

패혈증에서 tumor necrosis factor 유전자 및 lymphotoxin- α 유전자 다형성의 양상 및 영향

경희대학교 내과학교실, 생화학교실* 김구엽, 백형환*, 조용호*, 서환조

연구배경: Tumor Necrosis Factor (TNF)는 패혈증과 다발성 장기부전의 가장 중요한 핵심 매개인자로써 알려져 있다. 또한 혈액내 높은 TNF 수치는 패혈증, 뇌 말라리아, 췌양성 대장염과 기타 염증성 질환에서 높은 사망률과 깊은 관련이 있음이 알려져 있다. TNF와 Lympho- toxin- α (LT- α)는 사람의 조직적합항원 (Human leucocyte antigen, HLA)의 제3군 부위에 위치하고 있으며, 이 부위는 유전자다형성을 갖는 것으로 여러 실험에서 보고된 바 있다 (TNF는 promoter 부위에 있고, LT- α 는 intron 부위에 있다). 이러한 유전자 다형성은 TNF 유전자와 LT- α 유전자의 발현 정도에 중요한 영향을 미칠 것으로 판단된다.

연구목적: (1) TNF 유전자 promoter 부위의 유전자다형성과 LT- α 유전자 intron 부위의 유전자다형성이 TNF 유전자의 발현에 미치는 효과를 알아보고, (2) TNF 유전자의 유전자다형성과 LT- α 유전자의 유전자다형성이 패혈증과 다발성 장기부전과 같은 염증성 질환에서 염증반응의 진행과정을 예측할 수 있는 인자로 사용될 수 있는지를 확인하고자 다음과 같은 연구를 시행하였다.

연구방법: 전체 24명의 자원자로부터 전혈을 채혈하고 이로부터 DNA를 추출하고 TNF promoter 부위와 LT- α intron 부위를 중합효소연쇄반응법 (polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭한 후 제한효소로 절단하여 유전자다형성을 분석하였다. 또 유전자다형성이 있는 군과 유전자다형성이 없는 군에서 다시 채혈하여 세포배양한 후, 역전사 유전자증폭 (RT-PCR)과 ELISA를 이용하여 TNF 생산능을 측정하였다.

연구결과: 24명의 대상중 4명에서 LT- α 의 intron 부위에서 heterozygous(B1/B2) 유전자다형성을 확인했다. 그러나 TNF promoter 부위는 변이가 없었다. 이들 4명의 heterozygous(B1/B2) 군과 정상대조군 4명으로부터 채혈한 말초혈액에서 Lipopolysaccharide (LPS) 자극에 의한 TNF 생산능에는 의미있는 차이가 없었다.

결론: 1) 실험결과를 TNF promoter 부위의 유전자다형성이 낮은 빈도로 나타난다는 이전의 연구결과를 확인시켜 주었다. 2) LT- α 의 intron 부위에서 heterozygous (B1/B2) 유전자다형성은 TNF 발현에 의미있는 영향력이 없을 것으로 보인다.

난알부민을 이용한 기니픽 천식모델에서 감각 방법에 대한 연구

서울의대 내과, 서울대학교 알레르기 및 임상면역연구소

이병재*, 박홍우, 김상현, 장윤석, 정재원, 손지웅, 조상현, 민경업, 김유영

목적: 기니픽은 외부단백질에 쉽게 감각되고, 항원에 제자 노출시 기관지과민성과 호산구의 침윤을 쉽게 관찰할 수 있으며 폐의 조직조건이 사람과 유사해서 천식의 실험동물로 널리 이용되고 있다. 기니픽의 감각에는 대부분 난알부민이 이용되고 있으나 현재까지 항원의 투여 경로, 즉 감각 방법 자체에 대한 연구는 아주 미비한 상태이다. 저자들은 27마리의 기니픽들을 난알부민을 복강내 주사하여 감각시킨 군(13마리)과 흡입 감각시킨 군(14마리)으로 각각 나눈 후 난알부민을 이용한 흡입유발시험을 통해 두군간에 천식 발현의 차이를 확인하고자 하였다.

방법: 기니픽 13마리는 10ug 난알부민과 Al(OH)₃를 1주 간격으로 2회 복강내 주사하고(A군), 14마리는 2% 난알부민을 5분간 1주 간격으로 2회 흡입시켰다(B군). 이후 3개월에 걸쳐 2주 간격으로 0.1%, 0.5%, 1%, 2% 농도의 난알부민으로 흡입유발시험을 시행하고 천식반응의 양상을 비교 관찰하였다. 폐기능의 변화지표로는 one chamber whole body plethysmography상의 P_{enh}(enhanced pause)를 이용하였다. 유발시험 후 P_{enh}가 기저치보다 200%이상 증가할 때 천식반응이 있는 것으로 간주하였으며 그때의 난알부민 농도를 PC₂₀₀로 정의하였다.

성적: A군은 13마리중 12마리(92%)가 천식반응을 보였으며 이중 11마리는 첫 유발시험때부터 천식반응을 보였다. B군은 14마리중 11마리(71%)에서 천식반응을 관찰할 수 있었는데, 5마리는 첫 유발시험때부터 천식반응을 보였고 6마리는 처음에는 반응을 보이지 않다가 유발시험이 반복되면서 천식반응을 나타내었다. 최초 천식반응을 분석했을 때 PC₂₀₀의 기하평균은 A군은 0.26, B군은 1.21로 A군이 더 낮은 농도의 난알부민에 천식반응을 보였다(p<0.05). 2주 간격으로 항원유발시험을 반복했을 때 A군의 천식반응 양상은 거의 일정하였던 반면, B군은 변화가 많았고 처음에는 양성반응을 보이다가 나중에는 반응이 나타나지 않는 경우도 있었다. A군중 1마리, B군중 3마리는 3개월간 한번도 천식반응을 보이지 않았다.

결론: 난알부민을 이용한 기니픽의 감각시 복강내 감각 방법이 일정한 천식반응을 유도하는데 유리할 것으로 사료되며, 흡입을 통한 감각 방법은 유발시험을 반복했을 때 반응 양상의 변화가 심하고 개체에 따른 차이도 많았다.