

한센사업대상자의 아포지단백E 유전자와 한센병 병형과의 연관성 연구**박진호, 김윤지, 김종필**

한국한센복지협회 연구원

The Study of Association between Leprosy's Type and Apolipoprotein E Gene in Korean Persons Affected by Leprosy**Jin-Ho Park, Yun-Ji Kim, Jong-Pill Kim**

Institute for Leprosy Research, Korean Hansen Welfare Association

Background

Apolipoprotein E protein is a family of apolipoproteins that play an important role in lipid metabolism. Apolipoprotein E genotype and single-nucleotide polymorphisms of genes are known to induce neurodegenerative diseases and cardiovascular diseases. Recently, it has been reported that apolipoprotein E is related to Hansen's disease by regulating genes related to lipid metabolism.

Objective

In this study, we investigated that relationship of apolipoprotein E genotype with leprosy type and single-nucleotide polymorphism in korean persons affected by leprosy.

Methods

The Apolipoprotein E genotype was confirmed using the polymerase chain reaction from korean persons affected by leprosy. Real-time polymerase chain reaction using probes confirmed the rs405509 and rs439401 of Apolipoprotein E. The identified genotype was cross-analyzed with each single-nucleotide polymorphism results and leprosy type by chi-squared test.

Results

The distribution of apolipoprotein E genotypes was E3/E3 76.7%, E3/E4 17.4%, E2/E2 2.3%, E2/E3 2.3%, E2/E4 1.2% were in order. The frequencies of the apolipoprotein E allele were identified in the order of ϵ 2 4.1%, ϵ 3 86.6%, and ϵ 4 9.3%. By type of leprosy, ϵ 2 allele increased 2.2 times in multibacillary than pauacibacillary(4.8% vs 2.2%), and ϵ 4 allele decreased 2.8 times in multibacillary than pauacibacillary(6.3% vs 17.4%). ApoE genotype was cross-analyzed with rs405509·rs439401, and there was a statistically significant association.

Conclusion

Apolipoprotein E genotype is associated with leprosy types in Korean persons affected by leprosy. The research for apolipoprotein E gene is thought to be helpful in basic research on the pathogenesis of leprosy, who underwent surgery.

■ **Key words** : Apolipoproteins E, Leprosy, *Mycobacterium leprae*, Single-nucleotide polymorphism

이 논문의 저자들은 본 연구에 어떠한 이해관계도 없음을 명시합니다.

서 론

한센병(Hansen's disease, Leprosy)은 과거에 나병이라고도 불렀던 나균(*Mycobacterium leprae*, *M. leprae*)에 의해 감염되어 유발되는 병으로 주로 말초신경과 피부에 침투하는 만성 감염 질환이다¹. 한센병은 병변의 수와 나균의 수를 기준으로 병형을 분류하는데 세계보건기구(world health organization, WHO)에서는 다균형(multibacillary, MB)과 희균형(paucibacillary, PB)으로 분류한다. 피부도말검사(skin-smear test)에서 나균이 관찰되지 않고 1~5개의 병변이 발견되었을 때 희균형으로 분류하고, 5개 이상의 병변이 존재하거나 신경 침범의 존재 혹은 병변 수와 관계없이 나균이 관찰되었을 때 다균형으로 분류하고 있다². 우리나라에서는 법정감염병인 한센병을 치료받는 요치로 대상자와 한센병 후유증에 대한 재활관리, 재활치료 등의 서비스를 받는 대상자를 한센사업대상자라고 지칭하고 있다³.

나균과 지질 대사(lipid metabolism)와의 상관 관계에 대해서 많은 연구가 시도되어 왔다. 지질과 결합하여 지단백질을 형성하는 아포지단백(Apolipoprotein)이라는 단백질은 지질대사의 핵심단백질 중 하나이다.

아포지단백은 혈액, 뇌척수액 및 림프 등에서 지질을 운반하고 지질대사에 영향을 끼친다. 아포지단백은 여러 유전자 패밀리를 가지는데, 그 중 아포지단백E(Apolipoprotein E, ApoE)는 지질대사에서 중요한 역할을 한다는 것이 이미 많은 연구를 통해 알려져 있다⁴⁻⁵. ApoE 유전자는 rs429358과 rs7412의 단일염기다형성(single-nucleotide polymorphism, SNP)으로 3가지 주요 대립형질($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$)을 만드는데 이 대립형질들은 단일 우성유전자 위치(single autosomal gene locus)에서 ApoE의 유전적 다형성(genetic polymorphism)을 결정한다⁶. 대립형질에 따라 E2, E3, E4의 3가지 동형단백질(isoprotein)이 만들어지고 6가지의 유전자형(E2/E2, E2/E3, E2/E4, E3/E3, E3/E4, E4/E4)으로 분류할 수 있다⁷. ApoE는 특정 질병과 연관되어 보고된 사례가 이미 많이 있다. 대표적으로 심혈관 질환이나 알츠하이머가 있다⁷⁻⁹. 특히 ApoE E4는 치매유발 가능성이 있는 대립유전자로 알려져 있으며, 일반인보다 알츠하이머 환자에서 E4 대립형질 비율이 높다¹⁰⁻¹¹. 최근 ApoE가 한센병에서도 지질대사 관련 유전자를 조절함으로써 연관이 있다고 보고되었다¹²⁻¹³. 건강한 사람에 비해 다균형 한센병환자에서 피부병변 부위의 ApoE mRNA가 증가되었다고 보고되었다¹². 치매가 없는 한센병 환자에서는 E4 대립형질의 비율이 높다는 결과가 보고된 바 있다¹³.

신경 관련 연구에서는 ApoE rs405509, 439401의 SNP가 알츠하이머, 파킨슨병에 영향을 있다고 보고되었다¹⁴⁻¹⁵. 한센병에서도 다균형 한센병이 ApoE의 rs405509, rs439401의 단일염기다형성과

Corresponding author : Jin-Ho Park
 Jin-Ho Park, 0000-0002-2613-7246
 Address: (16048) 경기도 의왕시 원골로 59 한국한센복지협회연구원
 Tel: 031 452 7094
 Fax: 031 455 6592
 E-mail : pjh718g@gmail.com

연관이 있다고 보고되었다¹²⁻¹³. rs405509, rs439401이 ApoE 발현수준에 영향을 끼치고 ApoE가 지질대사 관련 유전자를 조절함으로써 나균에 의한 한센병 발병에 영향을 끼친다고 보고되었다¹². SelfDecode의 통계에 따르면, rs405509, rs439401은 대륙별 인종 간의 SNP 차이를 보인다. SNP는 평가에 중요한 매개변수인 백그라운드 이질성(heterogeneity)과 샘플 선택 기준에 따라 다르기 때문에, 다양한 연령대의 환자에서 다민족 코호트에 대한 후속 연구가 필요하다고 보고되었다¹³.

이에 본 연구에서는 국내의 한센사업대상자를 대상으로 ApoE 유전형과 SNP를 조사하여, 한센병 병형과 아포지단백E 유전자의 연관성에 대해 연구하고자 한다

▶ 재료 및 방법

1. 대상

본 연구는 2020년 2월부터 2020년 11월까지 한국한센복지협회 연구원의 내원자 및 중앙이동진료 대상자 중 한센병을 치료중이거나 재발관리중인 환자들을 대상으로 실시하였으며, 보건복지부 지정 공공기관생명윤리위원회(institutional review board, IRB)의 연구 승인을 받았다. 연구 참여에 동의하고 채혈이 가능한 대상자의 전혈을 EDTA 항응고제가 포함된 채혈튜브에 채취하였다. 연구대상자는 익명화 작업을 통해 개인정보를 보호하고, 익명화된 검체를 대상으로 실시하였다. 또한 이번 IRB 승인 연구에 적극 참여하지 않았지만, 치료 및 진단 목적으로 채취한 검체 중 사용 후 남은 혈액 사용에 대한 연구 동의를 받아 사용하였다. 모든 검체는 개인정보가 암호화되어 신원을 확인할 수 없고, 각각 고유식별번호로 대체하여 익명화가 완료된 후 보관되었다. 혈액은 QIAGEN사의 QIAamp DNA Mini Kit(51304, QIAGEN, USA)를 사용하여

동봉된 프로토콜(protocol)에 따라 혈액에서 DNA를 추출하였다.

2. 방법

1) ApoE Genotyping

ApoE 유전자형 분석을 위해 대상자의 혈액으로부터 추출한 DNA를 주형가닥으로 사용하였고, ApoE의 유전자형을 확인할 수 있는 진단키트인 EzWay Direct ApoE Genotyping Kit(K0568500, KOMA BIOTECH, Korea)를 사용하였다. 동봉된 프로토콜을 참고하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 수행하였다. ApoE PCR 종료 후 PCR product를 자동화 전기영동장치(QIAxcel, Q I A G E N , U S A) 장비를 사용하여 전기영동(electrophoresis)하고 발현된 ApoE의 각 대립형질의 크기를 확인 후 ApoE 대립형질 타입을 판단하였다.

2) ApoE SNP analysis

ApoE SNP 분석을 위해 대상자의 혈액으로부터 추출한 DNA를 주형가닥으로 사용하였고, rs405509 및 rs439401에 대한 SNP 확인을 위해 프로브(probe)를 사용한 실시간-중합효소연쇄반응(real-time PCR)을 수행하였다. PCR은 QuantiNova Probe PCR Kit(208252, QIAGEN, USA)를 사용하여 real-time PCR cyclyer(Rotor-Gene Q, QIAGEN, USA) 장비로 수행하였다. SNP 분석을 위해 사용할 시발체(프라이머, primer) 및 프로브는 다음과 같이 설계했다. rs405509 시발체: GAGGAAGGAGGTGGGGCATAG, TGGGCGGCAGCCTCCACATTC, rs405509 프로브: HEX-AGGGTGTCTGGATTACTGGGC-BHQ1, FAM-AGGGTGTCTGTATTACTGGGC-BHQ1, rs439401 시발체: CGGCTCTTCTGTCGGAGTCTG, CAAGATGGGCAGAGGGACAAG, rs439401

프로브: HEX-ACTCTCTCCCTCCACCCCCTCA-BHQ1, FAM-ACTCTCTTCTCCTCCACCCCCTCA-BHQ1. PCR은 95°C 2분 후 95°C 5초, 61°C 30초, 형광측정을 40회 반복하였다. SNP probe PCR 종료 후 Rotor-Gene Q 장비의 소프트웨어에 있는 Scatter Analysis Tool을 사용하여 rs405509, rs439401의 SNP를 판단하였다.

3) 분석 및 통계

ApoE 유전자형에 따른 한센병 병형 차이를 분석하기

위하여 ApoE의 대립형질과 유전자형을 각각 한센병 병형과 교차분석하였다. 또한 ApoE의 유전형질은 각각의 대립형질 하나 이상을 포함한 양성군과 포함하지 않은 음성군으로 구분하여 분석했다. 추가적으로 ApoE 유전자의 유전적 다형성 영향을 받지않은 ApoE 유전자의 SNP를 분석하기 위하여 한센병 병형에 따른 rs405509와 rs439401의 SNP 결과를 교차분석하였다. 실험군 간의 통계적 차이를 알아보기 위해 카이제곱검정(chi-squared test(χ^2), NCSS12, USA)을 수행하였고, 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 로 정하여 해석했다.

결 과

1. 대상군의 ApoE 유전자형과 한센병 병형 분포

전체 대상군의 ApoE 유전자형은 E3/E3 66건(76.7%), E3/E4 15건(17.4%), E2/E2 2건(2.3%), E2/E3 2건(2.3%), E2/E4 1건(1.2%) 순이었다. 전체 건수 중 $\epsilon 4$ 음성군은

70건(81.4%)이며 $\epsilon 4$ 양성군(E2/E4, E3/E4, E4/E4)은 16건(18.6%)으로 분석되었다. $\epsilon 4$ 양성군에서는 E3/E4 유전자형이 15건으로 비교적 높은 빈도를 나타냈고, E4/E4 유전자형은 발견되지 않았다(Table 1).

Table 1 Distribution of ApoE genotypes

ApoE genotype n (%)						total
E2/E2	E2/E3	E2/E4	E3/E3	E3/E4	E4/E4	
2 (2.3)	2 (2.3)	1 (1.2)	66 (76.7)	15 (17.4)	0 (0.0)	86 (100.0)

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E;

한센병의 병형은 Ridley&Jopling 분류법과 세계보건기구 분류법으로 크게 두 가지 방법으로 구분되지만, 이번 연구에서는 한센병 병형의 분류는 세계보건기구의 분류법을 이용하였다. ApoE 유전자형과 한센병 병형의 연관성을 알아보기 위해 교차분석을 실시하였다. 한센병 희균형군에서는 E3/E3 14건으로 가장 많았고 E3/E4 8건, E2/E3 1건 순이었다. 한센병 다균형군에서는 E3/E3가

52건으로 가장 많았고 E3/E4 7건, E2/E2 2건, E2/E3 1건, E2/E4 1건 순이었다. ApoE 유전자형에 따른 한센병 병형 차이는 교차분석한 결과로는 통계적으로 유의하지 않았다(Table 2). ApoE 대립형질의 발현 빈도를 확인했을 때, ApoE $\epsilon 2$ 대립형질은 다균형군에서 희균형군보다 약 2.2배 높은 경향을 보였으며(4.8% vs 2.2%), $\epsilon 4$ 대립형질은 다균형군에서 희균형군보다 약 2.8배 낮은 경향을

보였다(6.3% vs 17.4%)(Table 3).
ApoE 대립형질의 한센병 병형에 대한 영향을 알아보기 위해 대립형질을 각각 양성군과 음성군으로 나누어 한센병 병형과의 연관성을 분석하였다.

대립형질 중 ε2, ε3의 양성군과 음성군을 각각 한센병 병형과 교차분석 할 때 통계적으로 유의하지 않았지만, ε4를 양성군과 음성군으로 구분하여 한센병 병형과 교차분석 할 때에는 통계적으로 유의한 결과를 확인했다(Table 4).

Table 2 Relationship between ApoE genotypes and leprosy types

ApoE genotype	leprosy types (n=86) n (%)		χ ² (p)*
	MB	PB	
E2/E2	2 (100.0)	0 (0.0)	6.5051 (NS)
E2/E3	1 (50.0)	1 (50.0)	
E2/E4	1 (100.0)	0 (0.0)	
E3/E3	52 (78.8)	14 (21.2)	
E3/E4	7 (46.7)	8 (53.3)	
E4/E4	0 (0.0)	0 (0.0)	
total	63 (73.3)	23 (26.7)	

*Pearson χ² test

Abbreviations: NS, not significant; MB, multibacillary; PB, paucibacillary;

Table 3 Comparison of ApoE gene allele by leprosy types

leprosy types	ApoE allele (%)			total
	ε2 allele	ε3 allele	ε4 allele	
MB	4.8	88.9	6.3	100.0
PB	2.2	80.4	17.4	100.0
total	4.1	86.6	9.3	100.0

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E; MB, multibacillary; PB, paucibacillary;

Table 4 Relationship between each ApoE allele group and leprosy types

ApoE allele	leprosy type n (%)		total (row)	$\chi^2(p)^*$
	MB	PB		
$\epsilon 2 +$	4 (80.0)	1 (20.0)	5 (100.0)	
$\epsilon 2 -$	59 (72.8)	22 (27.2)	81 (100.0)	0.1232 (NS)
total $\epsilon 2$	63 (73.3)	23 (26.7)	86 (100.0)	
$\epsilon 3 +$	60 (95.2)	23 (27.7)	83 (100.0)	
$\epsilon 3 -$	3 (100.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	1.1348 (NS)
total $\epsilon 3$	63 (73.3)	23 (26.7)	86 (100.0)	
$\epsilon 4 +$	8 (50.0)	8 (50.0)	16 (100.0)	
$\epsilon 4 -$	55 (78.6)	15 (21.4)	70 (100.0)	5.4264 (<0.05)
total $\epsilon 4$	63 (73.3)	23 (26.7)	86 (100.0)	

*Pearson χ^2 test

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E; NS, not significant; MB, multibacillary; PB, paucibacillary;

2. 한센병 병형에 따른 ApoE SNP 변화

한센병 병형과 ApoE rs405509, rs439401 SNP의 연관성을 알아보기 위해 교차분석을 실시하였다. rs405509 SNP는 다균형군에서 TT 39건(45.9%), TG 18건(21.2%), GG 7건(8.2%) 순이었고, 희균형군에서 TT 9건(10.6%), TG 10건(10%), GG 2건(2.4%) 순이었다. rs439401 SNP는 다균형군에서 TT 31건(36.5%), TC 20건(23.5%),

CC 13건(15.3%) 순이었고, 희균형군에서 TT 5건(5.9%), TC 12건(14.1%), CC 4건(4.7%) 순이었다. rs405509, rs439401 모두에서 다균형군의 TT 비율은 희균형군보다 다소 높았지만, 한센병 병형과 ApoE의 SNP 결과를 교차분석 하였을 때 통계적으로 유의하지 않았다(Table 5.)

Table 5 Relationship between ApoE single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and leprosy types

leprosy type	rs405509 n (%)			total (row)	$\chi^2(p)^*$	rs439401 n (%)			total (row)	$\chi^2(p)^*$
	TT	TG	GG			TT	TC	CC		
MB	39 (60.9)	18 (28.1)	7 (10.9)	64 (100.0)	2.7692 (NS)	31 (48.4)	20 (31.3)	13 (20.3)	64 (100.0)	5.0929 (NS)
PB	9 (42.9)	10 (47.6)	2 (9.5)	21 (100.0)		5 (23.8)	12 (57.1)	4 (19.1)	21 (100.0)	
total	48 (56.5)	28 (32.9)	9 (10.6)	85 (100.0)		36 (42.4)	32 (37.7)	17 (20.0)	85 (100.0)	

*Pearson χ^2 test

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E; NS, not significant; MB, multibacillary; PB, paucibacillary;

Table 6 Relationship between ApoE single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and genotypes

ApoE genotype	rs405509 n (%)			Total (row)	$\chi^2(p)^*$	rs439401 n (%)			Total (row)	$\chi^2(p)^*$
	TT	TG	GG			TT	TC	CC		
E2/E2	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2 (100.0)	29.3603 (<0.001)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2 (100.0)	32.3182 (<0.001)
E2/E3	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)	
E2/E4	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1 (100.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1 (100.0)	
E3/E3	38 (57.6)	22 (33.3)	6 (9.1)	66 (100.0)		36 (54.6)	23 (34.9)	7 (10.6)	66 (100.0)	
E3/E4	10 (71.4)	4 (28.6)	0 (0.0)	14 (100.0)		0 (0.0)	9 (64.3)	5 (35.7)	14 (100.0)	
E4/E4	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Total	48 (57.0)	27 (32.1)	9 (10.7)	84 (100.0)		36 (42.9)	32 (38.1)	16 (19.0)	84 (100.0)	

*Pearson χ^2 test

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E;

3. ApoE 유전자형에 따른 ApoE SNP 변화

ApoE 유전자형과 ApoE rs405509, rs439401 SNP의 연관성을 알아보기 위해 교차분석을 실시하였다. 앞서 병형에 따른 SNP는 연관성이 없었지만, ApoE 유전자형과 rs405509, rs439401 SNP는 모두 통계적으로 매우 유의한 수치를 확인했다(Table 6). 추가적으로 각각의 ApoE 대립형질이 SNP에 끼치는 영향을 조사하기 위해 양성군과 음성군으로 나누어 교차분석하였다.

ApoE 대립형질 중 ε2 rs405509, 439401 SNP와 통계적으로 매우 유의한 연관성을 확인했고, ε3 또한 통계적으로 유의한 결과를 얻었다. ε4는 rs405509 SNP와 유효한 연관성을 확인하지 못하였지만, rs439401 SNP와는 매우 유의한 결과를 얻었다(Table 7). 따라서 ApoE 대립형질은 각각이 SNP와 서로 영향이 있을 수 있음을 확인했다.

Table 7 Relationship between each ApoE allele p group and leprosy types

ApoE genotype	rs405509			total (row)	$\chi^2(p)^*$	rs439401			total (row)	$\chi^2(p)^*$
	TT	TG	GG			TT	TC	CC		
ε2 +	0 (0.0)	1 (25.0)	3 (75.0)	4 (100.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)	4 (100.0)	
ε2 -	48 (60.0%)	26 (32.5%)	6 (7.5)	80 (100.0)	18.6667 (<0.001)	36 (45.0%)	32 (40.0%)	12 (15.0)	80 (100.0)	17.8500 (<0.001)
total ε2	48 (57.1)	27 (32.1)	9 (10.7)	84 (100)		36 (43.0)	32 (38.0)	16 (19.0)	84 (100)	
ε3 +	48 (59.3)	26 (32.1)	7 (8.6)	81 (100.0)		36 (44.4)	32 (39.5)	13 (16.1)	81 (100.0)	
ε3 -	0 (0.0%)	1 (33.3)	2 (66.7)	3 (100.0)	10.8697 (<0.01)	0 (0.0%)	0 (00.0%)	3 (100.0)	3 (100.0)	13.2222 (<0.01)
total ε3	48 (47.1)	27 (32.1)	9 (10.7)	84 (100)		36 (43.0)	32 (38.0)	16 (19.0)	84 (100)	
ε4 +	10 (66.7)	5 (33.3)	0 (0.0)	15 (100.0)		0 (0.0)	9 (60.0)	6 (40.0)	15 (100.0)	
ε4 -	38 (55%)	22 (32%)	9 (13.0)	69 (100)	2.2544 (NS)	36 (52.2%)	23 (33.3%)	10 (14.5)	69 (100.0)	14.3348 (<0.001)
total ε4	48 (57.1)	27 (32.1)	9 (10.7)	84 (100)		36 (43.0)	32 (38.0)	16 (19.0)	84 (100)	

*Pearson χ^2 test

Abbreviations: ApoE, Apolipoprotein E; NS, not significant

고 찰

나균은 한센병을 유발하는 병원균으로 다균형 한센병 환자에서는 진피의 대식세포 혹은 신경에서 쉽게 발견된다. 나균은 대식세포를 우선적으로 감염시키는데, 대식세포에는 TLR2, TLR6의 박테리아 결합 기작을 이용하여 달라붙는다. TLR2와 TLR6의 이형이합체화(heterodimerization)는 지방방울들(lipid drops) 형성에 의해 하위 신호(downstream signaling)를 보내고 그 다음 콜레스테롤 축적을 유도한다¹⁶⁻¹⁷. 이때 콜레스테롤은 마이코박테리아(mycobacteria)의 진입장소에 쌓이면서 대식세포의 마이코박테리아 식균작용(phagocytosis)을 촉진시킨다¹⁸. 지방 방울에서의 *M. leprae*의 생존과 복제는 나중형(lepromatous leprosy)의 전형적인 특징이다. ApoE는 지질과 결합하여 지단백질을 형성하는 아포지단백 패밀리의 하나이며 오래 전부터 지질대사에서의 역할이 연구되어 왔다. ApoE와 관련된 주요 질병은 지질대사와 관련하여 알츠하이머나 심혈관 질환이 있고, 이미 많은 연구가 진행되어 왔다^{7-8,10-11,14-15,19}. ApoE 유전자는 유전적 다형성에 의해 E2, E3, E4의 3가지 동형단백질을 만드는데, 기본적으로 E3가 중립형질이며, E2와 E4는 LDL(Low density lipoprotein)-콜레스테롤의 조절과 관련이 있다²⁰⁻²². ApoE 대립유전자는 전세계의 백인을 대상으로 하였을 때 ε2 8.4%, ε3 77.9%, ε4 13.7% 순으로 분포되어 있다¹⁰. 국내 연구결과로는 Choi 등에 따르면 미국인은 ε2 9%, ε3 78%, ε4 14%, 그리고 한국인은 ε2 5.3%, ε3 85.4%, ε4 9.3% 순으로 분포가 보고되어 있다^{19,23}. 우리의 연구 결과에서는 국내 한센사업대상자의 ApoE 대립유전자가 ε2 4.1%, ε3 86.6%, ε4 9.3% 순으로 분포했다. 국내 한센사업대상자는 국내의 일반인에 비해 ε2, ε3의 비율이 미미한 차이가 있고, 특히 외국의 일반인과 비교했을 때 ε3, ε4와 비율이 다소 차이가 있음이 관찰되었다. 병형별로 비교하였을

때, 다균형군에서는 희균형군보다 ApoE 대립형질 중 ε2는 약 2.2배 높은 경향을 보였으며(4.8% vs 2.2%), ε4는 약 2.8배 낮은 경향을 보였다(6.3% vs 17.4%)(Table 3). 이와 같이 병형별 ApoE의 각 대립형질의 발현 빈도가 다른 것을 확인했다. 또한 ApoE 유전자형과 한센병 병형의 연관성은 통계적으로 유의하지 않았지만, 대립형질 ε4를 포함하는 ε4 양성군과 그 대조인 음성군으로 구분하여 한센병 병형과의 연관성을 분석하니 통계적으로 유의한 결과는 나타냈다(Table 4).

ApoE 유전형과 관련된 질병연구로 전세계 백인 알츠하이머 환자에서 ε2 3.9%, ε3 59.4%, ε4 36.7% 순으로 관찰된다고 보고가 있었다²⁴. 한센병의 병원균인 나균과 같은 마이코박테리아에는 결핵(*Mycobacterium tuberculosis*)이 있는데, 이란의 결핵환자에서는 ε2 35.8%, ε3 51%, ε4 13.2% 순으로 보고되었다²⁵. 동양인에 비해 서양인의 ApoE ε4 비율이 높다하더라도 질병 간의 ApoE 유전형질의 차이는 물론이고, 같은 마이코박테리아에 의한 결핵과 한센병 환자에서 ApoE 유전형질 발현빈도가 다르다.

우리는 ApoE의 대립형질을 결정하는 SNP 이외에 알츠하이머에서 주목된 rs405509, rs439401에 관심을 갖게 되었다. rs439401은 ApoE를 대표하는 SNP로 알츠하이머 연구에서 알려졌다¹⁴, 특히 rs405509는 알츠하이머 위험인자로 취급되는 것과 그와 독립적으로 ε4 대립형질과의 연관성도 있다고 보고되었다²⁶. rs405509와 rs439401은 ApoE 유전자 배열에서 각각 ApoE genotype PCR 생성물의 전·후 위치의 뉴클레오타이드(nucleotide)이다. 최근 ApoE rs405509, rs439401의 SNP는 다균형 한센병에서도 연관이 있다고 보고된 바 있다¹²⁻¹³. 이번 연구에서는 rs405509, rs439401 SNP는 다균형, 희균형 한센병과의 연관성을 확인하지 못했는데(Table 5), 대상자 수가 적어 통계적 유의성이 없었을 것으로 생각된다. 하지만 우리는

한센사업대상자의 ApoE 유전자형과 rs405509, rs439401 SNP 교차분석은 ApoE 유전형질과 SNP가 매우 밀접한 연관성이 있음을 밝혔다(Table 6). 더 나아가 ApoE 대립형질 양성군과 음성군으로 나누어 SNP와 교차분석을 하니 ε4와 rs405509 SNP를 제외한 나머지 대립형질과 SNP는 서로 연관되어 있음을 확인했다(Table 7). Wang D. 등에 따르면 rs405509, rs439401 SNP는 다균형 한센병의 위험을 증가시키는데, 이는 rs405509와 rs439401의 유전자형이 ApoE 단백질 발현수준에 영향을 끼쳐 혈장 지단백질(plasma lipoprotein)을 증가시키기 때문에 나균의 생존을 촉진시킨다고 주장했다¹². 우리는 ε4 대립형질이 한센병 병형과 연관성이 있음을 확인하였고(Table 3), 추가적으로 ε4와 rs439401와의 연관성을 확인하였다. 따라서 ApoE ε4 대립형질이 rs439401 SNP와 함께 한센병 병형에 충분히 영향을 끼칠 수 있다고 추측한다. 더 나아가 ApoE의 유전적 다형성을 결정짓는 위치에서 벗어난 rs405509-T/G, rs439401-T/C의 단일염기변형이 갖는 의미에 대해서 더 심층적인 추가연구를 할 필요가 있다. 이것은 나균에 의한 기초적인 한센병 병인연구에 큰 도움을 줄 수 있을 것이라고 생각되고, 어쩌면 다균형에 비해 덜 알려진 희균형 발병원인의 대한 연구에서도 ApoE 유전자가 힌트가 될 수도 있을 것이라고 생각할 수 있다. 위 결과가 얻어진 검체는 모두 한국한센복지협회 연구원에서 수집한 것으로 한센병 연구에 있어서 ApoE 유전자 연구를 위한 선행연구 차원에서 시작되었다. 다소 샘플수가 적고 한센사업대상자 그룹의 검체를 국내 일반인의 검체로 직접 대조 및 비교하지 못했다. 그럼에도 불구하고 병형별 유전자형 분포율과 ApoE SNP에 대한 유의한 결과는 흥미롭고, 앞으로 보다 더 많은 검체를 대상으로 연구를 지속할 필요가 있을 것으로 사료된다.

결론

본 연구는 국내 한센사업대상자의 ApoE 유전자형과 SNP를 조사하여 유전자형의 차이에 따른 한센병 병형을 살펴봄으로써 ApoE 유전자와 한센병 병형에 대한 연관성을 평가하고자 했다. 그 결과 우리는 ApoE 유전자형과 한센병 병형과의 연관성을 확인하였다. ApoE 유전자형과 한센병 병형의 연관성의 의미를 분석한다면, 이 연구는 한센병 연구의 새로운 방향을 제시할 수 있다. 따라서 본 연구의 한계점을 보완하고, 다양한 접근을 통한 후속 연구들을 계획하여 지속적인 연구가 필요하다고 생각한다.

감사의 글

이번 연구가 논문으로 잘 마무리될 수 있게 많은 도움을 주신 한국한센복지협회 직원 여러분들께 감사드립니다. 특히 연구대상자 모집에 도움을 주신 김희심 선생님, 최성호 선생님, 이희숙 선생님과 연구결과 정리에 도움을 주신 이민석 선생님께 감사드립니다.

ORCID

Jin-Ho Park, 0000-0002-2613-7246

Yun-Ji Kim, 0000-0002-0003-8880

Jong-Pill Kim, 0000-0003-0421-6389

참고문헌

1. McMurray DN. Mycobacteria and nocardia. Medical Microbiology 4th ed. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996
2. WHO SEARO/Department of Control of Neglected Tropical Diseases. Guidelines for the Diagnosis, Treatment and Prevention of Leprosy, 2018:2

3. Jung EK. Guidelines for Hansen's disease program. 1st ed. Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2019
4. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1998;240:622-630
5. Puglielli L, Tanzi RE and Kovacs DM. Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat Neurosci* 2003;6:345-351
6. Egert S, Rimbach G, Huebbe P. ApoE genotype: from geographic distribution to function and responsiveness to dietary factors. *Proc Nutr Soc* 2012;71:410-424
7. Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J* 1987;113:433-440
8. Sparks DL. Coronary artery disease, hypertension, ApoE, and cholesterol: a link to Alzheimer's disease?. *Ann N Y Acad Sci* 1997;826:128-146
9. Choi CK, Kweon SS, Lee YH, Nam HS, Park KS, Ryu SY, et al. The Association between the Apolipoprotein E Gene Polymorphism and All-cause Mortality in the Korean Population. *J Korean Med Sci* 2019;34:e269
10. Liu CC, Kanekiyo T and Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol* 2013;9:106-118
11. Jung AN, Lee YJ, Choi SK, Park JO, Woo MS, Yu KN. A Study on the Statistical Evaluation of Apolipoprotein E Genotype and Alzheimers Disease. *J Kor Phys Ther* 2014;36:110-114
12. Wang D, Zhang DF, Li GD, Bi R, Fan Y, Wu Y, et al. A pleiotropic effect of the APOE gene: association of APOE polymorphisms with multibacillary leprosy in Han Chinese from Southwest China. *Br J Dermatol* 2018;178:931-939
13. MORGADO DE ABREU M. A. M. Association of APOE polymorphisms with multibacillary leprosy. *Br J Dermatol* 2018;178:833-834
14. Kikuchi M, Hara N, Hasegawa M, Miyashita A, Kuwano R, Ikeuchi T, et al. Enhancer variants associated with Alzheimer's disease affect gene expression via chromatin looping. *BMC Med Genomics* 2019;12:128
15. Huang M, Wang Y, Wang L, Chen B, Wang X, Hu Y. APOE rs405509 polymorphism and Parkinson's disease risk in the Chinese population. *Neurosci Lett* 2020;736:135256
16. Mattos KA, D'Avila H, Rodrigues LS, Oliveira VG, Sarno EN, Atella GC, et al. Lipid droplet formation in leprosy: Toll-like receptor-regulated organelles involved in eicosanoid formation and Mycobacterium leprae pathogenesis. *J Leukoc Biol* 2010;87:371-384
17. Underhill DM. Mini-review Toll-like receptors: networking for success. *Eur J Immunol* 2003;33:1767-1775
18. Elamin AA, Stehr M, Singh M. Lipid droplets

- and Mycobacterium leprae infection. J Pathog 2012;2012:10
19. Wilson PW, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM, Wolf PA, Schaefer EJ. Apolipoprotein E alleles, dyslipidemia, and coronary heart disease: the Framingham Offspring Study. JAMA 1994;272:1666-1671
20. Breslow JL, Zannis VI, SanGiacomo TR, Third JL, Tracy T, Glueck C. Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the apoE phenotype E2/2. J Lipid Res 1984;23:1224-1235
21. Feussner G, Feussner V, Hoffmann M, Lohrmann J, Wieland H, März W. Molecular basis of type III hyperlipoproteinemia in Germany. Hum Mutat 1998;11:417-423
22. Civeira F, Pocoví M, Cenarro A, Casao E, Vilella E, Joven J, et al. Apo E variants in patients with type III hyperlipoproteinemia. Atherosclerosis 1996;127:273-282
23. Choi YH, Lee WR. ACE and ApoE Genotypes and their influences on plasma lipids in Korean men. J Korean Geriatr Soc 1998;2:18-26
24. Farrer L A, Cupples L A, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. JAMA 1997;278:1349-1356
25. NaserpourFarivar T, Sharifi Moud B, Sargazi M, Moeenrezakhanlou A. Apolipoprotein E polymorphism in tuberculosis patients. J Appl Sci 2008;8:719-722
26. Choi KY, Lee JJ, Gunasekaran TI, Kang S, Lee W, Jeong J et al. APOE Promoter Polymorphism-219T/G is an Effect Modifier of the Influence of APOE ε4 on Alzheimer's Disease Risk in a Multiracial Sample. J Clin Med 2019;8:1236