



## 저작자표시-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**동일조건변경허락.** 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

**저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.**

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

의학 석사학위 논문

B형 간염의 만성화 및 간세포암 발생과  
Interleukin-12 유전자 다형성

아주대학교 대학원

의학과

박진선

B형 간염의 만성화 및 간세포암 발생과  
Interleukin-12 유전자 다형성

지도교수 조성원

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2007년 8월

아주대학교 대학원

의학과

박진선

박진선의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 조 성 원 인

심 사 위 원 정 재 연 인

심 사 위 원 유 병 무 인

아 주 대 학 교 대 학 원

2007년 6월 22일

## B형 간염의 만성화 및 간세포암 발생과 Interleukin-12 유전자 다형성

**배경:** B형 간염 바이러스 (hepatitis B virus; HBV) 감염은 다양한 임상 경과를 갖는다. HBV 감염의 자연경과의 다양성의 원인으로 유전자 다형성을 포함한 숙주 요인을 들 수 있으며, 사이토카인은 숙주 면역능에 중요한 역할을 한다. 본 연구는 HBV 감염 후의 자연 경과 및 간세포암 발생과 interleukin(IL)-12A 유전자 다형성(single nucleotide polymorphisms, SNP)과의 상관성에 대해 알아보고자 하였다.

**대상 및 방법:** 2002년 3월부터 2004년 12월까지 아주대병원 소화기 내과 외래를 내원한 HBV 만성화군 730명과 HBV 감염 후 자연 회복된 HBV 제거군 320명을 포함하여 총 1,050명을 대상으로 하였다. B형 간염의 만성화와 IL-12A의 유전자 다형성과의 관련성을 조사하기 위하여, HBV 만성화군과 HBV 제거군의 IL-12A SNP 및 haplotype에 따른 차이를 비교 분석하였고, 간세포암 발생과 IL-12A의 유전자 다형성과의 관련성을 조사하기 위하여, HBV 만성화군을 간세포암군과 비간세포암군으로 나누어 IL-12A SNP 및 haplotype에 따른 차이를 비교 분석하였다.

**결과:** IL-12A의 SNP는, IL-12A 유전자 번역 시작 부위로부터 +6400, +6624, +7003 부위에서 조사하였고, IL-12A exon 7 +6400 부위는 C/C 유전자형이 가장 흔하였고, T/T 유전자형은 발견되지 않았다. IL-12A exon 7 +6624 부위는 G/G 유전자형이 가장 흔하였고, IL-12A 3'UTR +7003 부위는 T/T 유전자형이 가장 흔하게 발견되었다. 대상 환자를 HBV 만성화군과 HBV 제거군으로 분류하고, IL-12A SNP와 HBV 만성화와의 관련성을 조사한 결과 IL-12A exon 7 +6400

및 +6624 두 부위 및 3' UTR +7003 한 부위의 SNP는 HBV 만성화군과 HBV 제거군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 +6400/+6624/+7003 haplotype에 따른 HBV 만성화 관련성 조사에서도 양군 간에 통계적으로 유의한 차이점은 관찰되지 않았다. IL-12A SNP와 간세포암과의 관련성을 조사한 결과 각각의 SNP 및 +6400/+6624/+7003 haplotype에 따른 HBV 감염 후 간세포암 발생과의 연관성도 관찰되지 않았다.

**결론:** IL-12A SNP 및 haplotype은 HBV 감염 진행 및 간세포암 발생과 연관성을 보이지 않았다. HBV 감염의 자연 경과에서 숙주의 유전적 인자의 중요성을 상기해 볼때 향후 환자의 유전적 소인에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

---

**핵심어:** B형 감염, Interleukin-12 (IL-12), Single nucleotide polymorphism (SNP)

# 차 례

국문요약 .....	i
차례 .....	iii
표 차례 .....	iv
I. 서론 .....	1
II. 연구대상 및 방법 .....	3
A. 연구대상 .....	3
B. 방법 .....	4
1. 유전자형 분석(Genotyping) .....	4
C. 통계분석 .....	4
III. 결과 .....	6
IV. 고찰 .....	11
V. 결론 .....	14
참고문헌 .....	15
ABSTRACT .....	18

## 표 차례

Table 1. Frequencies of IL-12A polymorphisms .....	7
Table 2. Association between IL-12A polymorphisms and HBV persistence .....	8
Table 3. Association between IL-12A polymorphisms and development of hepatocellular carcinoma .....	10



## I. 서 론

B형 간염 바이러스(hepatitis B virus; HBV) 감염은 세계적으로 약 3억 5천만 인구가 감염되어 있으며, 국내에서 가장 흔한 만성 간질환의 원인이다(Lee, 1997). HBV 감염은 건강 보유자부터 만성 간염, 간경변증 및 간세포암에 이르기까지 다양한 임상 경과를 갖는다(Hoofnagle과 Bisceglie, 1997). B형 간염의 만성화의 원인으로는 바이러스, 숙주, 환경 인자들이 서로 상호 작용하는 것으로 추측되고 있다. 특히 한국을 포함한 아시아 지역과 같은 HBV 만연 지역에서는 수직 감염을 포함하여 주산기에 모친으로부터의 HBV의 감염이 HBV 만성화의 흔한 원인으로 알려져 있고(Lee, 1997), 신생아기 HBV 감염 후 임상 경과는 감염 경로 및 감염 당시의 나이가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으나(Shimbo 등, 1997), 이것만으로 HBV 감염 후 자연 경과를 설명하기에는 미흡한 부분이 많다.

최근 유전자 다형성을 포함한 숙주 요인이 HBV 감염의 경과를 결정짓는 중요한 인자로 대두되고 있다. 숙주 면역계에서 사이토카인은 자연면역과 특이 면역에서 다양한 역할을 담당하는데, 이들 사이토카인은 복잡한 상호작용을 통해 숙주의 면역능에 영향을 미친다. interleukin-2 (IL-2), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 및 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )를 포함한 T-helper (Th) 1 사이토카인은 주로 세포성 면역에 관여하여, 세포내 병원균으로부터 숙주를 보호하는 역할을 한다(Guidotti 등, 1994; Rico 등, 2001). IFN- $\gamma$ 는 B형 간염 바이러스에 감염된 세포의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있고(Romero와 Lavine, 1996), 몇몇 연구에서는 HBV 감염후 바이러스 제거 및 만성 간염의 진행에 연관이 있는 것으로 보고되었다(Ben-Ari 등, 2003, Kim 등, 2003). 그러나, 한국인을 대상으로 한 연구에서 IFN- $\gamma$  single nucleotide polymorphism (SNP)은 HBV 감염 후의 자연 경과와 연관 관계가 없는 것으로 보고 되었다(Cheong 등, 2006).

IL-12는 주로 항원제공세포에서 생성되는 염증성 사이토카인으로, NK 세포 및 T 세포를 활성화시켜 IFN- $\gamma$ 의 분비를 유도하는 생물학적인 기능을 담당

하고 있다(Gately 등, 1998). 활성화된 IL-12는 IL-12p35와 IL-12p40의 두가지 소단위로 구성되어 있고, 각각의 유전자는 3번 염색체(IL-12A;3p12-3q13.2)와 5번 염색체(IL-12B;5q31-33)에 위치하고 있다. 활성화된 이종이합체를 생성하기 위해서는 두개의 유전자 모두가 발현되어야 하고, 두 유전자 모두 세포의 활성화 이후에 전사가 이루어진다(Ma와 Trinchieri, 2001). IL-12p35의 전사가 상대적으로 적기 때문에 속도 제한 단계로 작용하게 된다(Snijders 등, 1996).

본 교실에서 한국인을 대상으로 한 연구에서 HBV의 자연 경과와 IFN- $\gamma$  SNP의 연관성은 관찰되지 않았으나, IFN- $\gamma$ 의 분비를 유도하고 조절하는 상위 단계의 사이토카인인 IL-12 유전자의 SNP와 HBV 감염 후의 자연 경과와 연관성은 조사된 바가 없다. 따라서 본 연구는 HBV 감염 후의 자연 경과 및 간세포암 발생과 IL-12p35 유전자 IL-12A의 SNP와의 상관성에 대해 알아보하고자 하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### A. 연구대상

2002년 3월부터 2004년 12월까지 아주대병원 소화기내과 외래를 방문한 환자 중 HBV 감염 후 자연 회복된 “HBV 제거군” 320명과 건강 보유자, 만성 간염, 간경변증 및 간세포암을 포함한 “HBV 만성화군” 730명을 포함하여 총 1,050명을 대상으로 하였다. 대상 환자군에서 HBV 만성화군은 건강보유자, 만성간염, 간경변증 등 간세포암이 없는 “비간세포암군” 637명과 간세포암이 진단된 “간세포암군” 93명으로 구분하였다.

대상 환자들의 임상적 특성은 HBV 제거군과 HBV 만성화군을 비교하였을 때, HBV 제거군의 평균 연령은 48.93세, HBV 만성화군의 평균 연령은 43.98세로 HBV 제거군의 나이가 많았고, 성별은 HBV 제거군은 총 320명 중 남자 231명, 여자 89명이었고, HBV 만성화군은 총 730명 중 남자 529명, 여자 201명이었다.

대상 환자 중 HBV 만성화군 730명을 간세포암의 발생에 따라 비간세포암군과 간세포암군으로 나눈 뒤 양군을 비교하였을 때, 비간세포암군의 평균 연령은 42.06세였고, 간세포암군의 평균 연령은 56.79세로 간세포암군의 나이가 많았으며, 성별은 비간세포암군은 총 637명 중 남자 457명, 여자 180명이었고, 간세포암군은 총 93명 중 남자 72명, 여자 21명이었다.

HBV 만성화군은 6개월 이상 HBsAg 양성, anti-HBc 양성, anti-HBs 음성인 환자로 정의하였고, HBV 제거군은 HBsAg 음성, anti-HBc 양성, anti-HBs 양성으로 정의하였다.

HBV 만성화군은 감염의 진행 여부를 관찰하기 위하여 주기적으로 혈청 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), HBeAg, anti-HBe, alpha-fetoprotein (AFP)를 조사하였고, 6개월 간격으로 복부 초음파

검사 혹은 전산화 단층 촬영을 시행하였다. 간세포암의 진단은 간조직 검사상 진단되었거나, 복부 초음파 검사, 전산화 단층촬영, 혈관조영술 및 자기공명영상 촬영상 전형적인 간세포암의 형태를 보이고, AFP가 400ng/mL 이상일 때로 정의하였다.

## B. 방법

### 1. 유전자형 분석 (Genotyping)

IL-12A 유전자 SNP는 번역 시작 부위로부터 +6400, +6624, +7003 부위에서 조사하였고, 5예의 환자에서는 DNA의 분해로 분석에 실패하여 총 1045명에 대한 분석을 시행하였다. 환자의 혈액 5cc를 헤파린 튜브에 채취하고, 전혈 300uL로부터 DNA purification kit (GENTRA, Minneapolis, MN, 55477, USA)를 사용하여 Genomic DNA를 추출한 후 polymerase chain reaction (PCR) 증폭에 의해 IL-12A exon7의 +6400과 +6624 두 부위 및 3'untranslated region (UTR) +7003 한 부위에서 유전자 다형성을 확인하였다. IL-12A 유전자의 SNP 분석은 single base primer extension assay(SNP IT™)의 방법을 이용하였다 (Snijders 등, 1996).

## C. 통계분석

각 대립 유전자가 Hardy-Weinberg 평형을 만족하는지 여부는  $\chi^2$  test를 이용하여 확인하였고, 각 대립유전자의 연관 불균형(linkage disequilibrium)에 대한 확인은  $\chi^2$  test 및 Lewontin's D'과 d2 방법을 이용하였다. 단변량 분석에서 정상 분포를 보이는 연속 변수의 분석은 independent sample t-test를 이용하였다. HBV 만성화 및 간세포암 진행에 영향을 미치는 유전자 다형성의 분석은 연

령 및 성별을 보정한 후 이중 로지스틱 회귀분석을 이용하여 조사하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### A. IL-12 유전자형의 분포

IL-12A의 SNP는, IL-12A 유전자 번역 시작 부위로부터 +6400, +6624, +7003 부위에서 조사하였고, 이들 유전자형은 Hardy-Weinberg 평형을 만족하였다. 대상 환자들을 HBV 제거군과 HBV 만성화군으로 나누고, HBV 만성화군을 간세포암군과 비간세포암군으로 재분류한 뒤 IL-12A exon 7 및 3' UTR 유전자형을 분석하였다. IL-12A exon 7 +6400 부위는 C/C 유전자형이 가장 흔하였고, T/T 유전자형은 발견되지 않았다. IL-12A exon 7 +6624 부위는 G/G 유전자형이 가장 흔하였고, IL-12A 3'UTR +7003 부위는 T/T 유전자형이 가장 흔하게 발견되었다(Table 1).

#### B. IL-12A SNP와 HBV 만성화

대상 환자를 HBV 만성화군과 HBV 제거군으로 분류하고, IL-12A SNP와 HBV 만성화와의 관련성을 조사하였다. IL-12A exon 7 +6400 및 +6624 두 부위의 SNP와 3' UTR +7003 한 부위의 SNP와 양 군 간에 연관성을 확인하기 위하여 연령 및 성별을 보정한 후 로지스틱 회귀분석을 시행하였다. 그 결과 IL-12A exon 7 +6400 및 +6624 두 부위 및 3' UTR +7003 한 부위의 SNP는 HBV 만성화군과 HBV 제거군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한, +6400/+6624/+7003 haplotype에 따른 HBV 만성화 관련성 조사에서도 양 군 간에 통계적으로 유의한 차이점은 관찰되지 않았다(Table 2).

**Table 1. Frequencies of IL-12A polymorphisms**

Loci	Position	Genotype			Frequency	Heterozygosity	HWE <sup>a</sup>		
							CC	SR	HCC
+6400 C>T	Exon 7	CC 1032	CT 11	TT 0	0.005	0.010	0.986	0.998	0.994
+6624 G>A	Exon 7	GG 790	AG 233	AA 11	0.123	0.216	0.220	0.962	0.315
+7003 T>C	3' UTR	TT 792	CT 233	CC 10	0.122	0.215	0.139	0.976	0.345

<sup>a</sup>P value of deviation from HWE among CC, SR, HCC and HBV carriers

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium

CC: Chronic Carrier

SR: Spontaneously recovered

HCC: Hepatocellular carcinoma

no HCC: HBV carriers

**Table 2 Association between IL-12A polymorphisms and HBV persistence**

Loci	Position	CC	SR	Co-dominant		Dominant		Recessive	
				OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>
+6400 C>T	Exon7	0.006	0.003	1.94 (0.41-9.12)	0.40	1.94 (0.41-9.12)	0.40	.	.
+6624 G>A	Exon7	0.126	0.119	1.10 (0.81-1.49)	0.53	1.17 (0.84-1.62)	0.35	0.53 (0.15-1.80)	0.31
+7003 T>C	3' UTR	0.124	0.121	1.06 (0.78-1.44)	0.70	1.13 (0.82-1.56)	0.47	0.41 (0.11-1.48)	0.17
<i>ht1</i> (CGT)	.	0.870	0.876	0.738	0.46	.	.	.	.
<i>ht2</i> (CAC)	.	0.123	0.117	-0.538	0.59	.	.	.	.

Genotype distribution and P-value for logistic analysis of three alternative models (co-dominant, dominant and recessive model) controlling for age and sex as covariates are shown. P-values of haplotype associations were calculated by the algorithm developed by Schaid et al. (Haplo. Score), while controlling for age and sex as covariates. Haplotypes with frequency >0.05 are presented.

UTR: untranslated region

*ht*: haplotype

OR: odds ratios

CI: confidence interval



### C. IL-12A SNP와 간세포암

HBV 만성화군을 대상으로 간세포암군과 비간세포암군으로 분류하고, IL-12A SNP와 간암과의 관련성을 조사하였다. 연령 및 성별을 보정한 후 시행한 로지스틱 회귀분석에서 IL-12A exon 7 +6400 부위의 SNP는 대립 유전자의 빈도가 0.005로 낮아 분석 값이 도출되지 않았다. IL-12A exon 7 +6624 부위의 SNP와 3' UTR +7003 한 부위의 SNP는 양 군 간에 통계적으로 유의한 차이점을 보이지 않았고, +6400/+6624/+7003 haplotype에 따른 HBV 감염 후 간세포암 발생의 관련성 조사에서도 통계적으로 유의한 차이점은 관찰되지 않았다(Table 3).

**Table 3. Association between IL-12A polymorphisms and development of hepatocellular carcinoma**

Loci	Position	HCC	No-HCC	Co-dominant		Dominant		Recessive	
				OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
+6400 C>T	Exon7	0.011	0.006	.	.	.	.	.	.
+6624 G>A	Exon7	0.137	0.124	0.98 (0.52-1.85)	0.94	1.06 (0.54-2.09)	0.86	.	0.99
+7003 T>C	3' UTR	0.133	0.122	0.98 (0.51-1.91)	0.96	1.04 (0.52-2.08)	0.90	.	0.99
<i>ht1</i> (CGT)	.	0.837	0.871	-0.488	0.63	.	.	.	.
<i>ht2</i> (CAC)	.	0.125	0.123	0.165	0.87	.	.	.	.

Genotype distribution and P-value for logistic analysis of three alternative models (co-dominant, dominant and recessive model) controlling for age and sex as covariates are shown. P-values of haplotype associations were calculated by the algorithm developed by Schaid et al. (Haplo. Score), while controlling for age and sex as covariates. Haplotypes with frequency >0.05 are presented.

UTR: untranslated region

*ht*: haplotype

OR: odds ratios

CI: confidence interval

## IV. 고 찰

B형 간염 바이러스(HBV) 감염은 세계적으로 약 3억 5천만 인구가 감염되어 있으며, 특히 아시아, 아프리카, 남유럽 및 라틴 아메리카에 만연하고 있고(Wang, 2003), 국내에서도 가장 흔한 만성 간질환의 원인으로 알려져 있다(Lee, 1997).

HBV 감염은 건강 보유자부터 만성 간염, 간경변증 및 간세포암에 이르기까지 다양한 임상 경과를 갖게 된다(Hoofnagle과 Bisceglie, 1997). HBV 감염의 자연 경과의 다양성을 결정짓는 인자로 바이러스, 숙주, 환경 인자들이 서로 상호 작용하는 것으로 추측되고 있다. HBV 감염 당시의 나이가 HBV 만성화의 중요한 인자임은 잘 알려져 있으며, 한국을 포함한 HBV 만연 지역에서는 주산기 감염, 특히 수직 감염이 HBV 만성화의 주요한 원인으로 생각된다(Lee, 1997). 그러나 이것만으로는 HBV 감염 후의 자연 경과를 설명하기에는 충분하지 않다. 최근 유전자 다형성을 포함한 숙주 요인이 HBV 감염의 자연 경과를 결정짓는 중요한 인자로 대두되고 있다. 한국인에서는 human leukocyte antigen (HLA)-DR13과 HBV 감염의 자연 경과와 연관성이 보고 되었고(Ahn 등, 2000), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin-10 (IL-10) 등 숙주의 면역체계에 연관이 있는 사이토카인의 유전자 다형성과 HBV 감염의 자연 경과와의 연관성에 대한 연구가 시도되었다(Cheong 등, 2006; Kim 등, 2003).

사이토카인은 자연 면역과 특이 면역에서 다양한 역할을 담당하게 되는데, 복잡한 상호작용을 통해 숙주의 면역능에 영향을 미치게 된다. T-helper (Th) 1 사이토카인으로 알려져 있는 interleukin-2 (IL-2), IFN- $\gamma$  및 TNF- $\alpha$  등은 주로 세포성 면역에 관여하며, 세포내 병원균으로부터 숙주를 보호하는 역할을 한다(Guidotti 등, 1994; Rico 등, 2001).

IL-12는 주로 항원제공세포에서 생성되는 염증성 사이토카인으로, NK 세포 및 T 세포를 활성화시켜 IFN- $\gamma$ 의 분비를 유도하는 생물학적인 기능을 담당하고 있다(Gately 등, 1998). 활성화된 IL-12는 IL-12p35와 IL-12p40의 두가지

소단위로 구성되어 있고, 각각의 유전자는 3번 염색체(IL-12A;3p12-3q13.2)와 5번 염색체(IL-12B;5q31-33)에 위치하고 있다. 활성화된 이중이합체를 생성하기 위해서는 두개의 유전자 모두가 발현되어야 하고, 두 유전자 모두 세포의 활성화 이후에 전사가 이루어진다(Ma와 Trinchieri, 2001). IL-12p35의 전사가 상대적으로 적기 때문에 속도 제한 단계로 작용하게 된다(Snijders 등, 1996). IL-12는 IFN- $\gamma$ 의 분비를 유도하고 조절하는 상위 단계의 사이토카인으로 IFN- $\gamma$ 의 분비를 유도 및 조절함으로써 HBV 감염의 자연경과에 영향을 줄 것으로 판단된다. IFN- $\gamma$ 는 급성 감염 시 염증성 반응을 증진시키는 대표적인 사이토카인으로, B형 간염 바이러스에 감염된 세포의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다(Guidotti 등, 1994). HBV 감염 후 자연 경과의 다양성은 IL-12의 유전자 다형성과 연관이 있을 가능성이 있고, IL-12p35와 IL-12p40 두 가지 소단위 중에서 IL-12의 속도 제한 단계인 IL-12p35의 유전자인 IL-12A의 유전자 다형성과 HBV 감염의 자연 경과와의 연관성을 알아보려고 하였다.

본 연구에서는 1050명을 대상으로 single base primer extension assay(SNP IT<sup>TM</sup>)의 방법을 이용하여 IL-12A 유전자의 SNP 분석을 시행하여 IL-12A exon 7 +6400과 +6624 두 부위와 3' UTR +7003 한 부위에서 유전자 다형성을 확인하였고, 이들 IL-12A 유전자 다형성과 HBV 만성화 및 간암 진행과의 상관관계를 분석하였다. 연령 및 성별을 보정 후 시행한 로지스틱 회귀 분석 결과 IL-12A SNP는 HBV 만성화 및 간암의 진행에 영향을 미치지 않았고, 6400/+6624/+7003 haplotype에 따른 연관성 또한 유의한 통계적 차이를 보이지 않았다.

IL-12p35와 IL-p40 두개의 소단위는 진화론적으로 기원이 다르고, 이들의 발현은 독립적으로 조절된다. p40을 발현하지 않는 세포들에서 p35를 발현함을 볼 수 있고, 이는 두개의 소단위의 기원이 다르다는 사실을 증명해 준다(Trinchieri, 1994). 그러나 생물학적으로 활성화된 이중이합체를 생성하기 위해서는 같은 세포 내에서 발현되어야 한다(Gubler 등, 1991). IL-12p35 단독으로는 활성화된 이중이합체를 생성할 수 없기 때문에, IL-12B의 유전자 다형성에 대한

영향을 고려하지 않을 경우, IL-12A의 유전자 다형성의 분석만으로는 정확한 IL-12A의 유전자 다형성과 HBV 감염의 자연 경과와의 연관성을 평가하기 어려우리라 생각한다. 또한 IL-12p40는 IL-12의 합성과 연관이 있을 뿐 아니라, T 세포가 Th1 T 세포로 분화하는 것을 활성화 시키고, Th2 T 세포로의 분화를 억제하여, Th1/Th2의 균형을 변화시켜 숙주의 면역능에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Trinchieri, 2003). Mueller 등은 HCV 감염에서 IL-12B 유전자 다형성과 IFN- $\alpha$ 와 ribavirin 혹은 peglyated IFN- $\alpha$ 와 ribavirin의 치료후 반응과의 연관성을 보고하였다(Mueller 등, 2004). HBV 감염의 자연경과와 IL-12B와의 유전자 다형성의 연관 관계에 대한 연구는 현재까지 보고되지 않았으나, 숙주의 면역계에서 IL-12B의 역할 및 HCV 감염에서 치료반응과 IL-12B 유전자 다형성과의 연관성 등으로 유추해 볼 때, IL-12B의 유전자 다형성도 HBV 감염의 자연 경과에 영향력이 있을 것으로 판단된다.

결과적으로, 본 연구를 통하여 IL-12A 유전자 다형성은 HBV 감염의 만성화 및 간암 발생과 연관이 없음을 확인할 수 있었으나, IL-12가 IL-12p35와 IL-12p40의 이종이합체라는 점과, IL-12p40의 숙주의 면역계에 미치는 영향력 등을 고려했을 때, IL-12A 단독보다는 IL-12A와 IL-12B의 유전자 다형성을 동시에 고려하여, HBV 감염의 자연 경과에 따른 차이점을 확인하는 연구가 필요하리라 보인다.

## V. 결 론

B형 간염의 만성화 및 간세포암 발생과 IL-12의 유전자 다형성과의 관련성을 조사한 결과, 통계적인 유의성은 관찰되지 않았다. 즉, IL-12A SNP 및 haplotype은 HBV 감염 진행 및 간세포암 진행과는 무관함을 알 수 있었다. 그러나 HBV 감염의 자연 경과에서 숙주의 유전적 인자의 중요성을 상기해 볼 때, 향후 보다 포괄적인 유전자를 대상으로 연구가 진행되어야 할 것이다.

## 참고 문헌

1. Ahn SH, Han KH, Park JY, Lee CK, Kang SW, Chon CY, Kim YS, Park K, Kim DK, Moon YM: Association between hepatitis B virus infection and HLA-DR type in Korea. *Hepatology* 31: 1371-1373, 2000
2. Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, Kfir B, Sulkes J, Tambur AR, Tur-Kaspa R, Klein T: Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 198: 144-150, 2003
3. Cheong JY, Cho SW, Hwang IL, Yoon SK, Lee JH, Park CS, Lee JE, Hahm KB, Kim JH: Association between chronic hepatitis B virus infection and interleukin-10, tumor necrosis factor- $\alpha$  gene promoter polymorphisms. *J Gastroenterol Hepatol* 21(7): 1163-1169, 2006
4. Cheong JY, Cho SW, Chung SG, Lee JA, Yeo M, Wang HJ, Lee JE, Hahm KB, Kim JH: Genetic polymorphism of interferon- $\gamma$ , interferon- $\gamma$  receptor, and interferon regulatory factor-1 genes in patients with hepatitis B virus infection. *Biochem Genet* 44: 246-255, 2006
5. Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, Presky DH: The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: Role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol* 16: 495-521, 1998
6. Gubler U, Chua AO, Schoenhaut DS, Dwyer CM, McComas W, Motyka R, Nabavi N, Wolitzky AG, Quinn PM, Familletti PC, Gately MK: Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 4143-4147, 1991
7. Guidotti LG, Ando K, Hobbs MV, Ishikawa T, Runkel L, Schreiber RD, Chisari FV: Cytotoxic T lymphocytes inhibit hepatitis B virus gene

- expression by a noncytolytic mechanism in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 3764-3768, 1994
8. Hoofnagle JH, di Bisceglie AM: The treatment of chronic viral hepatitis. *N Eng J Med* 336: 347-356, 1997
  9. Kim YJ, Lee HS, Yoon JH, Kim GY, Park MH, Kim LH, Park BL, Shin HD: Association of TNF-alpha promoter polymorphism with the clearance of hepatitis B virus infection. *Hum Mol Genet* 12: 2541-2546, 2003
  10. Lee WM: Hepatitis B virus infection. *N Eng J Med* 337: 1733-1745, 1997
  11. Ma X, Trinchieri G: Regulation of interleukin-12 production in antigen-presenting cells. *Adv Immunol* 79: 55-92, 2001
  12. Mueller T, Mas-Marques A, Sarrazin C, Wiese M, Halangk J, Witt H, Ahlenstiel G, Spengler U, Goebel U, Wiedenmann B, Schreier E, Berg T: Influence of interleukin 12B (IL 12B) polymorphisms on spontaneous and treatment-induced recovery from hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 41: 652-658, 2004
  13. Rico MA, Quiroga JA, Subira D, Castanon S, Esteban JM, Pardo M, Carreno V: Hepatitis B virus-specific T-cell proliferation and cytokine secretion in chronic hepatitis B e antibody-positive patients treated with ribavirin and interferon alpha. *Hepatology* 33: 295-300, 2001
  14. Romero R, Lavine JE: Cytokine inhibition of the hepatitis B virus core promoter. *Hepatology* 23: 17-23, 1996
  15. Shimbo S, Zhang ZW, Qu JB, Wang JJ, Zhang CL, Song LH, Watanabe T, Higashikawa K, Ikeda M: Urban-rural comparison of HBV and HCV infection prevalence among adult women in Shandong Province, China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 28: 500-506, 1997



16. Snijders A, Hilkens CM, van der Pouw Kraan TC, Engel M, Aarden LA, Kapsenberg ML: Regulation of bioactive IL-12 production in lipopolysaccharide-stimulated human monocytes is determined by the expression of the p35 subunit. *J Immunol* 156: 1207-1212, 1996
17. Syvanen AC: From gels to chips: "minisequencing" primer extension for analysis of point mutations and single nucleotide polymorphism. *Hum Mutat* 13: 1-10, 1999
18. Trinchieri G: Interleukin-12: a cytokine produced by antigen-presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes. *Blood* 84: 4008-4027, 1994
19. Trinchieri G: Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 3: 133-146, 2003
20. Wang FS: Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 9: 641-644, 2003

- ABSTRACT -

**Association of Interleukin-12 gene Polymorphism with  
Hepatitis B virus Persistence and Hepatocellular  
carcinoma**

Jin Sun Park

Department of Medical Sciences  
The Graduate School, Ajou University

(Supervised by Professor Sung Won Cho)

**Background:** Infection with hepatitis B virus (HBV) may result in various conditions. Natural course of HBV infection may result from host immune factors including single nucleotide polymorphisms(SNPs), and cytokines play a crucial role in host immune defense. This study was undertaken to investigate the association between HBV persistence and development of hepatocellular carcinoma(HCC) and SNPs of interleukin(IL)-12A.

**Methods:** Between March 2002 and December 2004, 730 Korean patients with HBV infection and 320 healthy individuals who recovered from HBV infection were enrolled. We assessed polymorphisms and haplotype in IL-12A, and the genotype distributions of the HBV clearance and persistence groups were compared to investigate the association between HBV persistence and SNPs of IL-12A. And the genotype distributions of the HCC and no HCC groups were compared to investigate the association between development of HCC

and SNPs of IL-12A.

**Results:** We assessed SNPs in IL-12A at position +6400, +6624 and +7003. In IL-12A exon 7 +6400, the most common genotype was C/C and T/T genotype was not found. In IL-12A exon 7 +6624, the most common genotype was G/G. And in IL-12A 3' UTR +7003, the most common genotype was T/T. Study subjects were classified into 2 groups, the HBV persistence and the HBV clearance. On the basis of logistic regression analysis, no statistically significant association with HBV persistence was observed with IL-12A exon 7 +6400, +6624, 3' UTR +7003 SNP and haplotype of IL-12A +6400/+6624/+7003. Also, no statistically significant association with HCC development was observed with IL-12A exon 7 +6400, +6624, 3' UTR +7003 SNP and haplotype of IL-12A +6400/+6624/+7003.

**Conclusion:** This study suggest that SNPs and haplotype of IL-12A were not associated with HBV persistence and development of HCC. Further studies are needed to identify the host genetic factors including SNPs.

---

**Key words :** B viral hepatitis, Interleukin-12 (IL-12), Single nucleotide polymorphism (SNP)