

## 신장이식에서의 TGF- $\beta_1$ 유전자형 분석

전동석

계명대학교 의과대학 임상병리학교실

### TGF- $\beta_1$ Genotyping in Kidney Transplantation

Dong Seok Jeon, M.D.

Department of Clinical Pathology, Keimyung University College of Medicine, Taegu, Korea

**Background :** Transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta_1$ ) is a multifunctional cytokine that is involved in the development of the features of chronic rejection in organ transplantation, namely fibrosis. The severity and frequency of the rejection are dependent on the amount of the TGF- $\beta_1$  production. The level of TGF- $\beta_1$  synthesis varies between individuals and is dependent on varieties of single nucleotide polymorphism (SNP) in the genes encoding TGF- $\beta_1$ . The goal of this study was to determine TGF- $\beta_1$  genotypic variations in Koreans primarily related to kidney transplantation since most of the studies dealt with lung transplantation in Caucasoid populations.

**Methods :** From January to June 1999, samples were collected from 98 patients and donors for kidney transplantation. The sample were genotyped by polymerase chain reaction using sequence specific primer (PCR-SSP) for six known SNPs in the TGF- $\beta_1$  gene: -988, -800, -509 and codon 10, 25 and 263. All procedures of PCR were performed under the same conditions.

**Results :** Only 3 genotypes of -988/-800/-509, codon 10 and 25 in exon 1 and codon 263 in exon 5, were identified: LL type, CGC/CGC-leucine/leucine (L/L)-arginine/arginine (A/A)-threonine/threonine (T/T); LP type, CGC/CGT-leucine/proline (L/P)-AA-TT; PP type, CGT/CGT-PP-AA-TT. Homozygosity for arginine at codon 25 and threonine at codon 263 were found in 100% of the patients.

**Conclusions :** Even though it was stated that polymorphisms in the TGF- $\beta_1$  gene, especially at codon 25, were highly related in the production of TGF- $\beta_1$  and also the frequency of graft rejection, as stated in English literature, and 100% of arginine homozygosity at codon 25 showed in this study. Therefore, there might be an another factor influencing the graft rejection and fibrosis other than TGF- $\beta_1$  genotype unless the TGF- $\beta_1$  level of serum has been found to be higher or if there have been more frequent rejections in Koreans. Confirmation of this prediction needs proper comparisons between genotyping, TGF- $\beta_1$  level and chronic rejection in more patients in the near future. (*Korean J Clin Pathol* 2001; 21: 225-30)

**Key words :** TGF- $\beta_1$  genotyping, Kidney transplantation, Chronic rejection, PCR-SSP

## 서론

접 수 : 2001년 4월 12일      접수번호 : KJCP1487  
수정본접수 : 2001년 5월 23일  
교신저자 : 전 동 석  
우 700-310 대구시 중구 동산동 194  
계명대학교 의과대학 임상병리학교실  
전화 : 053-250-7222, Fax : 053-250-7275  
E-mail : dsjun@dsmc.or.kr

\*본 연구는 1999년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌음.

Transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta_1$ )은 다기능을 가진 cytokine으로 저농도에서는 proinflammatory 기능을 하며 고농도에서는 창상치유와 섬유화에 관여한다. 또한 여러종류의 세포에서 분비되어 각 세포의 증식과 분화를 조절하며 세포의 기질의 생성과 파괴에 관여한다[1-4]. TGF- $\beta_1$ 이 장기 이식에서

만성 이식 거부반응과 기능저하를 의미할 수 있는 주요 소견인 섬유화와 동맥경화에 관여한다는 것은 알려진 사실이다[5, 6]. 이식은 면역인자와 비면역인자에 의해 다양한 반응을 초래하며 조직손상을 재건하는 과정에서 이식된 내피세포와 외피세포에서 면역인자인 TGF- $\beta$ 를 포함한 여러 성장인자들이 분비된다. 이렇게 분비된 TGF- $\beta$ 는 기질 합성은 촉진시키고 분해를 저해하므로 섬유화를 초래하게 되며 장기간 노출시 간질의 섬유화와 이식편에 반흔을 남기게 된다[7, 8]. 한편, TGF- $\beta$ 에 의해 평활근 세포는 혈관내벽으로 이동이 촉진되고 증식하게 되며 기질 단백질의 침착으로 동맥경화증이 초래되고 혈관내벽이 좁아지게 된다. 신이식시에도 섬유화와 동맥경화증은 종종 볼 수 있는 거부반응 소견으로 만성 이식 신병증과 TGF- $\beta$ 의 유전형은 관계가 있는 것으로 보고되었다[7].

현재까지 진행되어진 TG- $\beta$  유전형의 연구는 주로 백인 폐이식 환자를 대상으로 하였으며 국내에서는 연구가 미흡한 것으로 알고 있다. 이 연구에서는 신이식을 한 환자군, 신이식이 예정인 환자군과 장기 제공자를 대상으로 PCR-SSP (polymerase chain reaction using sequence specific primer) 방법을 이용하여 6개의 주요 TGF- $\beta$  유전자의 SNP (single nucleotide polymorphism)에 대해 조사하였다. 이 연구가 앞으로 신이식, TGF- $\beta$ 과 거부반응에 대한 연구의 기초자료로써 활용이 되었으면 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

1999년 1월부터 6월까지 계명대 동산의료원에서 신이식을 시행한 환자 13명, 이식 예정인 만성신부전 환자 24명, 장기제공자 61명 총 98명을 대상으로 하여 heparin 혹은 EDTA 처리된 말초혈액을 PCR-SSP법의 검체로 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) DNA 분리

10 mL의 말초혈액을 Ficoll-Paque로 분리한 단핵구 세포를 TEN 완충액 910 mM Tris-HCl (pH8.0), 1 mM EDTA, 0.1 mM NaCl 300  $\mu$ L로 재부유한 후, 10% SDS 25  $\mu$ L와 100 mg/mL의 proteinase-K 20  $\mu$ L를 가하고 강하게 진탕한 후 37  $^{\circ}$ C에서 2-14시간 방치하였다. 각 검체를 원심 후 석회산(phenol) 200  $\mu$ L와 chloroform/isoamyl alcohol (24:1) 200  $\mu$ L를 첨가하여 30초간 진탕하고 12,000 $\times$ g에서 5분간 원침한 후, 상층액을 취하여 chloroform/isoamyl alcohol (24:1)을 동량 가하여 5분간 진탕한 다음 12,000 $\times$ g에서 5분간 원침하였다. 상층액에 10  $\mu$ L의 5 M NaCl을 가하여 혼합하고 100  $\mu$ L의 차가운 에탄올을 가하고 잘 혼합하여 -20 $^{\circ}$ C에서 30분간 방치한 다음 10분간 원침하여 DNA 침사를 얻었다. 1 mL의 70% 에탄올을 DNA 침사에 가하고 잘 혼합한 후 12,000 $\times$ g에서 20분간 원침하여 정제된 DNA 침사를 얻었다. 공기 중에 말린 후 20  $\mu$ L의 증류수에 녹여 분광광도계를 이용하여 DNA 농도를 50 ng/ $\mu$ L로 조정하여 검사 전까지 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

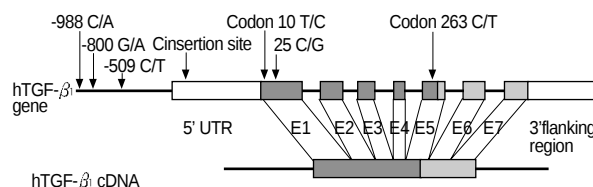


Fig. 1. Single nucleotide polymorphic sites (SNPs) of the human TGF- $\beta$  gene. Seven SNPs have been identified in the upstream and coding regions of hTGF- $\beta$  gene: -988, -800, and -509 of the upstream region, a C insertion site at position 72 of the 5' untranslated region (UTR) and three biallelic polymorphisms located at codons 10 and 25 of exon 1 and codon 263 of exon 5.

Table 1. Primer mix details and specificities for genotyping of TGF- $\beta$  polymorphism

| PM no. | Specificity               | S  | Final Conc. ( $\mu$ M) | AS | Final Conc. ( $\mu$ M) | Control primers | Amplicon size (bp) |
|--------|---------------------------|----|------------------------|----|------------------------|-----------------|--------------------|
| 1      | TGF -988 C to -800 g      | 34 | 0.65                   | 25 | 0.65                   | 63+64           | 188                |
| 2      | TGF -988 C to -800 A      | 34 | 0.65                   | 71 | 0.65                   | 63+64           | 188                |
| 3      | TGF -988 A to -800 g      | 35 | 0.65                   | 25 | 0.65                   | 63+64           | 188                |
| 4      | TGF -988 A to -800 A      | 35 | 0.65                   | 71 | 0.65                   | 63+64           | 188                |
| 5      | TGF -800 g to -509 C      | 33 | 0.65                   | 56 | 0.65                   | 63+64           | 291                |
| 6      | TGF -800 g to -509 T      | 33 | 0.65                   | 28 | 0.65                   | 63+64           | 291                |
| 7      | TGF -800 A to -509 C      | 32 | 0.65                   | 56 | 0.65                   | 63+64           | 291                |
| 8      | TGF -800 A to -509 T      | 32 | 0.65                   | 28 | 0.65                   | 63+64           | 291                |
| 9      | TGF aa 10 L (leucine)     | 21 | 0.26                   | 27 | 0.20                   | 63+64           | 416                |
| 10     | TGF aa 10 P (proline)     | 21 | 0.26                   | 26 | 0.33                   | 63+64           | 416                |
| 11     | TGF aa 25 P (proline)     | 21 | 0.26                   | 31 | 0.37                   | 63+64           | 428                |
| 12     | TGF aa 25 A (arginine)    | 21 | 0.26                   | 30 | 0.37                   | 63+64           | 428                |
| 13     | TGF aa 263 T (threonine)  | 72 | 0.65                   | 36 | 0.65                   | 63+64           | 200                |
| 14     | TGF aa 263 I (isoleucine) | 73 | 0.65                   | 36 | 0.65                   | 63+64           | 200                |

Abbreviations: S, sense primer number; AS, antisense primer number; PM No., primer mix number; Conc., concentration; bp, base pair.

Table 2. PCR-SSP primer specificities and sequences for TGF- $\beta_1$  genotypings

| Gene    | Polymorphism | Primer no. | Sense (S)/<br>Antisense (AS) | Sequence accession number | Annealing position | Specificity          | Sequences              |
|---------|--------------|------------|------------------------------|---------------------------|--------------------|----------------------|------------------------|
| TGF     | -988C/A      | 34         | S                            | J04431 (17)               | 359-375            | -988C                | 5'GCCCCTGGGCAGTTGGC    |
|         |              | 35         | S                            |                           | 359-375            | -988A                | 5'GGCCCCTGGGCAGTTGGA   |
|         | -800G/A      | 25         | AS                           | J04431 (17)               | 581-563            | -800G                | 5'GGGTGTGGATGGTGGTGAC  |
|         |              | 71         | AS                           |                           | 581-563            | -800A                | 5'GGGTGTGGATGGTGGTGAT  |
|         |              | 33         | S                            | J04431 (17)               | 545-563            | -800G                | 5'AGGGACTCTGCCTCCGGCG  |
|         |              | 32         | S                            |                           | 545-563            | -800A                | 5'AGGGACTCTGCCTCCAACA  |
|         | -509 C/T     | 56         | AS                           | J04431 (17)               | 872-854            | -509C                | 5'GGGCAACAGGACACCTGAG  |
|         |              | 28         | AS                           |                           | 872-854            | -509T                | 5'GGGCAACAGGACACCTGAA  |
|         | 10 T/C       | 27         | AS                           | X02812 (18)               | 887-870            | aa 10L (leucine)     | 5'GCAGCGGTAGCAGCAGCA   |
|         |              | 26         | AS                           |                           | 887-870            | aa 10P (proline)     | 5'GCAGCGGTAGCAGCAGCG   |
|         | 25 C/G       | 30         | AS                           | X02812 (18)               | 931-915            | aa 25A (arginine)    | 5'TAGTCCCGCGGCCGCGC    |
|         |              | 31         | AS                           |                           | 931-915            | aa 25P (proline)     | 5'TAGTCCCGCGGCCGCGCG   |
|         |              | 21         | S                            | X05844 (19)               | 471-487            | consensus            | 5'CCCCAGACCTCGGGCGC    |
|         |              | 72         | AS                           |                           | 359-342            | aa 263T (threonine)  | 5'GGGCCCTCTCCAGCGGGG   |
|         | 263 C/T      | 73         | AS                           |                           | 359-342            | aa 263I (isoleucine) | 5'GGGCCCTCTCCAGCGGGA   |
|         |              | 36         | S                            |                           | 27-44              | consensus            | 5'GCTTCCTCTCGCCACTC    |
| Control | DRB Ex3      | 63         | S                            |                           |                    |                      | 5'TGCCAAGTGGAGACACCAA  |
|         | DRB Ex4      | 64         | AS                           |                           |                    |                      | 5'GCATCTTGCTCTGTGCAGAT |

2) TGF- $\beta_1$  genotyping을 위한 Sequence specific primers  
Gene Bank search를 통하여 TGF- $\beta_1$  유전자의 SNP부위로 알려진 UTR (untranslated region)의 -988, -800, -509부위와 codon 10, 25, 263을 규명하기 위한 SSP를 고안하였다(Fig. 1, Table 1).

### 3) 중합효소 연쇄반응

각 SNP를 동일한 thermal condition하에서 PCR을 수행하고 -988, -800, -509부위의 SNPs는 각 allele의 유전자형을 규정할 수 있도록 sense와 antisense 시발체 조합 14가지를 결정하여 PCR 반응 첨가물에 이용하였다(Table 2). PCR 증폭은 Gene-Amp-9600 thermocycler (Perkin Elmer, Norwalk USA)를 사용하여 94°C에서 10분간 전 변성과정을 거친 후 96°C 25초, 70°C 45초, 72°C 45초로 5 cycles를 시행하였다. 그 후 96°C 25초, 65°C 50초, 72°C 45초로 21 cycles를 시행하였고 96°C 25초, 60°C 60초, 72°C 120초로 1 cycle 시행하였다. PCR 반응 생성물 10  $\mu$ L에 2.5  $\mu$ L의 gel loading buffer (bromphenol blue와 xylene cyanol이 함유된 30% (v/v) glycerol)을 가하여 0.8% agarose gel에서 25-30분간 이동시켰으며 UV transilluminator 하에서 겔을 검사하고 촬영하였다.

## 결 과

동산의료원에서 신장이식이 된 환자, 이식이 예정인 환자를 각각 한 군으로 보고 신장제공자를 또 다른 군으로 분류를 하여 검사한 결과, TGF- $\beta_1$  유전자의 upstream 부위 -988과 -800에서

는 염기서열의 변화가 없었고 codon 25와 263에 대해서도 모든 예에서 homozygote를 보였으며 -509에서의 염기서열의 치환(C->T)과 codon 10에는 leucine과 proline의 치환이 환자와 공여자에서 다양하게 분포한 것을 볼 수 있었다. 결국 -988/-800/-509의 각 염기서열과 exon 1의 codon 10, 25와 263에 대해 크게 3가지 유형을 분류되었는데, 총 98명 중 먼저 LL형은 CGC/CGC-leucine/leucine (LL)-arginine/arginine (AA)-threonine/threonine (TT)으로 30예, LP형은 CGC/CGC-leucine/proline (LP)-AA-TT로 48예 그리고 PP형은 CGT/CGT-PP-AA-TT로 20예에서 나타났다. 신이식이 실시된 환자 13명에서는 각

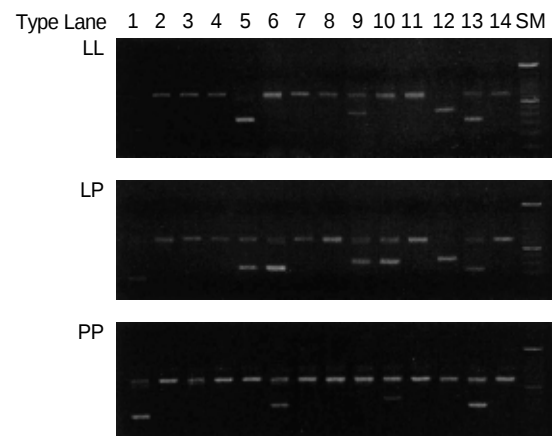


Fig. 2. Common types of PCR-SSP genotyping of TGF- $\beta_1$  single nucleotide polymorphisms (SNPs) using 14 primer pairs. Each lane indicates the primer mix number which are according to Table 1. SM is size marker.

Table 3. PCR-SSP genotypes of renal transplantation donor and recipients

| Designated types | Genotype         | Number (%) of cases |           |          |       |
|------------------|------------------|---------------------|-----------|----------|-------|
|                  |                  | Donor               | PTR       | PoTR     | Total |
| LL               | CGC/CGT-LL-AA-TT | 16 (26.2)           | 9 (37.5)  | 5 (38.5) | 30    |
| LP               | CGC/CGT-LP-AA-TT | 34 (55.7)           | 10 (41.7) | 4 (30.8) | 48    |
| PP               | CGT/CGT-PP-AA-TT | 11 (18.0)           | 5 (20.8)  | 4 (30.8) | 20    |
| Total            |                  | 61                  | 24        | 13       | 98    |

Abbreviations: PTR, pretransplanted patients; PoTR, posttransplanted patients.

각 5, 4, 4예가 관찰되었으며 신이식이 예정인 환자군에서는 각각 9, 10, 5예를 보였다. 공여자군에서는 LL형, LP형 및 PP형에 대해 각각 16, 34, 11예를 보였다(Fig. 2, Table 3).

Codon 25의 아미노산의 염기서열은 검사 대상환자 모두에서 TGF- $\beta_1$ 단백의 high producer로 밝혀진 arginine homozygote (A/A)였으며, intermediate producer인 arginine과 proline heterozygote인 AP형이나 혹은 lower producer인 PP형은 없었다. Codon 263에서도 threonine의 homozygote만을 관찰할 수 있었다.

## 고 찰

TGF- $\beta_1$ 는 390개의 아미노산을 함유한 단백질로 합성되지만, 활성형은 112개의 아미노산을 함유하며 이중황화물로 연결된 이 중쇄를 가진다[9]. 발현 유전자는 염색체 19번 장완 13에 있고 [10, 11] 유전자의 배치는 첫 전사시작부위(position +1)에 의거해 위치하며 처음 +840 bases까지는 비번역 구간이므로 +841부터 codon 1이 시작된다[12, 13]. TGF- $\beta_1$ 의 생성정도는 유전자 배열의 다형성에 따라 개인별로 다양한 차이를 보이며 생성이 많이 될수록 이식 후 거부반응의 빈도나 정도가 많아지거나 심해지게 된다. 특히, codon 10과 25에서의 유전자 변이는 체내의 TGF- $\beta_1$ 의 생성과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는데 codon 10에서는 leucine homozygote가, codon 25에서는 arginine homozygote인 경우에서 가장 높은 TGF- $\beta_1$ 의 생성을 나타내는 것으로 보고되었다[7]. 폐 이식 후의 섬유화의 정도가 심한 환자에서 높은 TGF- $\beta_1$ 의 생성을 보이지는 않는 것으로 밝혀졌다[14].

한편, TGF- $\beta_1$ 의 유전형을 알아보기 위한 방법은 PCR-SSOP (polymerase chain reaction using sequence-specific oligonucleotide probe)이 주로 사용되고 있으나[14, 15], PCR-SSP법은 PCR-SSOP법에 비해 몇 가지 장점을 가진 것으로 보고되었다. 우선 소요시간이 훨씬 빠르고 과정이 간단하며 시발체 디자인시 sequence mismatch를 이용하므로 통상의 PCR법을 사용하여 single nucleotide의 차이를 쉽게 찾아낼 수 있으며 내부 정

도관리 반응을 이용하여 위음성 증폭의 문제를 해결할 수 있는 장점도 있었다[16]. 이에 본 연구에서도 Lympanty 등[16]에 의해 고안된 시발체의 사용으로 PCR-SSP법을 이용하여 보다 쉽고 간편하게 TGF- $\beta_1$ 의 유전형 분석을 실시할 수 있었다(Table 1).

TGF- $\beta_1$ 는 주로 백인 폐 이식환자를 대상으로 많이 연구되어지고 있었으며 이 연구결과와 비교는 할 수 없겠지만, 본 연구에서는 외국에 비해 각 염기서열과 아미노산의 치환에 의한 유전자의 다형성이 적은 것으로 나타났다. El-Gamel 등[14]은 TGF- $\beta_1$ 의 유전자의 다형성을 codon 10과 25에 대해서 알아보았는데, codon 10에서 leucine의 발현이 TGF- $\beta_1$ 의 생성정도와 직접적인 연관을 보이지 않았으나, cystic fibrosis 환자군에서 정상인에 비해 leucine이 나타나는 빈도가 높았고 codon 25의 arginine은 각 군별로 다형성을 보였으며 폐이식환자 중 이식 후 기관지경 생검상 간질성 섬유화를 보인 경우 92%에서 arginine homozygote를 가졌으나, 섬유화가 없는 경우는 14%에서 arginine homozygote를 보였다. 결국 codon 10의 leucine과 25의 arginine homozygosity는 이식 후 불량한 예후와 관계한다고 하였다. 또한 Awad 등[15]에 의하면 다양한 환자 분포를 대상으로 TGF- $\beta_1$ 의 유전형과 섬유화의 정도를 연구한 결과, TGF- $\beta_1$ 의 유전형에서 5가지의 다형성이 있었는데 -800과 -509에서의 염기서열의 치환, -72에서의 삽입, +869와 +915에서의 염기서열 치환이 있었다. +869의 변화는 codon 10에서 leucine이 proline으로 아미노산의 전환된 것이고 +915에서는 codon 25의 arginine이 proline으로 전환된 것이었다. Codon 25 (arginine→proline)의 변화는 개인간의 TGF- $\beta_1$ 의 생성 정도를 좌우하는 것으로 보았는데 arginine/arginine homozygote인 경우 TGF- $\beta_1$ 의 높은 생성을 초래하였고 이식 전 섬유화 정도는 정상인에 비해, 이식 후의 이식편 섬유화 정도는 정상인과 이식 후 섬유화가 없는 군에 비해 그 정도가 심할수록 많이 분비되므로 비례적인 관계를 보여 주었다[15]. 본 연구에서는 -509와 codon 10에서의 유전형의 다형성만이 관찰되었으며 이에 따라 세가지 유형으로 분류를 하였고 각 형은 연구 대상군에서 골고루 분포하였다. 모든 대상에서 codon 25의 arginine/arginine homozygote를 보였는데 비록 이식 전후의 혈중 TGF- $\beta_1$ 치와 섬유화 정도의 상관관계를 알아보지 못하였으나 연구결과만으로 생각해 본다면 이식 후 추적관찰시 만성 거부반응인 섬유화나 동맥경화증의 빈도와 정도가 심할 것으로 예견되므로 정밀한 조사가 필요할 것으로 사료된다. Codon 10의 leucine/leucine homozygote의 경우도 TGF- $\beta_1$ 의 높은 생성과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되는데 본 연구에서는 codon 10의 다형성을 보였기에 각 형별에 따른 TGF- $\beta_1$ 치를 측정하여 어떤 관계를 보이는지는 추후 연구해야 할 과제일 것으로 사료된다.

이 연구에서는 TGF- $\beta_1$  유전자의 다형성이 외국에 비해 적었지만, 모든 대상군에서 codon 25의 arginine homozygosity를 보인 것이 중요한 결과로 사료되며 이는 외국의 보고와 비교하여 TGF- $\beta_1$ 치가 더 높거나 이식 후 거부반응의 빈도가 높지 않다면

이것 외에 거부반응이나 섬유화에 영향을 미치는 다른 인자가 또 있을 것으로 추정되므로 추후 추적관찰로 확인이 필요할 것으로 사료된다. 신이식이 시행된 환자인 경우에는 추적관찰을 통한 만성 거부반응의 빈도와 정도를 조사해 볼 필요가 있을 것이며 신이식이 예정이거나 장기제공자에서도 혈중이나 조직내의 TGF- $\beta_1$ 치를 비교하는 연구와 추후 신이식이 되고 나서 수여자에서 거부반응의 정도를 알아보는 연구가 된다면 앞으로의 신이식과 TGF- $\beta_1$ 의 유전형에 대한 많은 연구의 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

**배경 :** Transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta_1$ )는 다양한 기능을 가진 cytokine으로서 장기이식시 섬유화 등 만성거부반응을 야기한다. 이식 후에 유도 생산되는 TGF- $\beta_1$ 의 양에 따라 거부반응의 빈도가 좌우된다. 이식후 각 환자의 TGF- $\beta_1$  단백질 생성량은 TGF- $\beta_1$  유전자형에 의해 결정되는데, 이는 TGF- $\beta_1$  유전자에 존재하는 여러 종류의 single nucleotide polymorphism (SNP)에 의해 결정될 수 있다고 알려져 있다. 현재까지 진행된 TGF- $\beta_1$  유전형의 연구는 주로 백인 폐이식 환자를 대상으로 하였으나, 이 연구에서는 신장이식 환자를 대상으로 하여 TGF- $\beta_1$  유전형을 조사하였다.

**방법 :** TGF- $\beta_1$ 의 유전형은 98명의 신장이식 환자와 공여자를 대상으로 염기서열 특이 시발체(sequence specific primer, SSP)를 이용한 PCR법(PCR-SSP)으로 분석하였다. TGF- $\beta_1$  유전자의 SNP 부위로 잘 알려진 -988, -800, -509와 codon 10, 25 그리고 263의 유전자형 분석을 규명하기 위해 PCR-SSP는 모두 동일한 조건 하에서 실시하였다.

**결과 :** TGF- $\beta_1$ 의 유전자의 SNP부위의 유전형은 3가지로 분류되었는데, LL형은 CGC/CGC-leucine/leucine (LL)-arginine/arginine (A/A)-threonine/threonine (T/T), LP형은 CGC/CGT-leucine/proline (L/P)-A/A-T/T, PP형은 CGT/CGT-P/P-A/A-T/T이었다. 모든 대상 검체에서 codon 25는 arginine homozygote와 codon 263은 threonine homozygote를 보였다.

**결론 :** 외국의 보고에서는 TGF- $\beta_1$ 의 유전자형의 다형성, 특히 codon 25의 염기서열 다형성에 따른 혈중 TGF- $\beta_1$  생성과 이식 거부반응의 빈도가 관련이 있다고 알려져 있으나, 이 연구에서는 검사대상 모든 군에서 codon 25의 arginine homozygosity가 나타났다으므로 한국인에서는 외국 보고와 비교하여 TGF- $\beta_1$ 치가 더 높거나 거부반응 빈도가 더 높지 않다면 codon 25의 염기서열의 다형성 외에 거부반응이나 섬유화에 영향을 미치는 다른 인자가 또 있을 것으로 사료된다. 이 사실을 뒷받침하기 위해서는 더 많은 신장이식 환자를 대상으로 한 TGF- $\beta_1$ 의 유전자형, 혈중 TGF- $\beta_1$ 치와 만성 거부반응의 발생빈도에 대한 상관관계가 앞으

로 연구되어야 할 것으로 사료된다.

## 참고문헌

1. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, Assoian RK. Transforming growth factor- $\beta$ : biological function and chemical structure. *Science* 1986; 233: 532-4.
2. Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, et al. Production of transforming growth factor beta by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 1986; 163: 1037-50.
3. Massague J, Cheifetz S, Ignatz RA, Boyd FT. Multiple type-beta transforming growth factors and their receptors. *J Cell Physiol* 1987; 133: 43-7.
4. Khalil N, Bereznay O, Sporn M, Greenberg AH. Macrophage production of transforming growth factor beta and fibroblast collagen synthesis in chronic pulmonary inflammation. *J Exp Med* 1989; 170: 727-37.
5. Sanderson N, Factor V, Nagy P, Kopp J, Kondaiah P, Wakefield L, et al. Hepatic expression of mature transforming growth factor beta1 in transgenic mice results in multiple tissue lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2572-6.
6. Nabel EG, Shum L, Pompili VJ, Yang ZY, San H, Shu HB, et al. Direct transfer of transforming growth factor beta1 gene into arteries stimulates fibrocellular hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10759-63.
7. Hutchinson IV. The role of transforming growth factor- $\beta$  in transplant rejection. *Transplant Proc* 1999; 31: 9S-13S.
8. Sankaran D, Asderakis A, Ashraf S, Roberts IS, Short CD, Dyer PA, et al. Cytokine gene polymorphism predict acute graft rejection following renal transplantation. *Kidney Int.* 1999; 56: 281-8.
9. Kanzaki T, Olofsson A, Moren A, Wernstedt C, Hellman U, Miyazono K, et al. TGF- $\beta_1$  binding protein: a component of the large latent complex of TGF- $\beta_1$  with multiple repeat sequences. *Cell* 1990; 61: 1051-61.
10. Fujii D, Brissenden JE, Derynck R, Francke U. Transforming growth factor beta gene maps to human chromosome 19 long arm and to mouse chromosome 7. *Somat Cell Mol Genet* 1986; 12: 281-8.
11. Kim S, Glick A, Sporn MB, Roberts AB. Characterization of the promoter region of the human transforming growth factor  $\beta_1$  gene. *J Biol Chem* 1989; 264: 402-8.
12. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Eaton DH, Bell JR, Assoian RK, et al. Human transforming growth factor-beta complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature* 1985; 316: 701-5.
13. Derynck R, Rhee L, Chen EY, Van Tilburg A. Intron-exon structure of the human transforming growth factor-beta precursor gene. *Nucleic Acids Res* 1987; 15: 3188-9.

14. El-Gamel A, Awad M, Sim E, Hasleton P, Yonan N, Egan J, et al. *Transforming growth factor- $\beta_1$  and lung allograft fibrosis. Eur J Cardio-Thoracic Sur* 1998; 13: 24-30.
15. Awad M, El-Gamel A, Hasleton P, Turner D, Sinnott P, Hutchinson IV. *Genotypic variation in the transforming growth factor- $\beta_1$  gene. Transplantation* 1998; 66: 1014-20.
16. Lympny PA, Avila JJ, Mullighan C, Marshall S, Welsh KI, du Bois RM. *Rapid genotyping of transforming growth factor- $\beta_1$  gene polymorphisms in a UK Caucasoid control population using the polymerase chain reaction and sequence-specific primers. Tissue Antigens* 1998; 52: 573-8.