) and high relative risk with asthma. Among them, rs2783122 of *NDFIP2* showed a statistically significant association with asthma (P -value = 9.76×10^{-6} , odds ratio (OR) = 1.67, 95% confidence interval (CI) = 1.33~2.10). In the SNP imputation on the *NDFIP2*, 16 SNPs were discovered, and all of them showed significant correlation with asthma and high odds ratio. The genotype-based mRNA expression analysis revealed that the group of minor alleles of rs1408049 showed increased mRNA expression. Increased *NDFIP2* expression causes the activation of the MAPK pathway, and this may influence the development of asthma. In conclusion, the polymorphisms of *NDFIP2* are associated with asthma development and this can provide the basis for new guidelines for the management of asthma in the Korean population.

Copyright © 2021 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

서론

천식은 숨을 쉴 때 기관지 내에서 일어나는 과민반응으로, 기도점막이 부어 오르거나 기관지가 좁아져서 천명을 일으키는 만성 염증성 호흡기질환이다[1]. 천식의 요인으로는 가족력, 환경 요인, 알레르기, 영양 상태, 경제적 상태 등이 있다고 알려져 있다[2]. 천식의 국내 성인 유병률은 3.9%, 소아 유병률은 5~9%로 아동기에 상대적으로 높은 발병률을 보인다[3].

천식환자 중 약 3.6~10%의 중증 환자는 현재 사용되고 있는 치료제의 효과가 미미하여 경증-중등증 천식환자에 비해 약제의 사용이 많고, 전체 천식 치료에 사용되는 비용의 50% 이상을 사용한다[4]. 현재 천식의 치료제로 인지질분해효소 (Phospholipase)-A2 억제 및 IL (Interleukin)-1, 2, 3, 6이나 TNF- α 같은 사이토카인의 생성과 방출을 억제하여 Th1 (T helper type1)과 Th2 (T helper type2)를 조절하는 코르티코스테로이드가 주로 사용되고 있지만, 피부위축, 모세혈관확장, 피부궤양, 색소 변화, 감염, 알레르기 접촉피부염 등 다양한 부작용이 보고되고 있다[5-7]. 따라서 천식을 미리 예방하고 조기 진단하여 중증으로 가지 않게 관리하는 것이 중요하다. 질병 예방 측면에서 특정 질병에 대한 유전자가 가지는 위험도를

Corresponding author: Dahyun Hwang

Department of Biomedical Laboratory Science, Hoseo University, 20 Hoseo-ro 79 beon-gil, Baebang-eup, Asan 31499, Korea

E-mail: hhd@hoseo.edu

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1605-8509>

분석하여 질병의 발생가능성을 예측하는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

천식과 유전적 관련 연구는 1990년대부터 시작되었으며, 현재까지도 천식의 유전적 소인을 규명하고자 하는 연구가 진행되고 있다. 천식의 유전적 소인에 대한 연구는 우리 나라에서도 활발히 진행되고 있으며, GST (Glutathione S-transferase)와 MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) 등이 천식과 관련된 유전적 다형성을 가지고 있는 것으로 보고되었다[8, 9]. GST는 염증의 주요 구성 요소인 산화 스트레스 산물의 기질을 활용하는 능력을 통해 활성 산소종(ROS, reactive oxygen species)으로부터 세포를 보호하는 데 중요한 역할을 한다. 따라서 GST에 이상이 생기면 ROS 해독에 결함이 생기므로 천식의 발병과 중증도에 영향을 미칠 수 있다. MCP-1은 비만세포를 활성화시켜 기도로 leukotriene C4가 분비되도록 하여 기도 과민성을 직접적으로 유도하는 방식으로 천식 발병에 영향을 미친다.

MAPK (mitogen-activated protein kinases) 경로는 세포 외부의 자극에 의해 활성화되어 세포 내에 신호를 전달하여 다양한 세포 내 반응을 조절한다. MAPK 경로의 subfamily에는 ERK (extracellular signal regulated kinase), JNK (c-Jun N-terminal kinases) 그리고 p38 등이 있으며, 각각 서로 다른 생물학적 기능을 수행하지만, 모든 MAPK는 기질을 인산화 시키는 공통 염기서열을 가지고 있다[10]. 특히, ERK 경로는 핵의 전사 조절에 중요한 역할을 하며, 단백질과 효소 등의 기능을 조절하는 세포 내 신호전달체계에 핵심적인 기능을 수행한다[11]. ERK 경로가 활성화 될 경우, JunB 단백질이 상향 조절된다[12]. JunB 단백질은 선택적으로 Th2 세포 증식을 유도하며, 결과적으로 Th2 사이토카인의 발현량을 증가시킨다[13]. Th 세포는 분비하는 사이토카인의 종류에 따라 Th1과 Th2가 있으며, 우리 몸에서 일어나는 면역 반응은 Th1과 Th2 사이의 균형에 의해 유지된다. Th1세포의 면역반응이 증가할 경우 자가면역 질환이 발생하게 되며, Th2세포의 면역반응이 활발해지면 천식과 같은 알레르기 질환이 나타나게 된다[14]. 따라서 천식은 근본적으로 Th2 세포 매개 염증 반응에 의해 일

어난다. 그러므로 현재 MAPK 활성화 억제제를 이용하여 Th2 세포의 발현을 감소시켜 천식을 치료하는 방법에 대한 연구가 진행되고 있다[15]. 본 연구의 주제인 *NDIFIP2* (Nedd4 family interacting protein 2) 유전자는 MAPK-activating protein PM04/ PM05/PM06/PM07이라고도 불리며, MAPK 신호 전달 경로에 관여한다[16]. 따라서, 본 연구에서는 한국인 유전체 역학 조사 사업(Korean Genome and Epidemiology Study; KoGES)의 KARE (Korean Association Resource) 코호트를 활용하여 *NDIFIP2* 유전자가 천식 발병에 어떤 유전적 상관관계를 갖는지 알아보았다.

재료 및 방법

1. 연구대상자

본 연구는 질병관리본부 국립보건연구원이 2001년부터 한국인을 대상으로 진행한 대규모 역학 코호트 사업인 한국인 유전체 역학 조사 사업의 KARE 데이터를 기반으로 진행되었다[17]. KARE는 경기도 안성과 안산 지역 사람들을 대상으로 진행한 한국인 유전체 코호트로 한국인에게 흔히 나타나는 만성 질환의 발병 요인을 규명하여 예방의학의 과학적 근거를 마련하고자 구축되었다. 이 코호트는 40세에서 69세의 남녀로 구성되었으며 10,038명을 선정하여 기초조사 및 2년마다 추적 조사를 하였다. 본 코호트의 그룹 선정은 설문을 근거로 진행되었으며, 과거에 의사에게 천식을 진단받은 적이 있는 193명을 천식 환자군으로 분류하였다. 또한, 천식 외 기타질환(고혈압, 당뇨병, 알레르기 질환, 심근경색, 갑상선 질환, 울혈성 심부전, 관상동맥 질환, 고지혈증, 만성 폐 질환, 말초혈관질환, 신장질환, 종양, 뇌혈관 질환, 두부 외상, 요로 감염 및 통풍 등)으로 진단되지 않은 3,228명을 건강 대조군으로 선정하였다. 천식 환자군의 평균 나이는 55.21 ± 8.64 세이며, 건강 대조군의 평균 나이는 51.04 ± 8.80 세로 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 1). 이번 연구에서 사용된 유전 정보는 호서대학교에서 연구윤리 승인을 받은 후 분석을 수행하였다(1041231-210223-BR-120-02).

Table 1. Asthma cases and controls in the KARE cohort

Characteristics	Controls	Asthma	P-value
Number of subjects	3,228	193	-
Sex (male [%]/female [%])	1,638 (50.7)/1,590 (49.3)	70 (36.3)/123 (63.7)	<0.001
Age (M years±s.d.)	51.04±8.80	55.28±8.64	<0.001

Abbreviations: KARE, Korean Association REsource; M, mean value; s.d., standard deviation.

2. 유전형 분석과 single Nucleotide Polymorphism (SNP) 선별

이번 연구에서는 KARE 유전 자료를 기반으로 천식과 관련된 SNP를 선별하였다. DNA 시료는 연구 참여자의 말초 혈액에서 분리 추출하였으며, Affymetrix Genome-Wide human SNP array 5.0 (Affymetrix, Inc., Santa Clara CA, USA)을 사용하여 유전형 판독을 하였다. 유전형 판독 정확도가 98% 이하이거나, 4% 이상의 높은 missing genotype call rate를 나타내거나, 30% 초과 heterozygosity를 가지거나, 성별이 일치하지 않는 대상자들은 연구 대상자에서 제외되었다. 본 연구는 *NDFIP2* 유전자 전사체 부위에 존재하는 SNP들을 대상으로 진행되었다. UCSC Genome browser on human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)을 이용하여 *NDFIP2*에 위치한 SNP들의 염색체 상의 위치를 알아내었다. 또한, 실제 실험적으로 SNP의 유전형을 확인한 것 이외에 MACH 1.0.16를 이용하여 *NDFIP2*에 위치한 16개의 imputation SNP를 발굴하여 이를 이번 연구에 사용하였다[18]. Imputation은 HapMap database (release 24)에서 중국인(Han Chinese from Beijing)과 일본인(Japanese in Tokyo)의 데이터를 참고로 진행하였다[19]. Imputation한 SNP들 중에서 minor allele frequency (MAF)가 1% 미만이거나 상관계수(r^2)가 0.5 미만인 것은 분석 대상에서 제외하였다.

3. 유전형과 유전자 발현의 상관분석

유전형에 따른 유전자 발현의 상관관계를 알아보기 위해 두 가지 데이터베이스를 이용하였다. 첫 번째로, Regulome DB (<http://www.regulomedb.org/index>)를 사용하여 해당 유전자 영역의 SNP가 유전자 또는 단백질 발현에 어떤 영향을 미치는지 확인해 보았다. Regulome DB는 gene expression omnibus와 encyclopedia of DNA elements 프로젝트 등의 실험 데이터를 기반으로 유전적 변이가 전사 인자 결합 및 유전자 발현에 미치는 영향을 예측하고 점수화하는 데이터베이스이다.

두 번째로 GTExPortal (genotype-tissue expression; <https://gtexportal.org/home/>)를 이용하여 유전형에 따른 유전자 발현량의 증가 혹은 감소를 알아보았다. GTEx Portal은 54개의 비분리 조직 부위에서 수집한 데이터를 기반으로, 유전자변이, 유전자 발현, eQTL (Expression Quantitative Trait Locus) 및 조직학적 이미지를 정리한 사이트로 유전적 변이에 따른 유전자 발현량의 증가 또는 감소를 확인할

수 있다.

4. 상관성 분석과 통계 분석

본 연구에서는 PLINK version 1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink>)과 PASW Statistics version 18.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 사용하여 13번 염색체에 위치한 *NDFIP2*와 천식 발현의 연관성 통계분석을 진행하였다. 천식 환자군과 건강 대조군 사이의 유전적 변이의 상관성 분석을 위해 로지스틱 회귀 분석(Logistic Regression)을 사용하였으며 우성 유전 모형을 기반으로 하였다. 연구 대상자의 지역, 성별, 나이는 공변수로 처리하여 로지스틱 회귀 분석을 시행하였으며, 분석 값에 대한 유의 수준은 0.05 이하를 기준으로 선별하였다. 웹 기반 프로그램인 Locuszoom version 1.1 (<http://csg.sph.umich.edu/locuszoom>)을 활용하여 regional association plots을 확인하였다[20].

결 과

1. *NDFIP2* 유전자 영역의 SNP 선별 및 천식과의 상관성 분석

NDFIP2 유전자는 UCSC Genome browser on human Mar. 2006 (NCBI36/hg18)를 활용하여 해당 염색체에서의 *NDFIP2* 유전자의 위치를 알아내었다. 해당 유전자의 범위를 설정한 후 KARE 유전형 자료에서 이에 위치하는 SNP를 확인하였다. 우선, *NDFIP2* 유전자 범위에 포함된 SNP들을 선별하였고, 선별된 SNP를 대상으로 하여 천식 환자군과 건강한 사람을 대조군으로 하여 로지스틱 회귀 분석을 시행하였다. 그 결과 *NDFIP2*와 통계적으로 유의한 상관관계($P < 0.05$)를 가진 4개의 SNP를 알아낼 수 있었다(Table 2). *NDFIP2*의 SNP 중 rs2783122는 가장 높은 유의성($P = 9.76 \times 10^{-6}$)을 나타냈다. 상대적 위험도(odds ratio, OR)는 1.675로 나타났으며, 95% 신뢰구간(confidence interval, CI)은 1.33~2.10으로 나타났다. 4개의 SNP 모두 천식에 대한 상대적 위험도가 높게 나타났기 때문에 minor allele를 가질 경우 천식 발생률이 증가하는 방향으로 상관성이 있음을 알 수 있었다.

2. *NDFIP2* 유전자의 SNP를 imputation한 후 천식과의 상관성 분석

NDFIP2 유전자의 SNP를 imputation을 통해 확장한 후 천식과 연관성을 알아보았다. 그 결과 총 16개의 SNP이 천식과 통계적으로 유의한 상관관계($P < 0.05$)를 보이는 것을 확인할 수

Table 2. The associated SNPs ($P < 0.05$) in the *NDFIP2* with asthma in the KARE cohort

Gene	Chr	No.	SNP	BP	Function	A1	A2	MAF		OR (95% CI)	P-value
								Case (N=193)	Control (N=3,228)		
<i>NDFIP2</i>	13	G1	rs17071545	78988115	Intronic	A	G	0.166	0.107	1.61 (1.21~2.13)	9.00×10^{-4}
		G2	rs1475797	78991826	Intronic	A	C	0.288	0.201	1.58 (1.25~2.00)	1.05×10^{-4}
		G3	rs2783122	79001279	Intronic	G	A	0.316	0.218	1.67 (1.33~2.10)	9.76×10^{-6}
		G4	rs1408049	79011653	Intronic	G	C	0.314	0.218	1.66 (1.32~2.09)	1.33×10^{-5}
		I1	rs7990344	78957081	Intronic	C	T	0.303	0.216	1.59 (1.26~2.00)	9.53×10^{-5}
		I2	rs8002042	78958688	Intronic	A	G	0.286	0.209	1.52 (1.203~1.93)	4.75×10^{-4}
		I3	rs1577418	78959508	Intronic	A	C	0.303	0.216	1.59 (1.26~2.00)	9.53×10^{-5}
		I4	rs17071512	78960018	Intronic	C	T	0.159	0.103	1.57 (1.182~2.11)	2.00×10^{-3}
		I5	rs1335370	78960767	Intronic	T	A	0.303	0.216	1.59 (1.26~2.00)	9.53×10^{-5}
		I6	rs6563113	78962136	Intronic	G	A	0.286	0.209	1.52 (1.203~1.93)	4.75×10^{-4}
		I7	rs1335368	78974432	Intronic	A	G	0.308	0.219	1.60 (1.277~2.02)	5.54×10^{-5}
		I8	rs9565510	78982351	Intronic	G	A	0.312	0.219	1.62 (1.294~2.04)	3.22×10^{-5}
		I9	rs7339303	78988866	Intronic	A	G	0.294	0.212	1.56 (1.238~1.97)	1.74×10^{-4}
		I10	rs9574434	78993542	Intronic	C	T	0.313	0.220	1.62 (1.293~2.04)	3.22×10^{-5}
		I11	rs2760106	78996990	Intronic	C	A	0.313	0.218	1.64 (1.307~2.06)	2.16×10^{-5}
		I12	rs2783119	78997119	Intronic	A	G	0.295	0.211	1.58 (1.253~1.99)	1.11×10^{-4}
I13	rs2783121	79001230	Intronic	T	C	0.270	0.189	1.60 (1.245~2.06)	2.53×10^{-4}		
I14	rs2760105	79007868	Intronic	G	A	0.297	0.210	1.59 (1.266~2.01)	7.94×10^{-5}		
I15	rs987284	79021985	intronic	C	A	0.314	0.218	1.65 (1.317~2.08)	1.58×10^{-5}		
I16	rs1212082	79024769	3_UTR	A	G	0.293	0.209	1.58 (1.254~2.00)	1.16×10^{-4}		

Residential area, age, and sex were included as covariates in this study.

Abbreviations: Chr, chromosome; BP, base pair; A1, minor allele; A2, major allele; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; CI, confidence interval; G of No., genotyped SNP's number; I of No., imputed SNP's number.

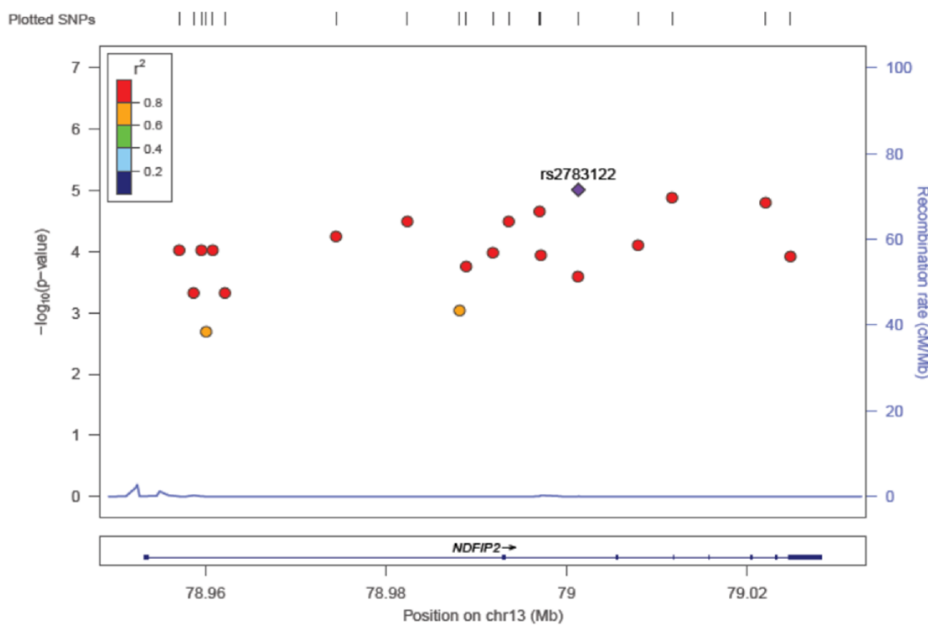


Figure 1. Regional plot showing SNPs location in *NDFIP2*. The position of the SNPs in gene are shown at the top. The statistical significance ($-\log_{10} P$ -value) of the association of *NDFIP2* with asthma is indicated. The purple diamond (rs2783122) with the most significant SNP number indicates the SNP most strongly associated with asthma. SNPs are shown in the indicated colors according to the levels of linkage disequilibrium (r^2). At the bottom, the position (Mb) of the *NDFIP2* gene on chromosome 13 (NCBI build 36) is shown along with the gene structures.

있었다(Table 2). 또한 16개의 SNP 모두에서 상대적 위험도가 높게 나타났으므로 genotype 결과와 마찬가지로 minor allele를 가질 경우 major allele를 가질 때 보다 천식 발병률이

증가한다는 것을 알 수 있었다. Imputation 수행 후 천식 발병과 유의한 상관관계를 가지는 SNP들이 많다는 것은 *NDFIP2* 유전자가 천식과 관련이 있다는 것을 다시 한번 증명해주는 결

과이다.

3. *NDFIP2* 유전자 SNP의 linkage disequilibrium (LD) 구조

웹 기반 프로그램인 Locuszoom version 1.1 (<http://csg.sph.umich.edu/locuszoom>)을 이용하여 *NDFIP2* 유전자 SNP의 regional association plot을 확인하였다. 그 결과, *NDFIP2*에서 가장 높은 유의 수준을 보이는 rs2783122은 보라색 다이아몬드로 표시되어 있는 것을 볼 수 있다(Figure 1). 그 밖에 통계적으로 유의한 19개의 SNP들이 *NDFIP2* 유전자 영역에 골고루 분포되어 있는 것을 알 수 있었는데 이는 20개의 SNP이 하나의 LD 블록을 형성하고 있음을 의미한다.

4. *NDFIP2* 유전자 영역의 SNP이 유전자 발현에 미치는 영향

Regulome DB와 GTEx Portal을 이용하여 SNP의 유전형에 따른 유전자 발현의 상관관계를 알아보았다. 먼저 Regulome DB 분석 결과 3a 이상의 유의미한 score를 기록한 *NDFIP2* 유전자의 SNP은 6개였다. 유의미한 결과가 나타나는 것은 이 SNP이 해당 유전자 발현에 영향을 줄 수 있다는 것을 의미하는데 3a의 score는 SNP이 전사 인자 결합 반응(TFBS, transcription factor binding site)에 영향을 미치고, DNase peak 차이가 있음을 의미한다. rs7990344는 TP73의 motif로 작용하고, rs7339303는 NANOG, RARA의 motif로 작용하기 때문에 *NDFIP2* 유전자 발현에 영향을 줄 것으로 예상된다(Table 3).

다음으로 GTEx Portal (<https://gtexportal.org/home/>)에서 SNP이 minor allele를 가질 경우 유전자 발현량이 증가 혹은 감소하는지 알아보았다. *NDFIP2* 유전자 SNP 중 유의미한 상관관계($P < 0.05$)를 보이는 rs1408049을 이용하여 유전

형별 조직에서의 유전자 발현량을 측정하였다. GTEx Portal에서는 수집된 데이터를 기반으로 유전자 발현량을 제공해 주는데, 해당 SNP의 조직에서의 유전자 발현 분석은 고환과 근육에서 진행되었기 때문에, P 값이 더 낮은 근육 조직의 데이터를 본 연구에 활용하였다. 검정 박스 안에 있는 흰색 선이 유전자 발현

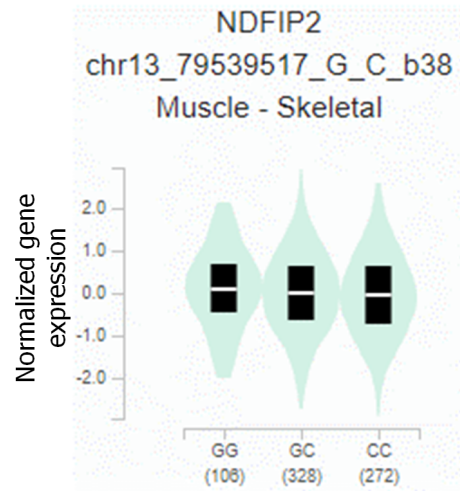


Figure 2. Genotype-based mRNA expression in tissue using data from the GTEx Portal for SNP (rs1408049) in *NDFIP2* (P -value=0.000066, NES=-0.085). Significant association between genotypes and *NDFIP2* expression levels in the GTEx portal was detected with the linear regression model and based on a P -value threshold determined by a web-based eQTL calculator on the GTEx portal. The allele effect on *NDFIP2* gene expression levels is shown by boxplots within violin plot. C and G alleles indicate the major and minor allele types, respectively. The white line in the box plot (black) shows the median value of the gene expression at each genotype. When having a minor allele (C>G), it shows that the gene expression level was increased. P -value are calculated with the linear regression model. NES (normalized effect size) means the slope of the linear regression model.

Table 3. Result of the regulome DB with SNPs in the *NDFIP2*

Gene	SNP	BP	A1	A2	Regulome				
					Score	TFBS	DNase	Proteins bound	Motifs
<i>NDFIP2</i>	rs7990344	78957081	C	T	3a	+	+	TCF12, HNF4A, ATF3, POLR2A, FOSL2, SIN3A, CREB1, ASH2L, EP300	TP73
	rs7339303	78988866	A	G	3a	+	+	GATA1, ZMYM3	NANOG, RARA
	rs1475797	78991826	A	C	3a	+	+	SPI1	HOXA10, HOXA11, HOXA13, HOXC12, HOXC13, HOXD10, HOXD11, HOXD12, HOXD13, PDX1, POU2F1, POU2F2
	rs2783122	79001279	G	A	3a	+	+	ZSCAN5C, HEK293T, HEK293	AIRE
	rs1408049	79011653	G	C	3a	+	+	ZBTB17	FOXD2
	rs987284	79021985	C	A	3a	+	+	ZNF189, GATA2, RCOR1, EP300, GATA3	SPIC

Abbreviations: BP, base pair; A1, minor allele; A2, major allele; TFBS, transcription factor binding site.

의 중앙값을 의미하며, minor allele (C>G)를 가질 경우 유전자 발현량이 증가하는 것을 알 수 있었다(Figure 2).

고찰

이번 연구에서는 한국인 코호트를 이용하여 *NDFIP2*에 속해 있는 SNP의 유전적 다형성이 천식 발병에 어떠한 영향을 주는 지 알아보았다. 천식 발생 원인은 크게 숙주(유전) 인자와 환경 인자가 있으며, 이들의 복잡한 상호관계에 의해 발병하게 된다 [21]. 천식 환자는 국내외에 흔한 질병으로 전세계 인구의 20~30%가 천식을 가지고 있으며, 우리나라에서도 400만 명 이상의 천식 환자가 있다고 추정되고 있다. 이 수치는 20년 전과 비교했을 때 3배로 증가하였으며, 현재 계속 증가하는 추세이다 [22]. 현재 천식 치료제로 주로 쓰이는 코르티코스테로이드는 피부위축, 모세혈관확장, 탄살, 피부궤양, 여드름모양 반응, 색소 변화, 감염, 알레르기 접촉피부염 등 다양한 부작용이 발생할 수 있다[7]. 따라서 천식을 미리 예방하고 조기 진단하여 증증으로 가지 않게 관리하는 것이 중요해지고 있다. 현재, 질병을 예방하기 위해 질병과 관련된 유전자를 찾는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

천식은 알레르기질환 중 유전학적으로 가장 연구가 많이 진행된 질병이다. 많은 유전자의 변이가 천식의 증상(기도과민성, 기관지 확장, 폐 기능 등)에 영향을 미친다고 보고되고 있다 [23]. 본 연구에 앞서 KARE 코호트를 이용한 천식 GWAS (Genome Wide Association Study)를 진행하였고, *NDFIP2*에 속한 rs2783122이 높은 유의성을 보였다. 또한, 현재 *NDFIP2* 유전자와 천식의 연관성을 실험적으로 증명한 연구는 보고되었지만[24], 대내외적으로 유전형 코호트를 이용한 연구는 아직 보고되어 있지 않아 *NDFIP2* 유전자를 주제로 연구를 진행하게 되었다. *NDFIP2* 유전자는 E3 유비퀴틴 리가제의 Nedd4를 활성화시켜 유비퀴틴화 과정을 일으킬 뿐만 아니라 MAPK 신호 전달 경로를 조절하는 역할을 한다. MAPK 경로에는 크게 3가지 경로인 ERK 경로, JNK 경로, p38 경로가 존재하는데 이 중 ERK 경로는 MAPK 신호 전달 경로 중 가장 잘 특성화된 경로이며, 고전적인 MAPK 경로라고 한다[25]. ERK 경로가 일어나게 되면, 실제 천식 환자에서 유의미하게 증가하는 단백질인 JunB와 sprout-2가 생성된다. 이 중 JunB 단백질은 면역 활동을 억제하는 역할을 하는 세포의 활동을 제어하는 역할을 한다. 특히 이 단백질은 폐와 결장에서 eTreg (Effector Regulatory T Cells) 세포의 특정 기능을 조절하여 Th2 세포 분화를 주도하며, JunB가 증가하게 되면 Th2 사이토카인의 발

현이 증가하게 된다[13, 26, 27]. Th2의 면역반응이 활발해지면 주로 천식, 아토피와 같은 알레르기 질환이 나타나게 된다. 그러므로 Th2의 면역반응을 억제하여 알레르기 질환을 치료하는 연구가 보고되고 있다.

이번 연구 결과, *NDFIP2*의 유전변이가 통계적으로 유의미하게 천식 발병에 영향을 준다는 것을 증명하였다. 특히, 조사한 SNP들이 minor allele를 가질 경우 천식 발병률이 증가한다는 것을 알 수 있었다. 그 이유를 알아보기 위해 유전형에 따른 유전자 발현 사이의 상관 분석을 하였고, minor allele를 가질 경우 *NDFIP2* 유전자 발현량이 증가되는 것을 알 수 있었다(Figure 2). 증가된 *NDFIP2* 발현은 MAPK 경로를 활성화시켜 JunB 단백질 생성을 증가시킬 수 있고, 이는 Th2의 활성을 촉진시켜 천식을 유발할 가능성이 높아진다. 이와 관련된 연구로 실제 천식 환자에서 특징적으로 JunB가 증가하는 현상이 보고되고 있다 [28].

현재 천식에 관한 많은 연구들은 치료제 개발에 초점을 맞추어 진행되고 있다. 그러나 본 연구는 천식 발병에 영향을 미치는 유전적 요인을 주제로 연구를 진행하였다는 점에 의의가 있다. 향후 천식에 대한 유전적 요소를 가진 환자를 통한 연구가 더욱 진행될 것으로 예측되며, 본 연구를 통해 천식 환자의 예방과 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대한다.

요약

천식은 만성 염증성 기도 폐쇄 질환이다. 질병 발생 요인은 다양하며 특히, 유전적 요인과 환경적 요인이 천식 발병에 영향을 미치는 것으로 추정된다. MAPK (mitogen-activated protein kinase) 경로는 Th1/Th2의 균형을 조절하며, 천식 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 MAPK 경로를 조절하는 *NDFIP2* 유전자와 천식 발병과의 상관관계를 분석하였다. 193건의 천식 환자와 3,228건의 정상 대조군의 유전형 데이터를 사용하였다. 그 결과 *NDFIP2* 안에 있는 4개의 SNP이 천식과 유의한 상관관계와 높은 상대적 위험도를 보였다. 특히 *NDFIP2*의 rs2783122는 천식과 통계적으로 가장 유의한 연관성을 나타냈다(P -value= 9.76×10^{-6} , OR=1.67, 95% CI=1.33~2.10). *NDFIP2* 유전자에 대한 SNP imputation 결과 16개의 SNP가 추가 발견되었으며, 모두 유의한 상관 관계와 높은 상대적 위험도를 나타냈다. 유전자형 기반 mRNA 발현 분석을 통해 rs1408049가 minor allele를 가질 경우 유전자 발현이 증가됨을 알 수 있었다. 증가된 *NDFIP2* 발현은 MAPK 경로를 활성화시켜 천식 발병에 영향을 미칠 수 있다. 결

론적으로 *NDFIP2*의 다형성은 천식 발병과 관련이 있으며, 이는 한국 인구의 천식 관리에 대한 새로운 지침을 제공할 수 있다.

Acknowledgements: This study was conducted with bioresources from National Biobank of Korea, the Korea Disease Control and Prevention Agency, Republic of Korea (KBN-2021-023).

Conflict of interest: The authors have no conflicts of interest to disclose.

Author's information (Position): Choi EH, Undergraduate student; Hwang D, Professor.

REFERENCES

- Do HY, Yu CH, Kang SW, Kim KI, Lee BJ, Jung HJ. A comparative analysis of deficiency-excess pattern identification with sputum cytokines and the characteristics of asthma patients. *Korean J Orient Int Med*. 2019;40:582-596. <https://doi.org/10.22246/jikm.2019.40.4.582>
- Ahn YS, Koh DH, Moon KT. The etiologic fraction of isocyanate-related asthma in isocyanate-exposed workers. *Korean J Occup Environ Med*. 2007;19:276-284. <https://doi.org/10.35371/kjoem.2007.19.4.276>
- Park IS, Yun HK. Asthma worsening factors of adolescent asthma patients in Korea-associated with intake of antioxidant food. *J Digit Converg*. 2017;15:297-304. <https://doi.org/10.14400/JDC.2017.15.6.297>
- Kim JH. Diagnosis of severe asthma: definition and identification. *Korean J Med*. 2018;93:153-158. <https://doi.org/10.3904/kjm.2018.93.2.153>
- Braun CM, Huang SK, Bashian GG, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Essayan DM. Corticosteroid modulation of human, antigen-specific Th1 and Th2 responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100:400-407. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70255-0](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70255-0)
- Barnes PJ, Woolcock AJ. Difficult asthma. *Eur Respir J*. 1998;12:1209-1218. <https://doi.org/10.1183/09031936.98.12051209>
- Lee JH, Park YM. Proper use of topical corticosteroids. *J Korean Med Assoc*. 2018;63:632-636. <https://doi.org/10.5124/jkma.2018.61.10.632>
- Yu SR, Jeong SY, Jung JH, Kim JJ, Jung SK. Association study of glutathione-s-transferase M1/T1 gene polymorphism with deficiency-excess differentiation-syndrome in Korean bronchial asthmatics. *Korean J Orient Int Med*. 2007;28:453-463.
- Hwang WS, Jeong SY, Kim JJ, Jung DY, Jung SK. Analysis of monocyte chemoattractant protein 1(MCP-1) polymorphism in Korean patients with asthma. *Korean J Orient Int Med*. 2008;29:32-41.
- Cho SG, Lee ER, Kim JY, Ahn JY. Protein phosphorylation as a regulatory mechanism of various cellular function. *J Cancer Prev*. 2006;11:1-8.
- Kim SH, Kim HJ, Park YN, Cho SH. The expression of extracellular signal regulated kinase (ERK) in non-small cell lung carcinoma. *Korean J Pathol*. 2001;35:361.
- Atsavas V, Lekakis L, Drakos E, Leventaki V, Ghaderi M, Baltatzis GE, et al. The oncogenic JUNB/CD30 axis contributes to cell cycle deregulation in ALK plus anaplastic large cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2014;167:514-523. <https://doi.org/10.1111/bjh.13079>
- Li B, Tournier C, Davis RJ, Flavell RA. Regulation of IL-4 expression by the transcription factor JunB during T helper cell differentiation. *EMBO J*. 1999;18:420-432. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.2.420>
- Mo JH. T cell differentiation and Th17. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg*. 2008;51:688-693.
- Wuyts WA, Vanaudenaerde BM, Dupont LJ, Demedts MG, Verleden GM. Involvement of p38 MAPK, JNK, p42/p44 ERK and NF- κ B in IL-1 β -induced chemokine release in human airway smooth muscle cells. *Respir Med*. 2003;97:811-817. [https://doi.org/10.1016/S0954-6111\(03\)00036-2](https://doi.org/10.1016/S0954-6111(03)00036-2)
- Poreau B, Lin S, Bosson C, Dieterich K, Satre V, Devillard F, et al. 13q31.1 microdeletion: a prenatal case report with macrocephaly and macroglossia. *Eur J Hum Genet*. 2015;58:526-530. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2015.09.003>
- Yoon SC, Min JG, Young JK, Jee YH, Ji HO, 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>
- 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. <https://doi.org/10.1002/gepi.20533>
- Gibbs RA, Belmont JW, Hardenbol P, Willis TD, Yu FL, Yang HM. The international HapMap project. *Nature*. 2003;426:789-796. <https://doi.org/10.1038/nature02168>
- Pruim RJ, Welch RP, Sanna S, Teslovich TM, Chines PS, Gliedt TP, et al. LocusZoom: regional visualization of genome-wide association scan results. *BMC Bioinform*. 2010;26:2336-2337. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq419>
- Yun MJ. Factors related to asthma in Korean adults: a secondary data analysis of the Korea national health and nutrition examination survey from 2016. *Korean J Adult Nurs*. 2019;31:259-268. <https://doi.org/10.7475/kjan.2019.31.3.259>
- Park CS. Genetics of branchal asthma. *Tuberc Respir Dis*. 2006;60:391-396. <https://doi.org/10.4046/trd.2006.60.4.391>
- Sohn MH. Overview and challenges of current genetic research on allergic diseases in Korean children. *Allergy Asthma Respir Dis*. 2018;6(Suppl 1):77-84. <https://doi.org/10.4168/aard.2018.6.S1.S77>
- Lund RJ, Löytömäki M, Naumanen T, Dixon C, Chen Z, Ahlfors H, et al. Genome-wide identification of novel genes involved in early Th1 and Th2 cell differentiation. *J Immunol*. 2007;178:3648-3660. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.6.3648>
- Zhang W, Liu HT. MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Res*. 2002;12:9-18.
- Alam R, Gorska MM. Mitogen-activated protein kinase signalling and ERK1/2 bistability in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:149-159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03658.x>
- Koizumi S, Sasaki D, Hsieh T, Taira N, Arakaki N, Yamasaki S, et al. JunB regulates homeostasis and suppressive functions of effector regulatory T cells. *Nat Commun*. 2018;9:1-14. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03658-x>

org/10.1038/s41467-018-07735-4
28. Chen S, Yun F, Yao Y, Cao M, Zhang Y, Wang J, et al. USP38 critically promotes asthmatic pathogenesis by stabilizing JunB

protein. *J Exp Med*. 2018;215:2850-2867. <https://doi.org/10.1084/jem.20172026>