

# 관상동맥 질환에서 CD14 유전자형에 따른 세균 및 Heat Shock Protein에 대한 반응의 차이

서울대학교 의과대학 내과학교실<sup>1</sup>, 서울대학교병원 강남센터<sup>2</sup>, 서울대학교병원 임상의학연구소 심혈관연구실<sup>3</sup>  
 한주용<sup>1,3</sup> · 최수연<sup>1,2</sup> · 조현주<sup>3</sup> · 김화평<sup>3</sup> · 강현재<sup>1,3</sup> · 구본권<sup>1,3</sup> · 김남중<sup>1</sup>  
 김효수<sup>1,3</sup> · 손대원<sup>1,3</sup> · 오병희<sup>1,2,3</sup> · 박영배<sup>1,3</sup> · 최윤식<sup>1,3</sup>

## The Association between CD14 Polymorphism and Response to Infectious Agents or Heat Shock Protein in Patients with Stable Coronary Artery Disease in Koreans

Joo-Yong Hahn, M.D.<sup>1,3</sup>, Soo-Yeon Choi, M.D.<sup>1,2</sup>, Hyun-Ju Cho, M.S.<sup>3</sup>, Hwa-Pyung Kim, M.S.<sup>3</sup>  
 Hyun-Jae Kang, M.D.<sup>1,3</sup>, Bon-Kwon Koo, M.D.<sup>1,3</sup>, Nam Joong Kim, M.D.<sup>1</sup>, Hyo-Soo Kim, M.D.<sup>1,3</sup>  
 Dae-Won Sohn, M.D.<sup>1,3</sup>, Byung-Hee Oh, M.D.<sup>1,2,3</sup>, Young-Bae Park, M.D.<sup>1,3</sup> and Yun-Shik Choi, M.D.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine

<sup>2</sup>Gangnam Center, Seoul National University Hospital, <sup>3</sup>Cardiovascular Research Laboratory, Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

**Background :** CD14 is the receptor for lipopolysaccharides and heat shock protein (HSP), which has been suggested being associated with increased risk of coronary artery disease (CAD). We investigated whether the response to infectious agents or HSP is different according to CD14 polymorphism in Koreans.

**Materials and Methods :** Antibody titers to *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, and human HSP60 (hHSP60) were measured in 48 patients with stable CAD and in 41 healthy controls by ELISA. CD14 genotype was determined by PCR and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) was measured.

**Results :** Seropositivity to *C. pneumoniae* and *H. pylori*, and antibody titer to hHSP60 were not significantly associated with the presence of CAD. CD14 genotype distribution was 31 TT (35%), 43 CT (48%), and 15 CC (17%). To compare the response to the infectious organism and hHSP60, we divided study population into 3 groups: CAD patients with non-TT genotype (group I, n=30), CAD patients with TT genotype (group II, n=18), and normal controls (group III, n=41). Seropositivity to *C. pneumoniae* and *H. pylori*, and antibody titer to hHSP60 were not significantly different among 3 groups. Though hs-CRP level was significantly different among 3 groups, post-Hoc analysis showed that hs-CRP level was not significantly different between group I and group II (group I: 1.6[1.1–3.5] mg/L and group II: 0.35[0.1–2.0] mg/L).

**Conclusions :** This study suggests that the inflammatory responses to infectious organisms and HSP do not differ according to the CD14 genotype in Koreans.

**Key Words :** CD14, *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, Heat shock protein; Coronary artery disease

## 서 론

만성적인 세균 감염이나 자가 면역 반응이 동맥경화와 연관되어 있다는 주장이 제기되어 왔다(1,2). *Chlamydia pneumoniae*와 *Helicobacter pylori*는 가장 주목 받아 온 세균들로 관상동맥 질환과의 관련성에 대해 많은 연구들이 수행되었다. 하지만, 상반된 연구 결과들이 보고되어

Submitted 1 August, 2006, accepted 28 November, 2006

Correspondence : Bon-Kwon Koo, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine

28 Yongon-dong Chongno-gu, 110-744, Seoul, Korea

Tel : +82-2-2072-2062, Fax : +82-2-3676-4103

E-mail : bkkoo@snu.ac.kr

확정적인 결론을 내리지 못하고 있는 상태이다(3-7).

한편, heat-shock protein (HSP) 60은 자가면역 항원으로 추정되고 있으며(2), HSP60에 대한 항체의 역가가 높은 것이 관상동맥 질환의 독립적인 위험 인자라는 보고가 있었으나(8), 이 역시 상반된 연구 결과들이 존재한다(9). 최근에는 감염체나 HSP에 대한 감수성이 사람마다 다를 수 있다는 주장이 제기되고 있으며, 이에 따라 CD14이 관심을 끌고 있다.

CD14은 모든 골수유래 세포, 특히 단핵구/대식세포의 세포 표면에 존재하는 당단백으로 그람음성균에 의해 생성되는 lipopolysaccharides (LPS)와 HSP의 수용체이다(10, 11). LPS는 CD14에 결합한 후 세포를 활성화시킨다(12). LPS에 의해 활성화된 단핵구나 대식세포는 tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1, 그리고 interleukin-6와 같은 proinflammatory cytokine과 성장 인자를 분비한다(13). 더욱이, 조직인자와 plasminogen activator inhibitor의 생산이 유도된다(14). 혈관내피세포와 혈관평활근세포는 수용성 CD14에 의해 활성화된다(15, 16). LPS와 수용성 CD14의 결합체가 E-selectin이나 vascular cell adhesion molecule-1과 같은 부착분자의 발현을 촉진시킨다(15, 17). 또한 LPS에 의해 활성화된 대식세포에서 분비된 cytokine에 의한 효과가 혈관내피세포에 영향을 미친다(18). HSP도 CD14과 결합한 후 cytokine의 생성을 촉진시키고(19) 부착분자의 발현을 증가시키며(20) 혈관평활근세포의 증식을 유도한다(21). 이상을 종합하면 만성 감염과 자가 면역 반응이 동맥경화를 일으키는 과정에 CD14이 중요한 역할을 할 가능성이 있다.

CD14 유전자는 promoter 위치에 C(-260)→T 다형성을 가지고 있는데(22, 23), T 대립유전자가 수용성 CD14 농도 및 세포막 CD14 밀도의 증가와 관련이 있다는 연구들이 보고되었다(22, 24). 따라서 TT 유전자형이 LPS나 HSP에 대해 보다 예민하게 반응하며 cytokine을 보다 더 많이 분비하고 염증반응을 보다 강하게 일으킬 개연성이 있다. 하지만, CD14 C(-260)→T 다형성과 관상동맥 질환 사이의 관련성에 대해서는 상반된 연구 결과가 보고되고 있다. 일부 연구에서 CD14 C(-260)→T 다형성이 관상동맥 질환과 관련이 있다고 보고되었지만(22, 23), 다른 연구에서는 관련성이 관찰되지 않았다(24, 25).

이와 같이 기존 연구의 결과가 상반되고 한국인에서 CD14 유전자형에 따른 감염체 혹은 HSP에 따른 감수성 및 관상동맥 질환 사이의 연관성을 조사한 연구가 없었으므로 본 연구는 CD14 유전자형에 따라 감염체와 HSP에 대한 반응에 차이가 나는지를 알아보고자 CD14 유전자형

과 대표적인 염증표지자인 high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) 사이의 연관성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대 상

안정형 협심증으로 서울대학교병원에서 관상동맥 조영술을 시행하여 1개 이상의 혈관에 50% 이상의 유의한 협착 병변을 보인 48명의 환자와 신체검진을 목적으로 건강검진센터를 방문한 무증상의 41명의 대조군을 대상으로 하였다. 평균 연령이 58세(3,685)였고, 59명(66%)이 남자였다. 대상 인원으로부터 유전자형 분석과 혈액을 이용한 검사에 대하여 서면으로 승인을 얻었다.

### 2. 채혈과 임상자료의 수집

관상동맥 조영술 직전 혹은 검진 시작 전 20 mL의 혈액을 채취하였고, 혈장을 분리하여 -20℃에서 보관하였다. 의무기록과 입원 혹은 검진시 면접, 진찰 및 혈액 검사 소견을 토대로 성별, 연령, 흡연 여부, 당뇨나 고혈압의 이환 여부 및 고지혈증 유무 등의 임상 자료를 얻었다. 흡연을 하고 있거나 금연 시기가 1개월 이내인 환자를 흡연가로 분류하였다. 의무기록이나 혈액 검사 소견에서 당뇨병이 확실히 진단된 환자들 이외에, 인슐린이나 경구 혈당 강하제로 치료받고 있거나 이전에 치료받았던 환자들을 당뇨에 이환된 것으로 분류하였다. 의무기록이나 입원 기간 동안 측정된 혈압에서 고혈압이 확실히 진단된 환자들 이외에, 항고혈압제를 복용하고 있거나 이전에 복용했던 환자들을 고혈압에 이환된 것으로 분류하였다. 혈청 총 콜레스테롤이 240 mg/dL 이상이거나 지질강하제를 복용하고 있는 환자들을 고지혈증이 있는 것으로 분류하였다.

### 3. *C. pneumoniae*, *H. pylori* 및 HSP60 항체 역가 측정

Enzymelinked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 *C. pneumoniae* IgG 항체 (Euroimmune, Luebeck, Germany), *H. pylori* IgG 항체 (Euroimmune, Luebeck, Germany) 및 인체 HSP60 (hHSP60) (SressGen, San Diego, USA) 항체 역가를 측정하였다. *H. pylori*와 *C. pneumoniae*의 경우 제조 회사가 제시한 기준에 따라 항체 역가가 20 U/mL 이상일 때를 양성으로 판정하였다. 이러한 혈청학적 검사들은 눈가림 상태를 유지한 채로 시행되었다.

Table 1. Baseline Clinical Characteristics

Variables	Total (n=89)	CAD (n=48)	Control (n=41)	P
Age (years)	58±11	64±9	51±9	<0.001
Sex, males (%)	66	69	63	0.60
Body mass index (Kg/m <sup>2</sup> )	24±3	25±2	23±3	<0.001
Hypertension (%)	43	58	24	0.001
Diabetes (%)	18	31	2	<0.001
Hypercholesterolemia (%)	36	58	10	<0.001
Current smoking (%)	16	15	17	0.75
hs-CRP (mg/L)	0.9 [0.1- 1.9]	1.6 [0.1- 3.4]	0.1[0.1- 1.6]	0.01

Abbreviations : CAD, coronary artery disease; hs-CRP, high sensitivity C-reactive protein; expressed as median[interquartile range]

#### 4. CD 14 유전자형 분석

DNA는 표준적인 방법에 의해 분리되었다. 증합효소연쇄반응은 총 50 L의 양으로 시행되었다. 각각의 시료는 100 ng의 DNA, 10 pmol의 primer, 그리고 1U의 Taq DNA 증합효소가 첨가되었으며, dNTP의 농도는 250 umol/L, magnesium chloride의 농도는 2.5 mmol/L이었다. CD14 유전자의 promoter를 5'-TTGGTGCCAACAGATG AGGTTTCAC-3'과 5'-TTCTTTTCCTACACAGCGGCACC C-3'의 primer를 이용하여 증폭하였다(23). 증합효소연쇄반응 조건은 94℃에서 3분간 denaturation 후, 30초 denaturation, 52℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 30초간 extension을 30 cycle 반복하였고, 마지막으로 72℃에서 5분간 extension을 시행하였다. 이렇게 하여 얻은 561 bp의 유전자 조각을 제한효소 HaeIII로 자른 후 agarose gel을 이용한 전기영동을 통해 분석하였다.

#### 5. hsCRP의 측정

Latex 응집법(Denka Seiken Ltd. Tokyo, Japan)을 이용하여 TBA 200FR 자동분석기(Toshiba Inc, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 이 검사법의 최저측정한계는 0.1 mg/L이고, CV (coefficient of variation)은 5%미만이다.

#### 6. 통 계

CD14-260T 대립유전자의 관찰된 빈도와 Hardy-Weinberg equilibrium에 의해 예측되는 빈도를  $\chi^2$  test를 이용하여 검증하였다. 연속변수는 평균±표준편차로, 범주형 변수는 빈도로 표시하였다. 연속변수는 Student t test 혹은 one-way ANOVA test with Bonferroni correction으로, 범주형 변수는 Pearson's chi-square test 혹은 Fisher's exact test를 이용하여 분석하였다. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP)은 정규 분포를 따르지 않으므로 median [interquartile range]로 표시하였고 Mann-Whitney

Table 2. Serologic Test Results and Genotypes in 2 Groups

Variables	CAD	Control	P
<i>C. pneumoniae</i> seropositivity (%)	44	44	0.99
<i>H. pylori</i> seropositivity (%)	83	73	0.24
hHSP 60 antibody titer (ng/mL)	2.9±0.6	2.8±0.6	0.22
CD14 TT genotype (%)	38	32	0.57

Abbreviations : CAD, coronary artery disease patients; hHSP 60, human heat shock protein 60; TT, TT genotype

U test 혹은 Kruskal-Wallis H test로 비교하였다. P값이 0.05 미만일 경우 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있다고 판단하였고 통계적 처리는 SPSS 11.0을 이용하여 시행하였다.

## 결 과

#### 1. 연구 대상의 일반적 특성

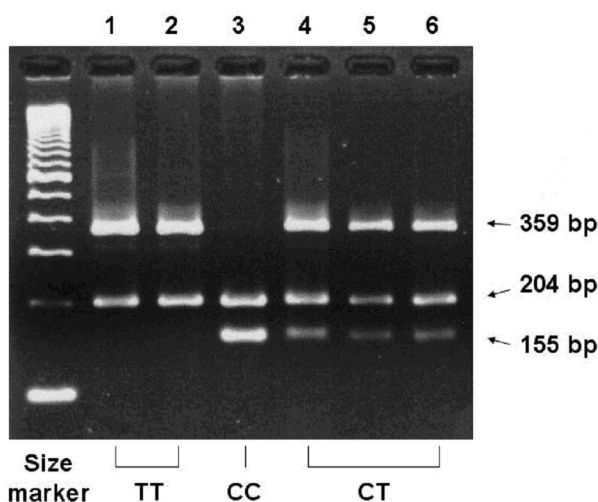
연구 대상자의 기본적 임상 특징은 Table 1에 요약되어 있다. 관상동맥 환자군의 평균 연령이 유의하게 높았으며 고혈압, 당뇨 및 고지혈증과 같은 전통적인 위험인자의 비율도 관상동맥 환자군에서 유의하게 높았다.

#### 2. *C. pneumoniae*, *H. pylori* 및 HSP60과 관상동맥 질환의 연관성

연구 대상자 전체에서 *C. pneumoniae* 항체 양성률은 44%, *H. pylori* 항체 양성률은 78%이었다. 관상동맥 질환 군과 대조군에서 *C. pneumoniae*와 *H. pylori* 항체 양성률은 유의한 차이가 없었다(Table 2) ( $P>0.05$ ). hHSP60 항체 역가도 양 군 사이에 유의한 차이는 없었다( $2.9\pm0.6$  ng/mL vs.  $2.8\pm0.6$  ng/mL,  $P>0.05$ ) (Table 2).

### 3. CD14 유전자형과 *C. pneumoniae*, *H. pylori* 및 hHSP60의 연관성

연구 대상자 전원에서 중합효소연쇄반응을 이용하여 CD14 유전자형을 결정할 수 있었다(Figure 1). CD14 유전자형의 분포는 TT 30명(39%), CT 31명(40%), 그리고 CC 16명(21%) 이었다(Table 2). 유전자형의 분포는 Hardy-Weinberg equilibrium에서 유의하게 벗어나지 않는 소견이었다. 관상동맥 질환군에서 TT 유전자형은 38%, 대조군에서는 32%로 양군 사이에 차이가 없었다( $P>0.05$ )



**Figure 1.** Restriction fragment length polymorphism analysis with restriction endonuclease *Hae*III (recognition site, 5'-GG<sup>+</sup>CC-3'), as it was performed to cleave 561-bp PCR product for genotyping. With the -260T polymorphic base, the recognition sequence is modified to 5'-GGTC-3', which is not cut by *Hae*III. First, 561-bp product was cleaved into 359-bp and 202-bp, which is visible in all lanes, regardless of genotype. Then, 359-bp proband was cleaved in -260C allele, but not in -260T allele. Lanes 1 and 2 are homozygous for -260T (uncut, 359 bp), lane 3 is homozygous for -260C (totally cut, 204 and 155 bp), and lane 4-6 are heterozygous. The band for 202-bp is overlapped at the site of 204-bp band.

(Table 3).

CD14 유전자형이 *C. pneumoniae*와 *H. pylori* 감염 및 hHSP60의 생성에 영향을 미치는지 여부를 알아 보기 위해, 관상동맥 질환군을 다시 TT 유전자형군과 non-TT 유전자형군으로 나누어 항체 양성률과 역가를 비교하였다 (I군: CD14 non-TT 유전자형을 가진 안정형 협심증 환자, II군: TT 유전자형을 가진 안정형 협심증 환자, III군: 정상 대조군). 세 군 사이에 성별, 연령 및 관상동맥 질환의 위험인자의 빈도에 유의한 차이가 있었지만 이는 III군에 대한 유의한 차이였고, I군과 II군 사이에는 유의한 차

Table 3. Distribution of CD14 Genotype

Allele frequency	Total		CAD		Control	
	Obs	Exp	Obs	Exp	Obs	Exp
TT	31	30.9	18	16.7	13	14.3
CT	43	43.1	26	23.2	17	19.8
CC	15	15.0	4	8.1	11	6.9

Abbreviations : CAD, coronary artery disease; Exp, expected number of patients; Obs, observed number of patients; CC, CC genotype; CT, CT genotype; TT, TT genotype

Table 4. Risk Factors according to the Presence of Coronary Artery Disease and Genotype Distribution

Variables	Group I (n=30)	Group II (n=48)	Group III (n=41)	P
Age (years)	64±8	62±11	51±9	<0.001
Sex, males (%)	70	67	63	0.85
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	26±3	25±2	23±3	<0.001
Hypertension (%)	63	50	24	0.004
Diabetes (%)	33	28	2	0.004
Hypercholesterolemia (%)	20	28	10	0.08
Current smoking (%)	17	11	17	0.60

Group I: coronary artery disease patients with non-TT genotype  
Group II: coronary artery disease patients with TT genotype  
Group III: normal controls. All variables are not significant different between group I and II.

Table 5. Response to Infectious Organisms and Human Heat Shock Protein 60 according to the Presence of Coronary Artery Disease and Genotype Distribution

Variables	Group I (n=30)	Group II (n=48)	Group III (n=41)
<i>C. pneumoniae</i> seropositivity (%)	47	39	44
<i>C. pneumoniae</i> antibody titer (U/mL)	19±9	18±7	18±9
<i>H. pylori</i> seropositivity (%)	73	94	73
<i>H. pylori</i> antibody titer (U/mL) <sup>*</sup>	84±64	134±64 <sup>†</sup>	92±58
hHSP60 antibody titer (ng/mL)	3.0±0.7	2.7±0.3	2.9±0.6
hs-CRP (mg/L) <sup>‡</sup>	1.6 [1.1-3.5] <sup>§</sup>	0.4 [0.1-2.0]	0.1 [0.1-1.6]

Group I: coronary artery disease patients with non-TT genotype, Group II: coronary artery disease patients with TT genotype, Group III: normal controls, hHSP60: human heat shock protein 60, hs-CRP: high sensitivity C-reactive protein. <sup>\*</sup> $P<0.05$  between 3 groups by one-way ANOVA,  $P<0.05$  compared with group I and II in post-Hoc analysis with Bonferroni correction, <sup>†</sup> $P<0.01$  between 3 groups by Kruskal-Wallis H test, <sup>§</sup> $P<0.05$  compared with group I by Mann-Whitney U test

이가 없었다(Table 4). *C. pneumoniae*와 *H. pylori* 항체 양성률은 세 군에서 유의한 차이가 없었다(Table 5). 세 군에서 *C. pneumoniae*와 hHSP60 항체 역가에는 유의한 차이가 없었지만, *H. pylori*의 역가는 II군에서 유의하게 높았다( $134 \pm 64$  U/mL in group II vs.  $84 \pm 64$  U/mL in group I and  $92 \pm 58$  U/mL in group III,  $P=0.02$ ) (Table 5).

#### 4. CD14 유전자형과 염증표지자

CD14 유전자형에 따라 염증반응에 차이가 있는지 여부를 알아보기 위해 hs-CRP 값을 비교하였다. 세 군 사이에 hs-CRP 값에 유의한 차이가 관찰되었다( $P<0.05$  by Kruskal-Wallis H test) (Table 5). 하지만, post-Hoc 분석을 시행하였을 때, II군의 hs-CRP 값은 I군과 III군에 비해 유의하게 높지 않았다( $0.35$  [0.1-2.0] mg/L in group II vs.  $1.6$  [1.1-3.5] mg/L in group I and  $0.1$  [0.1-1.4] mg/L in group III,  $P>0.05$ ) (Table 5). 오히려, I군과 III군을 비교하였을 때, I군의 hs-CRP 값이 III군에 비해 유의하게 높았다.

### 고 찰

본 연구에서 *C. pneumoniae* 및 *H. pylori* 항체 양성 여부 및 항체 역가, 그리고 HSP60에 대한 항체 역가는 안정형 관상동맥 질환의 유무와 유의한 상관관계는 없었으며, CD14 유전자형과도 유의한 상관관계는 없었다. 또한, CD14 TT 유전자형 역시 관상동맥 질환과 유의한 상관관계는 보이지 않았다. CD14 non-TT 유전자형을 가진 안정형 관상동맥 환자(I군), TT 유전자형을 가진 안정형 관상동맥 환자(II 군), 그리고 정상 대조군(III군)의 세 군으로 나누어 대표적인 염증반응 표지자인 hs-CRP 값을 비교하였을 때, II군의 hs-CRP 값이 I군과 III군에 비해 유의하게 높지 않았다.

CD14과 관상동맥 질환과의 연관성에 관한 연구는 많이 이루어지지 않았고, 또한 상반되는 결과들이 보고되고 있다(22-25). 하지만, CD14 유전자형과 관상동맥 질환과의 연관성이 있다고 보고한 연구 결과들을 분석해 보면 본 연구와 차이점을 발견할 수 있다. 첫째, 우리 연구가 CD14 다형성과 안정형 관상동맥 질환과의 관련성을 다룬 반면, 연관성이 있다고 보고한 연구들은 CD14 C(-260)→T 다형성이 급성 심근 경색의 위험을 증가시킨다는 결과를 보고하였다(22, 23). 그러나 Koenig 등이 안정형 협심증 환자들을 대상으로 이를 조사하였을 때는 CD14 유전자형과 관

상동맥 질환의 상관관계가 없었다(24). 이상을 종합해 보면, 한국인에서 CD14은 안정형 관상동맥 질환의 발생 및 진행에는 큰 영향이 없을 것으로 추정할 수 있으나 본 연구의 대상 환자수가 적으므로 이를 확인하기 위해서는 더 많은 환자들을 대상으로 하는 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이번 연구에서 CD14 유전자형과 *C. pneumoniae* 항체 양성 여부 사이에는 연관성이 발견되지 않았다. 이는 CD14이 *C. pneumoniae* 감염 단계에 영향을 미치지 않는다는 것을 시사하며 기존 연구 결과와 일치한다(24). 또한, CD14 유전자형은 hHSP60 항체 역가와도 관련성이 없어 역시 CD14이 hHSP60과 반응하기는 하지만 생성 단계에는 영향을 미치지 않는다는 것을 확인할 수 있었다. 하지만, *H. pylori* 항체 역가가 TT 유전자형을 가진 관상동맥 질환군에서 유의하게 높았는데, 이 결과가 CD14이 *H. pylori* 감염과 연관성을 가졌다는 것을 의미하는지는 뚜렷하지 않다. *H. pylori* 항체 양성 유무는 유의한 차이가 없었으며, 기존 연구에서도 CD14 유전자형과 *H. pylori* 감염 여부와는 연관성이 없는 것으로 보고되고 있다(24).

CD14 유전자형에 따라 LPS와 HSP에 대한 반응에 차이가 나고 이에 따라 염증반응의 강도가 달라질 것이라는 가설을 검증하기 위해 대표적인 염증표지자인 hs-CRP를 측정하였다. 하지만, 본 연구에서 hs-CRP 값은 CD14 유전자형에 따라 유의한 차이가 없었다. 관상동맥 질환군에서 정상 대조군에 비해 hs-CRP 값이 유의하게 높은 사실은 확인할 수 있었지만, 관상동맥 질환군 내에서는 TT 유전자형을 가진 환자와 non-TT 유전자를 가진 환자들 사이에 hs-CRP 값은 유의한 차이가 없었다. 두 군 사이에 전통적인 관상동맥 질환의 위험인자 비율도 유사하고, *C. pneumoniae*와 *H. pylori* 항체 양성률 및 hHSP60 항체 역가도 유사하였기 때문에 CD14 유전자형에 따라 LPS나 HSP에 대한 반응이 달랐다면 hs-CRP 값에 반영이 되었을 것이다. 더욱이, TT 유전자형을 가진 안정형 관상동맥 질환군과 정상 대조군의 hs-CRP 값을 비교했을 때도 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 오히려, non-TT 유전자형을 가진 관상동맥 질환군의 hs-CRP 값이 정상 대조군에 비해 유의하게 높았는데, 이는 hs-CRP로 대변되는 염증반응의 강도가 CD14 C(-260)→T 다형성과는 큰 연관성이 없음을 뜻한다.

본 연구의 제한점은 첫째, 대상 인원 수가 충분히 많지 않았기 때문에 확정적인 결론을 이끌어 내기 어렵다는 점이다. 둘째로, 정상 대조군과 관상동맥 질환군 사이에 연령이나 전통적인 관상동맥 질환 위험인자의 유병률이 유

의하게 차이가 났다는 점이다. 셋째로, 관상동맥 질환의 병력이 없는 무증상의 대조군을 선정했지만, 관상동맥 질환의 가능성이 완전히 배제되지 않았을 가능성이 있다. 하지만, 이렇게 대조군을 선정하는 것이 대부분의 연구에서 사용하는 방법이며 무증상의 환자에서는 관상동맥 질환의 유병률이 낮은 것으로 보고되고 있다(27).

결론적으로, 본 연구는 안정형 협심증 환자에서 CD14 유전자형에 따라 hs-CRP 값이 유의하게 다르지 않음을 보였는데, 이는 CD14 유전자형에 따라 LPS나 HSP에 대한 반응이 유의하게 다르지 않음을 시사한다. 하지만, 다른 위험인자가 없는 저위험군이나 급성 관상동맥 증후군 환자에서는 CD14 다형성이 역할을 할 가능성이 있으므로 이에 대해서는 향후 더 많은 환자를 대상으로 추가 연구를 시행하는 것이 필요하리라 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 서울대학교 병원 신진 연구비(09-2003-004-0)에 의해 지원되었음.

## 요 약

**목 적 :** 만성적인 세균 감염이나 자가 면역 반응이 동맥 경화와 연관되어 있다는 주장이 제기되어 왔다. CD14은 lipopolysaccharides (LPS)와 heat shock protein(HSP)의 수용체로 C(-260)→T 다형성이 관상동맥 질환의 위험과 관련되어 있다고 제안되어 왔다. 본 연구에서는 한국인에서 CD14 다형성에 따른 LPS와 HSP에 대한 반응성을 염증표지자를 측정하여 살펴보고자 하였다.

**재료 및 방법 :** 안정형 관상동맥 환자 48명과 정상 대조군 41명을 대상으로 *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* 항체 및 인체 HSP60 (hHSP60) 항체 역가를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다. CD14 유전자형은 중합효소연쇄반응을 이용하여 결정하였고 hs-CRP를 측정하였다.

**결 과 :** *C. pneumoniae* 및 *H. pylori* 항체 양성 여부 및 항체 역가, 그리고 hHSP60에 대한 항체 역가는 안정형 관상동맥 질환의 유무와 유의한 상관관계는 없었다. CD14 유전자형의 분포는 TT 30명(39%), CT 31명(40%), 그리고 CC 16명(21%)이었다. 관상동맥 질환 군에서 TT 유전자형은 38%, 대조군에서는 32%로 TT 유전자형과 관상동맥 질환의 유무와는 유의한 상관관계가 발견되지 않았다 ( $P>0.05$ ). CD14 유전자형에 따라 *C. pneumoniae*와 *H.*

*pylori* 감염 및 hHSP60에 따른 반응에 차이가 있는지 여부를 알아보기 위해, 관상동맥 질환 군을 다시 TT 유전자형 군과 non-TT 유전자형 군으로 나누어, 전체적으로 세 군에서 항체 양성률과 역가를 비교하였다(I군: CD14 TT 유전자형을 가진 안정형 관상동맥 환자, II군: CD14 TT 유전자형을 가진 안정형 관상동맥 환자, III군: 정상 대조군). 세 군에서 *C. pneumoniae*와 *H. pylori* 항체 양성률 및 hHSP60 항체 역가에는 유의한 차이가 없었다. 세 군 사이에 hs-CRP 값에 유의한 차이가 있었지만, post-Hoc 분석에서 II군의 hs-CRP 값이 I군에 비해 유의하게 높지는 않았다( $0.35 [0.1-2.0] \text{ mg/L}$  in group II vs.  $1.6 [1.1-3.5] \text{ mg/L}$  in group I,  $P>0.05$ ).

**결 론 :** 본 연구는 한국인에서 CD14 유전자형에 따라 LPS나 HSP에 대한 반응이 유의하게 다르지 않음을 시사한다.

## 참 고 문 헌

- 1) Libby P, Egan D, Skarlatos S: *Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research*. *Circulation* 96:4095-103, 1997
- 2) Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindienst R, Xu Q: *Is atherosclerosis an immunologically mediated disease?* *Immunol Today* 16:27-33, 1995
- 3) Han JY, Park JS, Yu KH, Choi YJ, Chae IH, Kim HS, Sohn DW, Oh BH, Lee MM, Park YB, Choi YS, Lee YW: *The effects of Helicobacter pylori & Cytomegalovirus infection on the risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty*. *Korean Circulation J* 30:39-48, 2000
- 4) Kim KH, Jeong MH, Shin JH, Joo SB, Kim W, Lee SU, KH Kim, Kim NH, Cho JH, Park JC, Na KJ, Ahn YG, Cho JG, Ahn BH, Park JC, Kang JC: *The role of chronic infection and inflammation in Korean patients with coronary artery disease*. *Korean Circulation J* 30:1107-16, 2000
- 5) Wald NJ, Law MR, Morris JK, Bagnall AM: *Helicobacter pylori infection and mortality from ischemic heart disease: negative result from a large, prospective study*. *BMJ* 315:1199-201, 1997
- 6) Romano S, Penco M, Fratini S, Di Pietro M, Sessa R, Del Piano M, Fedele F, Dagianti A: *Chlamydia pneumoniae infection is associated with coronary artery disease but not implicated in inducing plaque instability*. *Int J Cardiol* 95:95-9, 2004
- 7) Kim JK, Chung JY, Sung BY, YC Kim, Kim JH, Lee MS, Sung IH, Jeon ES: *Possibility of Chlamydia pneumoniae antibody and its significance in ather-*

- osclerosis. *Korean Circulation J* 29:146-52, 1999
- 8) Zhu J, Quyyumi AA, Rott D, Rott D, Csako G, Wu H, Halcox J, Epstein SE: *Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. Circulation* 103:1071-5, 2001
  - 9) Veres A, Fust G, Smieja M, McQueen M, Horvath A, Yi Q, Biro A, Pogue J, Romics L, Karadi I, Singh M, Gnarp J, Prohaszka Z, Yusuf S: *Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators: Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Relationship of anti-60 kDa heat shock protein and anti-cholesterol antibodies to cardiovascular events. Circulation* 106:2775-80, 2002
  - 10) ZieglerHeitbrock HWL, Ulevitch RJ: *CD14: cell surface receptor and differentiation marker. Immunol Today* 14:121-5, 1993
  - 11) Kol A, Lichtman AH, Finberg RW, Libby P, Kurt-Jones EA: *Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. J Immunol* 164:13-7, 2000
  - 12) Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC: *CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science* 249:1431-3, 1990
  - 13) Schumann RR, Rietschel ET, Loppnow H: *The role of CD14 and lipopolysaccharidebinding protein (LBP) in the activation of different cell types by endotoxin. Med Microbiol Immunol* 183:279-97, 1994
  - 14) Semeraro N, Montemurro P, Piccoli C, Muolo V, Colucci M, Giuliani G, Fumarola D, Pece S, Moran AP: *Effect of Helicobacter pylori lipopolysaccharide (LPS) and LPS derivatives on the production of tissue factor and plasminogen activator inhibitor type 2 by human blood mononuclear cells. J Infect Dis* 174:1255-60, 1996
  - 15) Frey EA, Miller DS, Jahr TG, Sundan A, Bazil V, Espevik T, Finlay BB, Wright SD: *Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. J Exp Med* 176:1665-71, 1992
  - 16) Loppnow H, Stelter F, Schönbeck U, Schluter C, Ernst M, Schutt C, Flad HD: *Endotoxin activates human vascular smooth muscle cells despite lack of expression of CD14 mRNA or endogenous membrane CD14. Infect Immun* 63:1020-6, 1995
  - 17) Carlos TM, Schwartz BR, Kovach NL, Yee E, Rosa M, Osborn L, Chi-Rosso G, Newman B, Lobb R, Harlan JM: *Vascular cell adhesion molecule-1 mediates lymphocyte adherence to cytokine-activated cultured human endothelial cells. Blood* 76:965-70, 1990
  - 18) Pugin J, Ulevitch RJ, Tobias PS: *Activation of endothelial cells by endotoxin: direct versus indirect pathways and the role of CD14. Prog Clin Biol Res* 392:369-73, 1995
  - 19) Chen W, Syldath U, Bellmann K, Burkart V, Kolb H: *Human 60-kDa heat-shock protein: a danger signal to the innate immune system. J Immunol* 162:3212-9, 1999
  - 20) Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P: *Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. J Clin Invest* 103:571-7, 1999
  - 21) Sasu S, LaVerda D, Qureshi N, Golenbock DT, Beasley D: *Chlamydia pneumoniae and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. Circ Res* 89:244-50, 2001
  - 22) Hubacek JA, Rothe G, Pit'ha J, Skodova Z, Stanek V, Poledne R, Schmitz G: *C(260)→T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. Circulation* 99:3218-20, 1999
  - 23) Unkelbach K, Gardemann A, Kostrzewa M, Philipp M, Tillmanns H, Haberbosch W: *A new promoter polymorphism in the gene of lipopolysaccharide receptor CD14 is associated with expired myocardial infarction in patients with low atherosclerotic risk profile. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:932-8, 1999
  - 24) Koenig W, Khuseyinova N, Hoffmann MM, Marz W, Frohlich M, Hoffmeister A, Brenner H, Rothenbacher D: *CD14 C(-260)→T polymorphism, plasma levels of the soluble endotoxin receptor CD14, their association with chronic infections and risk of stable coronary artery disease. J Am Coll Cardiol* 40:34-42, 2002
  - 25) Zee RY, Lindpaintner K, Struk B, Hennekens CH, Ridker PM: *A prospective evaluation of the CD14 C(-260)→T-gene polymorphism and the risk of myocardial infarction. Atherosclerosis* 154:699-702, 2001
  - 26) Shimada K, Watanabe Y, Mokuno H, Iwama Y, Daida H, Yamaguchi H: *Common polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene is associated with acute myocardial infarction in Japanese men. Am J Cardiol* 86:682-4, 2000.
  - 27) Parmley WW: *Prevalence and clinical significance of silent myocardial ischemia. Circulation* 80 Suppl 6:68-73, 1998