

Tumor necrosis factor- α -308G/A의 유전적 다형성과 항결핵제 유발 반구진발진과의 연관성

서원용¹, 김요한¹, 주현돈¹, 박성준¹, 류성혁¹, 최지성¹, 안선영¹, 박창현¹, 김상훈², 김상현³, 지영구¹

¹단국대학교 의과대학 내과학교실, ²을지대학교 의과대학 내과학교실, ³한양대학교 의과대학 내과학교실

Lack of associations between tumor necrosis factor- α genetic polymorphism -308G/A and antituberculous drug-induced maculopapular eruption

Won Yong Suh¹, Yo Han Kim¹, Hyun Don Joo¹, Seong Jun Park¹, Sung Hyeok Ryo¹, Ji Sung Choi¹, Sun Young Ann¹, Chang Hyun Park¹, Sang-Hoon Kim², Sang-Heon Kim³, Young-Koo Jee¹

¹Department of Internal Medicine, Dankook University College of Medicine, Cheonan; ²Department of Internal Medicine, Eulji University College of Medicine, Seoul; ³Department of Internal Medicine, Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Adverse cutaneous reactions to antituberculous drugs (ATD), such as maculopapular eruption (MPE), are the most common causes of discontinuation of scheduled treatment of tuberculosis. We previously reported that tumor necrosis factor (TNF)- α genetic polymorphism -308G/A is significantly associated with ATD-induced hepatitis. This study aimed to investigate associations between TNF- α -308G/A and ATD-induced MPE.

Methods: Patients with ATD-induced MPE and controls without any adverse reactions to ATD were recruited from the database of the Adverse Drug Reaction Pharmacogenomic Research Group database of Korea. We compared the genotype frequency of TNF- α -308G/A between patients with ATD-induced MPE and ATD-tolerant controls.

Results: A total of 69 patients with ATD-induced MPE and 229 control subjects were enrolled for this study. There were no significant differences in genotype frequency between the patients and the controls, suggesting lack of associations between TNF- α -308G/A and ATD-induced MPE.

Conclusion: The TNF- α genetic polymorphism -308G/A may not be related to the development of ATD-induced MPE, in contrast to ATD-induced hepatitis. These findings suggest that associations between TNF- α -308G/A and ATD-induced adverse reactions can be phenotype-specific. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2015;3:124-127)

Keywords: Genetic polymorphism, Tumor necrosis factor-alpha, Antitubercular agents, Drug eruption

서론

결핵은 전세계적으로 문제가 되는 중요한 질환이며, 우리나라에서도 2012년 한 해 동안 39,545명의 새로운 결핵 환자가 신고되는 등 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development) 가입 국가 중 가장 높은 결핵 발생률을 보이고 있다.¹⁾ 결핵의 약물 치료에는 일차약제인 이소니아지드(isoniazid), 리팜핀

(rifampin), 에탐부톨(ethambutol), 피라진아미드(pyrazinamide)를 초기 2개월간 투여하고 추가로 4개월간 이소니아지드, 리팜핀, 에탐부톨을 함께 투여하는 것이 결핵 치료를 위한 표준 요법으로 널리 사용된다.²⁾ 결핵의 치료에서 항결핵제에 의한 유해반응은 흔하게 발생하는데, 기존 보고에 의하면 6개월 단기 항결핵 복합화학요법을 시행하였을 때 장기별 약물 이상 반응의 빈도는 위장관 증상(19.3%), 피부반응(17.7%), 간기능검사 이상(13.8%), 신경학적 증

Correspondence to: Young-Koo Jee

Department of Internal Medicine, Dankook University College of Medicine, 119 Dandae-ro, Dongnam-gu, Cheonan 330-997, Korea

Tel: +82-41-550-3923, Fax: +82-41-556-3256, E-mail: ykjee@dankook.ac.kr

•This research was supported by a grant of Korea Technology R&D Project through the Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), founded by the Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (grant No. H114C0065).

Received: September 1, 2014 Revised: September 2, 2014 Accepted: September 12, 2014

© 2015 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
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/>).

상(10.3%), 혈액학적 증상(4.4%), 근골격계 이상(3.0%)의 순이었다.³⁾ 특히 일차 항결핵제에 의한 피부발진의 발생률은 0.1%~5.7% 정도로 흔하며 대부분 반구진의 형태로 나타난다.⁴⁾ 항결핵제에 의한 반구진발진 등의 피부유해반응은 항결핵제 유발 간염과 함께 약물 치료를 중단하게 되는 주요 요인이다.^{5,6)}

항결핵제에 의한 반구진발진의 발병기전은 아직 자세히 알려지지는 않았지만, 전신적으로 흡수된 약물이 간에서 대사되어 약물 대사산물이 생성되고 이에 대한 선천, 후천 면역반응과 염증이 발생하는 것이 주요 기전으로 추정되고 있다.⁷⁾ 이러한 면역반응에는 종양괴사인자알파(tumor necrosis factor- α , TNF- α), Interleukin (IL) 1, IL-2, IL-6, interferon γ , IL-10, IL-4 등 시토카인과 케모카인이 관여한다.⁷⁾ 특히 TNF- α 는 단핵구, 대식 세포, 그리고 활성화 T 세포에서 생성되는 염증성 시토카인으로 접촉피부염과 약물에 의한 피부병변의 발생에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 그뿐만 아니라 TNF- α 유전자의 단일뉴클레오티드다형체는 여러 염증성, 면역성 질환의 발생의 위험을 증가시킨다고 보고되었으며, 최근 저자들도 항결핵제 유발 간염과의 연관성을 보고한 바 있다.⁸⁾

이 연구에서는 TNF- α 의 -308G/A 유전적 다형성이 항결핵제에 의하여 발생한 반구진발진과 연관성이 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2005년부터 2011년까지 한국의 7개 대학병원(단국대학교병원, 을지대학교병원, 한양대학교병원, 한림대학교병원, 서울대학교병원, 아주대학교병원, 서울대학교분당병원)에서 모집된 항결핵제 유발 반구진발진 환자와 항결핵제에 아무런 유해반응이 없었던 환자를 대상으로 환자-대조군 연구를 실시하였다. 항결핵제 유해반응 환자의 모집과 임상정보 수집, 자료 관리에 대하여서는 이전 문헌에 자세히 기록하였다.⁹⁾ 간략하게 기술하면, 처음 진단된 결핵 환자에서 이소니아지드, 리팜핀, 에탐부톨, 피라진아미드로 구성된 표준 4제 복합요법으로 치료를 시작한 환자들을 대상으로 하였다. 모든 결핵 환자는 국내 결핵지침에 따라 각각의 약물을 환자의 체중에 따른 용량으로 2개월간 복용하도록 하였고, 이후 피라진아미드를 제외한 나머지 약물을 4개월간 또는 그 이상 복용하였다. 약물 치료 후 정기적인 관찰을 통하여 피부발진을 포함한 유해반응의 발생을 조사하였고, 피부유해반응의 양상은 알레르기 전문의에 의하여 항결핵제와 피부발진과의 인과 관계를 평가하고 인과 관계가 높은 경우에 항결핵제 유발 반구진발진 환자군에 포함하였다. 항결핵제 유발 반구진은 항결핵제 투여 후 발생하고, 항결핵제를 중단 후 반구진발진이 호전되었을 경우로 정의하였다. 병력 청취와 신체 진찰, 결핵 치료 시작 전 혈액검사를 통하여 (1) 피부질환이 있거나, (2) 항결핵제 대사에 영향을 줄 수 있는 만성 간질환, 신장질환이 있

는 경우, (3) 알코올 중독이 있을 경우, (4) 간기능검사 결과 이상인 경우, (5) 약물 치료 순응도가 낮은 경우는 대상에서 제외하였다.

2. 유전자형 분석

대상 환자의 전혈에서 Genomic PUREGENE DNA Isolation Kit (Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 간략하게 전혈 300 μ L에 900 μ L의 적혈구분해용액을 첨가하여 적혈구를 제거하였고, 300 μ L의 세포분해용액을 사용하여 백혈구를 용해시켰다. 이어서 100 μ L의 단백질침전용액으로 단백질을 침전시켜 DNA가 녹아있는 상층액을 획득하였고, 여기에 300 μ L의 100% isopropanol로 DNA를 침전시켜 300 μ L의 70% 에탄올로 세척하였다. 건조된 DNA pellet은 멸균한 3차 증류수로 녹여 -20°C에 보관하였다. SNP-stream 25K system을 이용한 방법(SNP-IT assay)으로 TNF- α 유전자의 -308G/A 유전자형 분석을 시행하였다.

이 연구는 각 참여병원의 임상연구심의위원회의 심의를 통과하였고, 모든 대상 환자는 연구 절차와 방법에 대해 설명을 듣고 유전자 연구 관련 동의서에 동의하였다.

3. 통계 분석

대상군의 기본 특성들 중 범주형 변수는 chi-square test를 사용하고 연속형 변수는 Student *t*-test를 사용하였다. 다변량 로지스틱 회귀 분석을 통해 환자와 대조군 간의 유전자형의 빈도와 소수대립 유전자 간의 나이와 성별의 차이를 보정하였다. 모든 통계 분석은 SAS 9.13 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하였으며 $P < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의한 것으로 해석하였다.

결 과

1. 연구 대상의 특징

대상 기간 동안 총 69명의 항결핵제 유발 반구진발진 환자와 229명의 대조군 환자가 포함되었으며 남자가 202명(67.8%), 여자가 96명(32.2%)이었고 모두 한국인이었다. 환자들의 성별, 평균 연령, 키, 체중 등의 인구학적 특성은 두 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 1).

2. TNF- α -308G/A과 항결핵제 유발 반구진발진과의 연관성

항결핵제 유발 반구진발진 환자와 대조군의 TNF- α -308G/A의 유전형 빈도를 Table 2에 정리하였다. 항결핵제 유발 반구진발진 환자에서 열성대립유전자(A)를 포함한 유전형(AG 또는 AA)의 빈도는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았다(17.4% vs. 14.9%; $P = 0.718$; odds ratio [OR], 1.14; 95% confidence interval [CI], 0.55~2.38). 또한 열성대립유전자의 빈도도 환자군과 대조군

Table 1. Clinical characteristics of the study subjects

Characteristic	ATD-induced MPE (n=69)	ATD-tolerant (n=229)	P-value
Male sex	57.9 (40)	67.7 (155)	NS
Age (yr)	48.3 ± 18.9	43.1 ± 17.0	NS
Height (cm)	161.6 ± 9.8	165.5 ± 8.9	NS
Weight (kg)	58.0 ± 10.6	58.1 ± 10.7	NS
Baseline AST (U/mL)	21.6 ± 8.8	24.4 ± 24.6	NS
Baseline ALT (U/mL)	19.4 ± 11.7	21.2 ± 26.5	NS
Baseline bilirubin (mg/dL)	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	NS

Values are presented as number (%) or mean ± standard deviation. ATD, antituberculosis drugs; MPE, maculopapular eruption; NS, not significant; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

사이에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다(0.087 vs. 0.079, P= 0.784; OR, 1.10; 95% CI, 0.56–2.21).

고찰

이 연구는 염증유발 시토카인인 TNF-α -308 G/A의 유전적 다형성과 항결핵제 유발 반구진발진과의 관계를 살펴본 첫 연구이다.

TNF-α 유전자는 6번 염색체 단완(6p21.3)의 주조직적합성 복합체(major histocompatibility complex, MHC) class III 부위에 위치한다.¹⁰ 발현된 TNF-α는 강력한 면역 매개물질이자 염증성 시토카인으로서 다양한 질환과 연관되어 있다. 주조직적합성 복합체 내에 위치한 유전자 자리의 유전적 다형성은 여러 자가면역 혹은 감염성 질환의 발병에 관여한다고 알려져 있다.¹¹ 예를 들어 TNF-α -308 G/A로 나타내어지는 구아닌(G, TNFA1)에서 아데닌(A, TNFA2)으로의 치환은 TNF-α의 발현을 증대시키고 질병에 대한 감수성을 증가시킨다고 한다.¹¹ 이러한 TNF-α -308G/A의 유전적 다형성은 염증성 질환과 관련이 있으며, 동양인에서 종양괴사인자알파 -308G/A의 유전적 다형성은 궤양성 대장염(ulcerative colitis)의 발생을 증가시키는 위험 요인이라고 보고되었다.¹² 이전 연구에서 저자들은 TNF-α -308G/A의 유전적 다형성이 항결핵제 유발 간염과 연관 있다고 보고하였는데, 77명의 약물 유발 간염 환자와 229명의 대조군을 비교하였을 때 약물 유발 간염 환자에서 열성대립유전자(A)를 포함한 유전형(AG 또는 AA)의 빈도는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보였으며 열성대립유전자의 빈도도 환자군과 대조군 사이에서 유의한 차이가 관찰되었다.⁸ 하지만 본 연구에서 항결핵제 유발 간염과는 달리 항결핵제 유발 반구진발진은 TNF-α -308G/A의 유전적 다형성과 연관성이 없었다.

반구진발진은 약물에 의한 비극각적 알레르기반응에 의한 혼한 임상적 증상의 하나로 그 기전에는 TNF-α와 같은 Th1 시토카인과 CD4(+) T 세포가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.¹³ 병변 부위는 밝은 홍색을 띠며 열감과 소양감을 호소하게 되며 피부 전역에

Table 2. TNF-α polymorphism -308G/A in patents with ATD-induced MPE and ATD-tolerant controls

Genotype	ATD-induced MPE (n=69)	ATD-tolerant (n=229)	P-value	OR (95% CI)
GG	57 (82.6%)	194 (84.7%)	0.718*	1.14 (0.55–2.38)*
AG	12 (17.4%)	34 (14.9%)	-	-
AA	0 (0%)	1 (0.4%)	-	-
A allele	0.087	0.079	0.784	1.10 (0.56–2.21)

TNF, tumor necrosis factor; ATD, antituberculosis drugs; MPE, maculopapular eruption; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

*Statistical analysis was performed with dominant model (AG + AA vs. GG).

발생할 수 있으나 보통 얼굴에는 잘 생기지 않는다.¹⁴ 이러한 반구진발진이 항결핵제에 의해 발현되는 기전에 관해서는 아직 정확히 보고된 바가 없지만 항결핵제에 의해 다양한 정도의 피부 부작용이 유발된다고 한다.¹⁵ 항결핵제에 의해 발열, 피부발진, 내부 장기 침범 및 말초 혈액의 호산구 증가 등이 특징인 항결핵제 유발 과민증후군(hypersensitivity syndrome)도 발생할 수 있다.¹⁶ 항결핵제 유발 과민반응증후군이 있던 14명과 과민반응을 보이지 않았던 항결핵제 환자 166명 및 일반 대조군 485명의 human leukocyte antigen (HLA) 대립 유전자 빈도를 비교하였을 때 HLA Cw*0401의 빈도가 과민반응을 보인 군에서 의미 있게 높아 중증인 항결핵제 유발 과민반응 증후군이 면역학적인 기전에 의해서 발생하는 것을 알 수 있다.¹⁶

이 외에 대사 효소의 유전적 감수성이 항결핵제 유발 반구진발진과 관련된다는 보고도 있다.¹⁷ 항결핵제를 복용하고 반구진발진이 발생한 62명과 특이 부작용이 없었던 192명을 대상으로 4가지 약물 대사 효소의(Nacetyltransferase2, NAT2), cytochrome P450 (CYP) 2 C9, CYP2C19 및 CYP2E1 단일염기다형성(SNP)의 유전자형 분포와 일배체형을 분석하였을 때 CYP2C19와 CYP2C9의 유전적 다형성이 약물 유발 반구진발진과 유의한 상관관계를 보였으며 NAT2와 CYP2E1는 연관이 없었다고 한다.¹⁷ 이 연구 결과는 투여된 항결핵제 자체에 의한 면역반응으로 인하여 반구진발진이 발생하는 것이 아니라, 약제가 투여된 후 이들 대사효소에 의해 대사과정을 거치면서 발생한 활성 대사물질에 의한 면역반응의 결과로 반구진발진이 발생하였다는 것을 시사한다.

결론적으로 TNF-α -308G/A의 유전적 다형성은 약물 유발성 반구진발진과 의미있는 연관성이 없었다. 즉 TNF-α -308G/A의 유전적 다형성과 항결핵제 유발성 부작용과의 관련은 표현형에 따라 달라진다고 생각한다. 이 연구의 결과는 항결핵제에 의한 간염 발생과 달리 반구진발진의 발생에는 다른 유전적 소인이 관여할 것이라는 것을 의미한다. 추후 더 많은 대상의 환자들에서 다양한 약물 대사 관여 효소와 항결핵제에 의해 발생한 반구진발진과의 관계에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

REFERENCES

1. Korea Centers for Disease Control & Prevention. Annual report on the tuberculosis cases notified in Korea 2012. Cheongwon: Korean Centers for Disease Control & Prevention, 2013.
2. American Thoracic Society; CDC; Infectious Diseases Society of America. Treatment of tuberculosis. *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-11):1-77.
3. Kim SH, Lee BH, Lee KD, Park JS, Kim YS, Jee YK, et al. The prevalence of adverse drug reactions to a short course anti-tuberculosis regimen. *Korean J Med* 2007;73:496-502.
4. Tan WC, Ong CK, Kang SC, Razak MA. Two years review of cutaneous adverse drug reaction from first line anti-tuberculous drugs. *Med J Malaysia* 2007;62:143-6.
5. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1472-7.
6. Dossing M, Wilcke JT, Askgard DS, Nybo B. Liver injury during antituberculosis treatment: an 11-year study. *Tuber Lung Dis* 1996;77:335-40.
7. Roychowdhury S, Svensson CK. Mechanisms of drug-induced delayed-type hypersensitivity reactions in the skin. *AAPS J* 2005;7:E834-46.
8. Kim SH, Kim SH, Yoon HJ, Shin DH, Park SS, Kim YS, et al. TNF- α genetic polymorphism -308G/A and antituberculosis drug-induced hepatitis. *Liver Int* 2012;32:809-14.
9. Kim SH, Kim SH, Yoon HJ, Shin DH, Park SS, Kim YS, et al. GSTT1 and GSTM1 null mutations and adverse reactions induced by antituberculosis drugs in Koreans. *Tuberculosis (Edinb)* 2010;90:39-43.
10. Lee YH, Harley JB, Nath SK. Meta-analysis of TNF-alpha promoter -308 A/G polymorphism and SLE susceptibility. *Eur J Hum Genet* 2006;14:364-71.
11. Elahi MM, Asotra K, Matata BM, Mastana SS. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792:163-72.
12. Lu Z, Chen L, Li H, Zhao Y, Lin L. Effect of the polymorphism of tumor necrosis factor-alpha-308 G/A gene promoter on the susceptibility to ulcerative colitis: a meta-analysis. *Digestion* 2008;78:44-51.
13. Fernandez TD, Mayorga C, Torres MJ, Cornejo-Garcia JA, Lopez S, Chaves B, et al. Cytokine and chemokine expression in the skin from patients with maculopapular exanthema to drugs. *Allergy* 2008;63:712-9.
14. Magee P. Drug-induced skin disorders. In: Walker R, Edwards C, editors. *Clinical pharmacy and therapeutics*. 3rd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2003:843-52.
15. Lehloenyia RJ, Dheda K. Cutaneous adverse drug reactions to anti-tuberculosis drugs: state of the art and into the future. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10:475-86.
16. Kim SH, Lee SK, Kim SH, Park HW, Chang YS, Lee KW, et al. Antituberculosis drug-induced hypersensitivity syndrome and its association with human leukocyte antigen. *Tuberculosis (Edinb)* 2013;93:270-4.
17. Kim SH, Kim SH, Yoon HJ, Shin DH, Park SS, Kim YS, et al. NAT2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2E1 genetic polymorphisms in anti-TB drug-induced maculopapular eruption. *Eur J Clin Pharmacol* 2011;67:121-7.