신이식 환자에서 Interleukin-10과 Interferon-γ의 유전적 다형성과 이식신의 예후와의 관계

한림대학교 의과대학 내과학교실

채 동 완

배 경 : Cytokine 유전자의 promotor region 및 intron의 다양한 유전적 다형성은 cytokine 유전자의 전사 및 단백질 생성에 영향을 미쳐 면역반응에서 생성되는 cytokine의 양적 차이를 유발하므로써 각 개인의 여러 염증성 질환에 대한 감수성 및 중증도에 관여한다. 최근 INF-γ의 first intron의 (CA) dinucleotide의 다형성과 IL-10 promotor region의 -1082(G/A) polymorphism은 면역자극에 의한 cytokine 생성양의 차이를 일으킴이 보고되고 있다. Cytokine은 세포간의 신호를 전달하는 물질로서 이식신에 대한 면역학적 반응에 중심적인 역할을 한다. 이식항원에 의하여 활성화된 helper T cell은 IL-2와 IFN-γ을 주로 분비하는 Th1 cell과 IL-4와 IL-10을 주로 생성하는 Th2 cell로 분화한다. Th1 cell의 주된 cytokine인 IFN-γ는 대식세포와 NK 세포의 세포독성을 증가시키고 주조직항원의 발현을 증가시키므로서 이식장기에 대한 거부반응에 중요한 역할을 하는 반면 Th2 cell에서 생성되는 IL-10은 염증반응 및 세포매개면역반응을 억제하여 이식장기에 대한 관용을 촉진하는 것으로 알려져 있으며 이미 연구자들은 급성거부반응의 소견을 보이는 이식신 생검조직에서 IFN-γ/IL-10 유전자 전사 비율이 큰폭으로 증가 함을 관찰하였다. 이에 연구자들은 신이식환자의 IFN-γ와 IL-10의 유전적 다형성을 PCR과 restriction enzyme을 사용하여 조사하고 cytokine들의 유전적 다형성과 신이식 후 급성거부반응 발생, 이식신의 기능, 이식 후의 감염성 합병증과의 상관관계를 관찰하여 신이식 환자 개개인에 고유한 Th1/Th2 cytokine들의 유전적 편향성이 이식신의 예후에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

방 법 :

1) 대 상 : 한림대학교 강동성심병원에서 1991년도부터 2000년 6월까지 신이식을 받은 환자로 6개월 이상 추적검사가 이루어진 환자 173명을 연구대상으로 하였다.

2) 방 법 : 대상환자의 buffy coat에서 genomic DNA를 분리하였다. IL-10 promotor region의 -592(A/C), -819(T/C), -1082(G/A)의 유전적 다형성은 0.5ug의 genomic DNA를 template로 하여 아래 표와 같이 PCR 시행후 restriction enzyme으로 digest하여 분석하였다.

	-592(A/C),	-819(T/C),	-1082(G/A)
primer	5'cctaggtcaygacgtgg 3' 5'ggtgagcatacctgactagc 3'	5'tcattctatgtgctggagatg 3' 5'tggggaagtgggtaagagt 3.	5'ctcgctgcaacccaactggc3' 5. tcttacctatccctacttcc 3'
PCR size(bp)	412	209	139
restriction enzyme	Rsa I	Mae III	Mnl I
digest pattern	cut A(178+236bp)	cut C(125+84bp)	cut G(106+33bp)

INF-γ의 first intron의 (CA) dinucleotide의 다형성은 1ug의 genomic DNA를 primer 5'gctg-tcataataatattcagac3'와 5'cgagctttaaaagatagttcc3'로 증폭 후 8% polyacrylamide gel에서 전기영동 후 silver staining하여 분석하였다.

결 과 :

1) IL-10 promotor의 -592(A/C) 유전적 다형성은 AA가 173례 중 88례(50.9%), AT가 72례(41.6

%), CC가 13례(7.5%)이었으며 gene frquency는 A가 0.72 C가 0.28이었다. -819(T/C)의 경우 TT가 171례 중 87(50.8%), AT가 71례(41.5%), CC가 13례(7.7%)이었으며 gene frequency는 A가 0.72 C가 0.28이었다. 특징적으로 -592(A/C)의 AA, AT, CC genotype은 각각 -819(T/C)의 TT, TC, CC genotype과 link되었다. -1081 locus에서 다형성은 GG가 173례 중 0(0%), GA가 16례(9.2%), AA가 157례(90.8%)이었고 gene frequency는 A가 0.95, G가 0.05이었다. 따라서 본 환자에서 관찰된 IL-10 promotor의 genotype은 AA/TT/AA가 86례, AT/TC/AA가 59례, CC/CC/AA가 9례, AC/TC/GA가 12례, CC/CC/GA가 4례, AC/TT/GA가 1례이었다.

2) IFN-γ의 1st intron의 CA dinucleotide의 유전적 다형성은 분석된 55례중 22/24 genotype이 48명(87%), 24/26 genotype이 7명(13%)이었다.

3) IL-10 promotor -592(A/C), -819(T/C), -1081(G/A)의 genotype과 급성거부반응 발생유무와는 상관관계가 없었다. 또한 IFN-γ의 CA dinucleotide의 유전적 다형성과 급성거부반응의 발생과도 유의한 관계가 없었다.

4) 이식신의 장기적 신기능을 분석하기 위하여 최종 추적검사의 혈중 Cr치가 이식후 가장 낮았던 혈중 Cr치의 2배 이상 상승한 경우를 비교하였다. IL-10 promotor -592(A/C), -819(T/C)의 gnotype과 혈중 Cr의 상승과는 관련이 없었으나 최종 혈중 Cr치의 2배이상 상승이 -1081(G/A)의 AA genotype 157명중 11명에서 관찰된 반면 GA genotype 16명 모두에서는 관찰되지 않았다. 또한 최종 혈중 Cr치의 2배이상 상승이 IFN-γ의 CA dinucleotide의 유전적 다형성에서 48명의 22/24 genotype중 4명에서 관찰된 반면 7명의 24/26 genotype 모두에서 관찰되지 않았다.

결 론 : 우리나라에서 IL-10과 IFN-γ의 유전적 다형성의 양상은 외국의 보고와 현저한 차이가 있었다. IL-10과 IFN-γ의 유전적 다형성과 급성거부반응의 상관관계는 관찰되지 않았다. 통계적 유의성에 도달하지 못하였지만 IL-10의 high producer인 -1081(G/A)의 G genotype에서 최종 이식신기능의 저하가 적었던 반면 IFN-γ의 high producer인 22 repeat genotype에서 최종 이식신기능의 저하가 다른 genotype에 비하여 많이 관찰되었다.